



Co-funded by the Horizon 2020 programme
of the European Union

The EU Framework Programme for Research and Innovation



Nuevos paradigmas en nutrición animal

Postbióticos. Microbiota y estrategias de mejora digestiva en porcicultura



Introducción:

- Porcino: sector muy productivo - alta densidad (sistemas extensivos o semiextensivos) – sistemas preventivos y mejora manejo
- Alta concentración de nutrientes, heces = microorganismos + vectores
- Alta presión infecciosa = uso de antibióticos = resistencias
 - Uso de antimicrobianos (óxido Zn) = problemas ambientales
 - Uso desinfectantes (inespecíficos) – eliminan microbiota patógena y beneficiosa

XXVI AMVECAJ 2020 – 5-7 FEBRERO



• **Introducción**

- Gérmenes resistentes a los antimicrobianos – Salud Pública
 - Productos animales – Agua – Abonos (purín)
 - ¿Responsable sólo la ganadería? - NO
 - Obligación comunicar prescripciones antibióticas – demanda consumidor alimentos saludables - trazabilidad

- Alternativas clásicas y eficaces
 - Higiene: cal, desinfectantes - inespecificidad (síndrome higiene)
 - Vacunación: complejidad Ag - enfermedades inmunosupresoras (PRRS) - respuesta generada

XXVI AMVECAJ 2020 – 5-7 FEBRERO



ALTERNATIVAS

- **Antibióticos:** gran avance para la humanidad
 - Especificidad: contra G+ o G-; amplio espectro
 - Listados de antibióticos - patógenos sobre los que actúa
 - Pero también barre otras bacterias beneficiosas: BAL: inhiben el crecimiento de patógenos (ácidos, bacteriocinas, exclusión competitiva, respuesta inmune)
 - Disbiosis:
 - Errores de diagnóstico (soportados por el diagnóstico laboratorial) Ej: crece *E. coli* – tasa multiplicación



ALTERNATIVAS

- **Enzimas:** necesidades ingesta alimentos actual – digestión nutrientes
- **Ácidos:** efecto similar microbiota beneficiosa – proteasa gástrica (pH bajo)
- **Fitobióticos - Fitogénicos:** extractos vegetales (cítricos, ajo, otros) – aceites esenciales
- **Prebióticos:** alimento bacterias – microbiota presente – respuesta inmune – exclusión competitiva (receptores leptina) - ¿restauran biodiversidad?
- **Probióticos:** microorganismos vivos, bacterias – levaduras (O_2 consumo – poder reductor afecta enterobacterias)
¿combinación cepas? - ¿transmisión resistencias?
- **Simbióticos:** pre + probióticos
- **Bacteriófagos:** virus que infectan bacterias - específicos

ALTERNATIVAS

- **POSTBIÓTICOS:** “*producto del futuro*” (SEPYP, 2019)
 - **METABOLITOS:** proceden varias especies, por lo que se puede estimular:
 - Crecimiento de la vellosidad intestinal - morfología
 - Estimulación de la inmunidad innata – contribuye inmunidad adaptativa
 - Traslocación entreo-mamaria: paso a mama de BAL
 - Exceso antibioterapia, tratamiento animales jóvenes, por errores en la alimentación (mal balanceados) + los animales no tienen acceso a fuentes de microorganismos beneficiosos (suelo, vegetales si procesado)
 - Prebióticos en el producto se aportan: levadura (paredes)
 - **Metabolitos de varias especies**, en vez de solo una
 - TÉCNICAMENTE soporta condiciones de **granulación** (T^a), **pH gástrico**

- **¿Qué es un POSTBIÓTICO?**

NO es un prebiótico (aunque aporta prebióticos)

NO es un probiótico (aunque partimos de bacterias – BAL - y aporta levadura)

No es un simbiótico

- **¿Qué vía utilizamos?**

Pienso complementario – fermentado

Composición

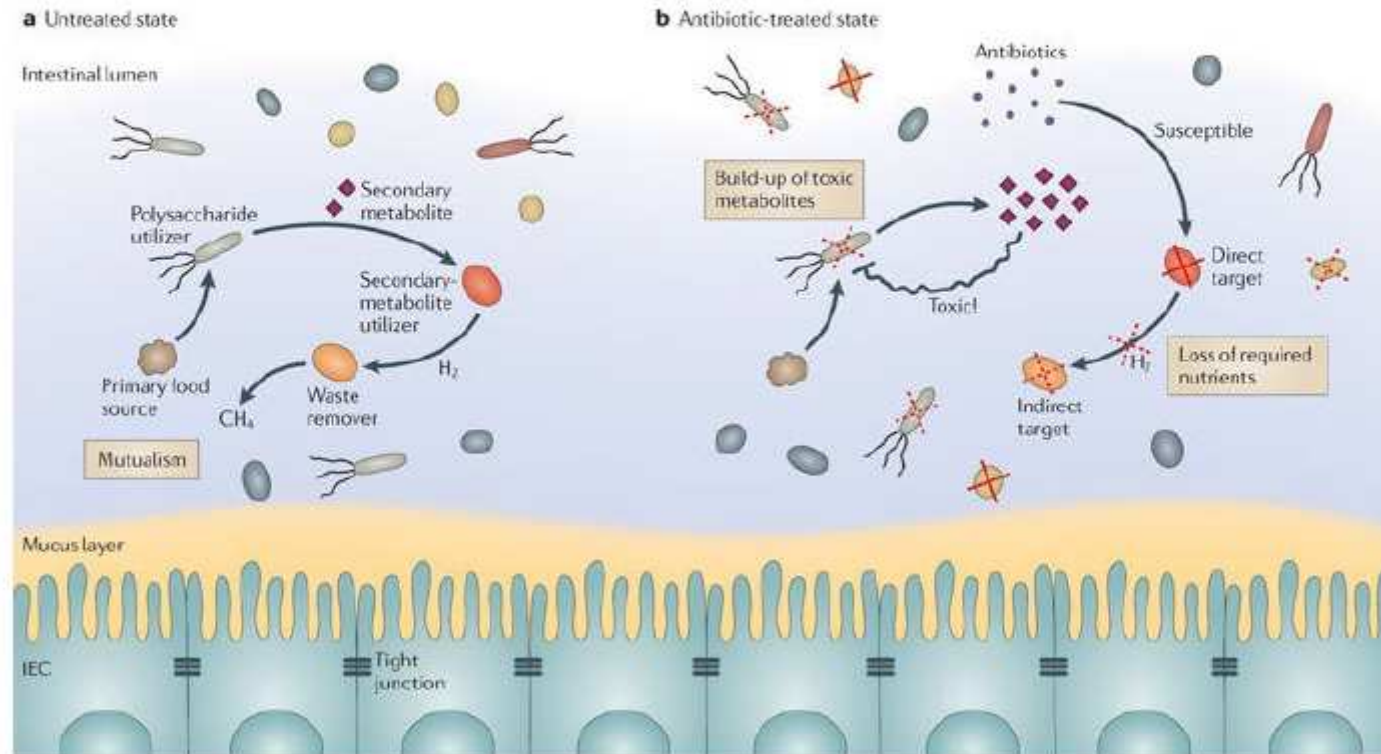
Salvado de trigo, harina de alfalfa, levadura no amarga, fructo-oligosacáridos.

Proteína bruta	19,64 %
Fibra bruta	11,90 %
Aceites y grasas brutas	4,60 %
Cenizas brutas.....	5,82 %
Lisina.....	0,82 %
Sodio	0,20 %
Metionina.....	0,29 %
Calcio	0,27 %
Fósforo	0,70 %

Microbiota

- **Conjunto de microorganismos** que conviven en un organismo superior
 - **Mayor contenedor de microbiota es el tubo digestivo**
- **Nuestra relación con ellos:**
 - Unos son de naturaleza **patógena**,
 - Otros **potencialmente patógenos** si su población se concentra en exceso
 - Y otra inmensa parte son **aliados**
- **Por el tubo digestivo transitan diariamente miles de especies distintas,**
 - Pero solo se establecen las que encuentran el **medio idóneo** para vivir
 - Esa composición varía según las condiciones de **desarrollo** o **agresión+**
 - DESARROLLO: p.ej.diferente microbiota con leche o pienso (diferentes enzimas)
 - AGRESION: antimicrobianos

Antibiotics, as an example, have direct and indirect effects on the gut microbiota.



Nature Reviews | Microbiology

Objetivo de la cría: Desarrollo temprano de intestino y microbiota

¿Cuántas especies diferentes? ¿Qué consideramos una microbiota normal?

- Bacterias
- Hongos y levaduras
- Protozoos....

80% no cultivables: secuenciación masiva - metagenómica

“ Las poblaciones son más estables cuanto más diversas”

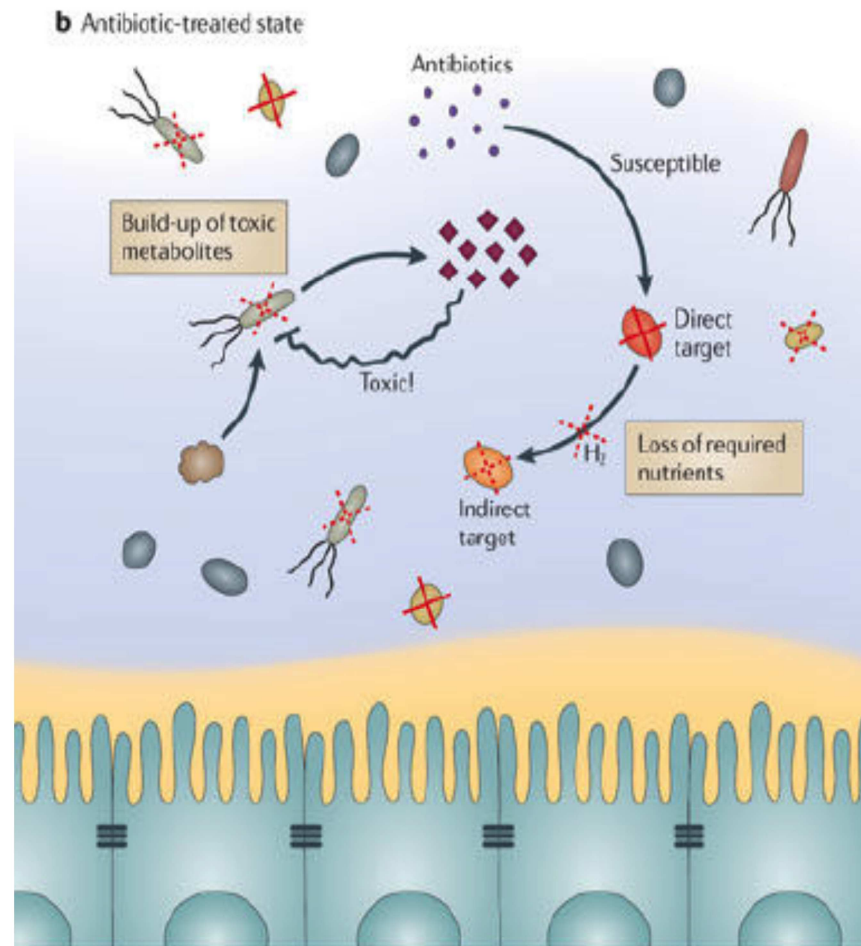
“Unas poblaciones precisan de los metabolitos de otras: mutualismo”

Cara mala: disbiosis

Cambio drástico en la composición **cuantitativa** y **cuantitativa**

Al depender unas especies de los metabolitos de otras, los cambios en algunas especies pueden producir una **cascada de cambios** en la composición de la microbiota

Alta mortalidad bacteriana (G-):
-liberan al medio
ENDOTOXINAS (LPS)
-Disminuye la diversidad
microbiana intestinal.



Microbiota

	Concentración microbiota total	
Horas de vida	Ileon	Ciego
24 horas	10^8	10^{10}
72 horas	10^9	10^{11}
3d-30d	10^9	10^{11}

-Primeros días: Ventana fisiológica (tolerancia)

-Primeros 45 días: microbiota cambiante: pH, enzimas...

->90 días: arquitectura microbiana instaurada

Procedencia de la microbiota

- **Al nacer el lechón se “contamina” enseguida**



LECHE MATERNA

For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

New paradigms of animal nutrition



Animales con microbiota normal y germ-free

	Microbiota convencional	RATONES germ-free
Tªcorporal	Normal	Bajo
Colesterol sérico	Normal	Elevado
Gammaglobulinas séricas	Normales	Muy reducidas
Peso de corazón, pulmones e hígado	Normal	Reducido
Gasto cardiaco	Normal	Bajo
Consumo de oxígeno	Normal	Bajo
Ganglios linfáticos	Normales	Pequeños y atróficos
Pared intestinal	Normal	Delgada
Proliferación del epitelio intestinal	Normal	Reducida
Superficie de la mucosa intestinal	Normal	Reducida
Peristaltismo ID (complejos motores migratorios)	Ritmo normal	Ritmo lento
Tamaño del ciego	Normal	Aumentado
Degradación de moco	Normal	Casi nula
Gas intestinal	H2, CH4, CO2	No hay H2 ni CH4
AGV	Gran cantidad	Casi ausentes



Co-funded by the Horizon 2020 programme of the European Union



PRUEBAS CIENTÍFICOTÉCNICAS

-Constataciones realizadas-

Pruebas científico - técnicas

- **Material y métodos:**
 - Universidad de Zhejiang (China) - **Destete**
 - 192 lechones x 4 grupos

		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
		Control	Probisán Swine	Antibiótico	Probisán Swine + Antibiótico
Prestarter	Bacitracina de Zn	-		100 ppm	100 ppm
	Clortetraciclina			50 ppm	50 ppm
	Probisán Swine		3 kgs/Tm		3 kgs/Tm
Starter	Bacitracina de Zn	-		100 ppm	100 ppm
	Clortetraciclina			50 ppm	50 ppm
	Probisán Swine		1,5 kgs/Tm		1,5 kgs/Tm

Morfología intestinal – test U. Zhejiang (China)

- Longitud de la vellosidad y profundidad de la cripta**

Table 7 Effect of the Probisán on intestinal morphology of jejunum in weanling piglets

Item	Treatments				<i>P</i> value ⁵		
	I ¹	II ²	III ³	IV ⁴	<i>P</i> (Pro)	<i>P</i> (Ant)	<i>P</i> (P*A)
Villus height, μm	406.97 ^b	433.77 ^a	438.3 ^a	443.14 ^a	0.047	0.013	0.157
Crypt depth, μm	244.58	235.99	230.83	227.64	0.385	0.111	0.689
Villus height: crypt depth	1.66 ^b	1.84 ^a	1.90 ^a	1.95 ^a	0.024	0.001	0.202

^{a, b, c} Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹ Treatment I = Negative control, without antibiotic;

² Treatment II = Negative control+ Probisán;

³ Treatment III = Positive control, with antibiotic;

⁴ Treatment IV= Positive control + probisán;

⁵ *P* values for the main experimental factors Probisán, antibiotic and interaction of the two experimental factors (Pro, Ant, P*A), P (Pro) = P (Probisán); P (Ant) = P (Antibiotic); P (P*A) = P (Probisán* Antibiotic)

Producción de AGV

Table 6 Effects of the Probisian on the content of VFA in colon

Item	Treatments				<i>P</i> value ⁵		
	I ¹	II ²	III ³	IV ⁴	<i>P</i> (Pro)	<i>P</i> (Ant)	<i>P</i> (P*A)
Acetic acid (mmol/L)	51.52 ^b	60.75 ^a	49.55 ^b	57.26 ^a	<0.001	0.173	0.698
Propionic acid(mmol/L)	23.91 ^b	33.63 ^a	21.64 ^b	29.90 ^a	<0.001	0.116	0.695
Butyric acid(mmol/L)	12.57	15.60	11.35	13.09	0.154	0.258	0.695
Total VFA(mmol/L)	94.36 ^c	113.89 ^a	91.68 ^c	105.22 ^b	<0.001	0.059	0.304

^{a, b, c} Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹ Treatment I = Negative control, without antibiotic;

² Treatment II = Negative control+ Probisian;

³ Treatment III = Positive control, with antibiotic;

⁴ Treatment IV= Positive control + probisian;

⁵ *P* values for the main experimental factors Probisian, antibiotic and interaction of the two experimental factors (Pro, Ant, P*A), P (Pro)= P (Probisian); P (Ant)= P (Antibiotic); P (P*A) = P (Probisian* Antibiotic)

Mayor integridad de la mucosa intestinal – test China

Table 8 Effects of the Probisán on the content of D-lactic acid in serum and activities of diamine oxidase (DAO) in serum and jejunal mucosa of weaned pigs

Item	Treatments				<i>P</i> value ⁵		
	I ¹	II ²	III ³	IV ⁴	<i>P</i> (Pro)	<i>P</i> (Ant)	<i>P</i> (P*A)
Serum D-lactic acid, mmol/L	6.96 ^a	6.45 ^b	6.37 ^b	6.18 ^b	0.022	0.003	0.214
Serum DAO, u/ml	2.24 ^a	1.83 ^b	1.75 ^b	1.68 ^b	0.032	0.006	0.126
Jejunal mucosa DAO, u/mg	2.02 ^b	2.57 ^a	2.61 ^a	2.78 ^a	0.021	0.011	0.201

^{a, b, c} Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹ Treatment I = Negative control, without antibiotic;

² Treatment II = Negative control+ Probisán;

³ Treatment III = Positive control, with antibiotic;

⁴ Treatment IV= Positive control + probisán

⁵ *P* values for the main experimental factors Probisán, antibiotic and interaction of the two experimental factors (Pro, Ant, P*A), P (Pro) = P (Probisán); P (Ant) = P (Antibiotic); P (P*A) = P (Probisán* Antibiotic)

Y mayor actividad DAO contra la histamina microbiana:
 – Menos inflamación

Cerdos – Microbiota – test China

Table 5 Effects of the Probisan on intestinal microbiota in digesta samples [\log_{10} (16S rRNA gene copies g^{-1} wet weight)]

Item	Treatments				<i>P</i> value ⁵		
	I ¹	II ²	III ³	IV ⁴	<i>P</i> (Pro)	<i>P</i> (Ant)	<i>P</i> (P*A)
Jejunum							
Total bacteria	9.35 ^b	9.98 ^a	8.92 ^b	9.52 ^{ab}	0.006	0.041	0.942
<i>Bifidobacterium</i>	6.37 ^c	7.81 ^a	6.92 ^{bc}	7.47 ^{ab}	0.002	0.713	0.136
<i>E. coli</i>	6.32 ^a	5.48 ^b	5.24 ^b	5.17 ^b	0.147	0.016	0.227
<i>Lactobacillus</i>	6.21 ^b	7.48 ^a	6.58 ^{ab}	6.80 ^{ab}	0.03	0.621	0.105
<i>Streptococcus suis</i>	6.64 ^a	6.06 ^{ab}	5.87 ^b	5.74 ^b	0.13	0.025	0.322
Colon							
Total bacteria	10.64 ^{ab}	11.24 ^a	10.50 ^b	10.82 ^{ab}	0.05	0.213	0.52
<i>Bifidobacterium</i>	8.16 ^b	8.98 ^a	8.23 ^b	8.69 ^{ab}	0.006	0.609	0.397
<i>E. coli</i>	7.59 ^a	6.77 ^{ab}	6.62 ^b	6.33 ^b	0.063	0.021	0.348
<i>Lactobacillus</i>	8.51 ^b	9.48 ^a	8.63 ^b	8.99 ^{ab}	0.013	0.467	0.226
<i>Streptococcus suis</i>	7.22 ^a	6.61 ^{ab}	6.33 ^b	6.44 ^b	0.296	0.036	0.138

^{a, b, c} Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

¹ Treatment I = Negative control, without antibiotic;

² Treatment II = Negative control+ Probisan;

³ Treatment III = Positive control, with antibiotic;

⁴ Treatment IV= Positive control + probisan;

Pruebas científico - técnicas

- **Material y métodos:**

- IRTA - CRESA (España) - **Destete**

- 280 lechones x 2 grupos
- Dieta HP (*High Profile Nutrients*)
- Muestras: 20 lechones/grupo
 - Mucosa intestinal – placa Peyer – heces (microbiota)

		Grupo 1	Grupo 2
		Control	Probisan Swine
Prestarter	Oxido de Zn	1600 ppm	1600 ppm
	Probisan Swine		3 kgs/Tm
Starter	Probisan Swine		1,5 kgs/Tm

Pruebas científico - técnicas

- **Material y métodos:**

- IRTA - CRESA (España) - **Destete**

- 394 lechones x 2 grupos
 - Dieta LP (*Low Profile Nutrients*)
 - Amoxicilina – meningitis (*S. suis*)
 - Muestras: 20 lechones/grupo
 - Mucosa intestinal – placa Peyer – heces (microbiota)

		Grupo 1	Grupo 2
		Control	Probisan Swine
Prestarter	Oxido de Zinc	2500 ppm	-
	Probisan Swine	-	3 kgs/Tm
Starter	Amoxicilina	300 ppm	300 ppm
	Probisan Swine		1,5 kgs/Tm

For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

New paradigms of animal nutrition

Prestarter HP

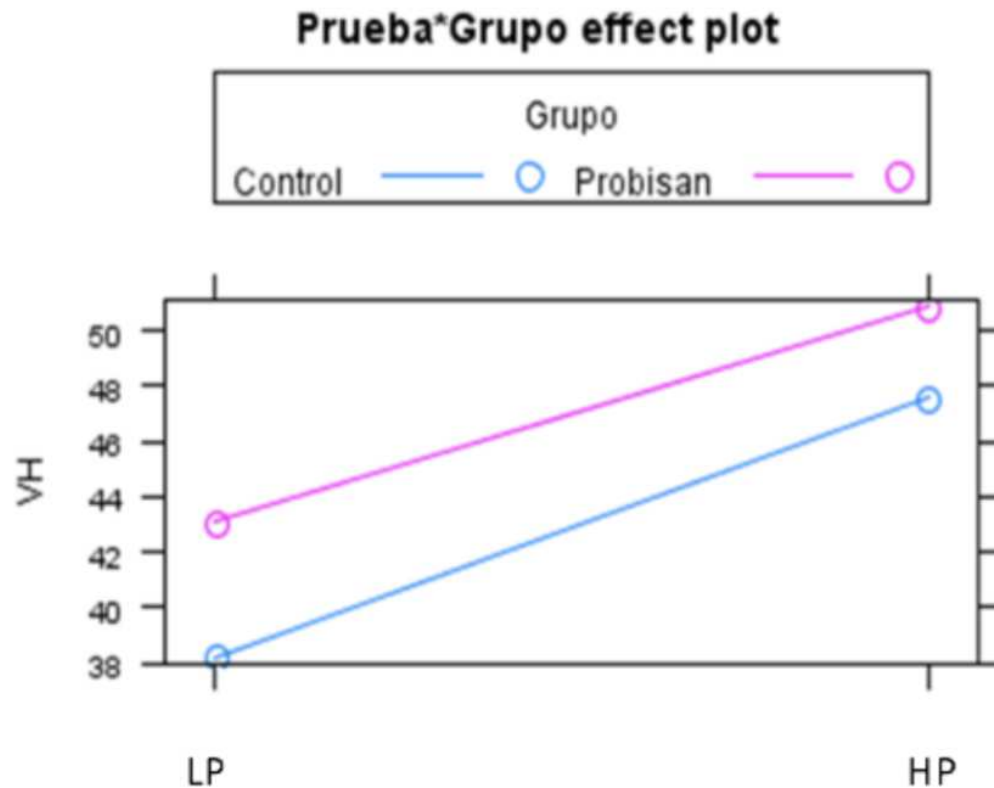
Heat-treated Broken rice	16.60
Heat-treated full fat soy	12.00
Heat-treated SBM 47%	8.10
Dried Whey	7.50
Soy oil	1.88
NutralSCA Concentrate ¹	18.50
DL-Methionine	0.23
L-Threonine	0.25
L-Lysine HCL	0.45
L-Valine	0.08
L-Tryptophan	0.04
Zinc oxide	0.19
Monocalcium phosphate	1.57
Limestone	0.29
Sodium Chloride	0.17
Vitamin and mineral premix ²	0.40
Probisan U®	
Calculated composition, %	
Dry matter	88.6
Net energy, kcal/kg	2,630
Crude protein	17.5
Crude fat	6.40
Total ash	5.22
Crude fiber	2.88
SID AA	
Lys	1.21
Met + Cys	0.72
Thr	0.83
Trp	0.24
Val	0.83
Ca	0.62
Digestible P	0.40

Starter HP

Heat-treated full-fat soy	12
Heat-treated Soybean meal	4.9
Soybean meal 47%	7.44
Soy oil	1
DL-Methionine	0.24
L-Threonine	0.29
L-Lysine HCL	0.57
L-Tryptophan	0.02
L-Valine	0.13
Limestone	0.4
Monocalcium phosphate	1.27
Sodium Chloride	0.43
NutralSCA Concentrate ¹	8.34
Vitamin and mineral premix ²	0.4
Probisan U®	-
Calculated composition, %	
Dry matter	87.5
Net energy, kcal/kg	
Crude protein	17.5
Crude fat	5.25
Total ash	4.93
Crude fiber	3.72
SID AA	
Lys	1.18
Met + Cys	0.71
Thr	0.81
Trp	0.21
Val	0.80
Ca	0.60
Digestible P	0.33



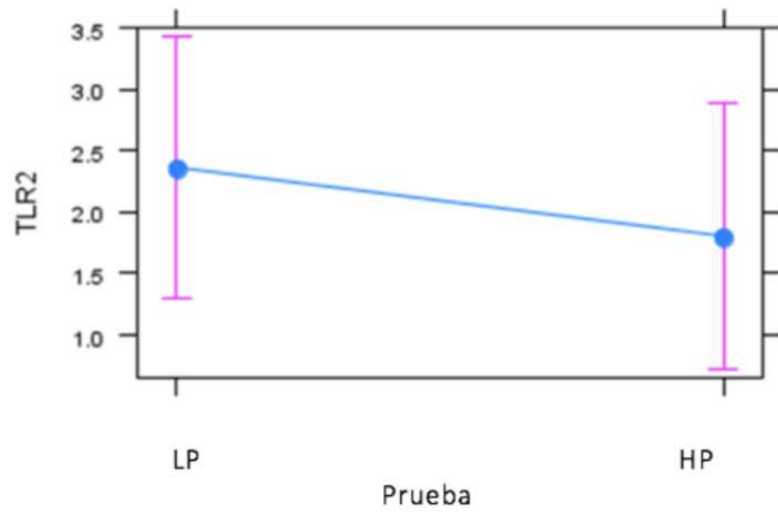
Morfología intestinal – test HP y LP



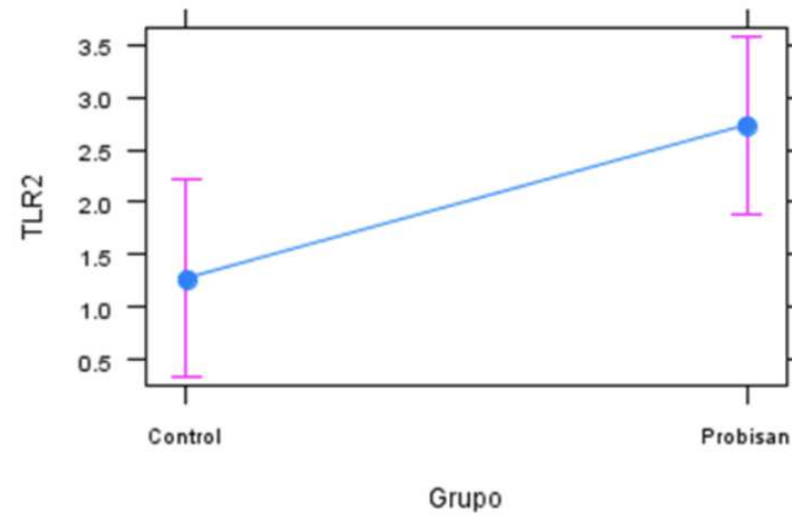
- **Incremento longitud vellosidad intestinal (6%):**
 - Mayor capacidad absorción

TLR-2

Prueba effect plot



Grupo effect plot



Cerdos – Microbiota – test HP y LP

Probisan

- **Disminución**

- Clostridios
- Ruminococcus
- Bacteroides

- **Aumento**

- HP de Prevotella
- LP: Bacteroidales
- Mollicutes?

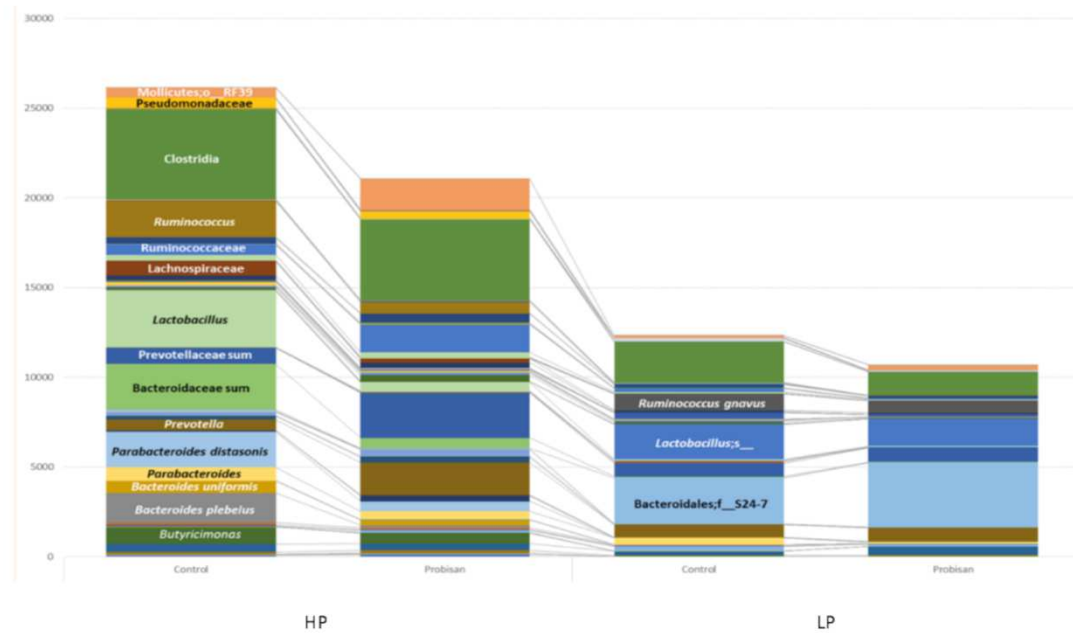


Figura 7: Número de secuencias acumuladas de los niveles filogenéticos con diferencias significativas entre tratamientos (Control y PROBISAN) de los perfiles de microbiota obtenidos por secuenciación masiva por Ion Torrent de las muestras intestinales de los lechones examinados en las pruebas realizadas en HP y LP.

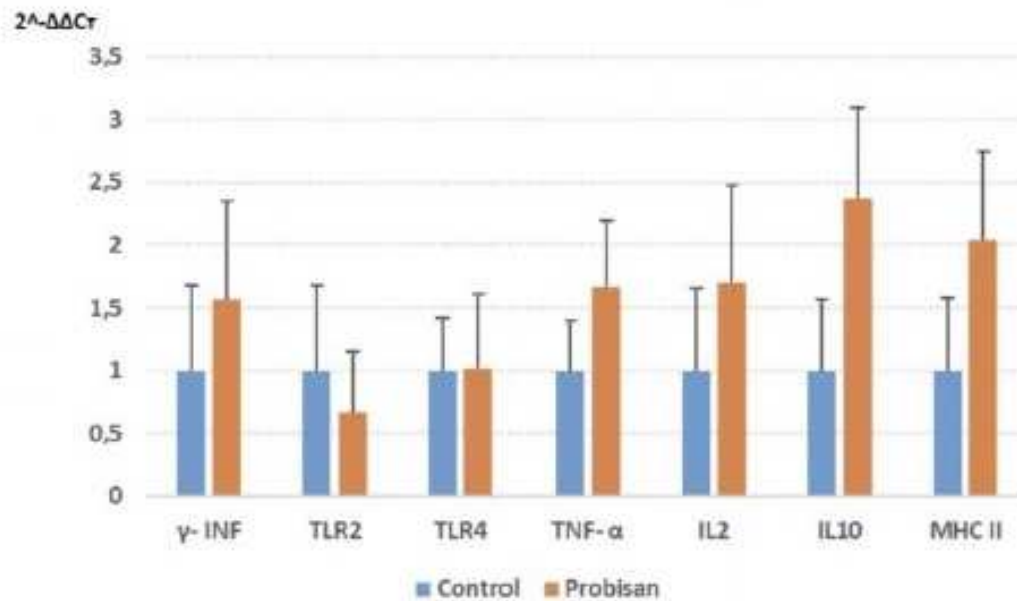
Pruebas científico - técnicas

- **Material y métodos:**
 - IRTA - CRESA (España) – **Maternidades (vientres)**
 - 2500 cerdas en lactación – Lotes Probisan y Control (salas diferentes)
 - **Dosificación:** 1 kg/Tm
 - **Muestras:** sangre y heces (cambios microbiota)
 - Recogidas parto y 7 días post-parto x 5 lactancias



Pruebas científico - técnicas

- **Material y métodos:**
 - IRTA - CRESA (España) – **Maternidades (vientres)**



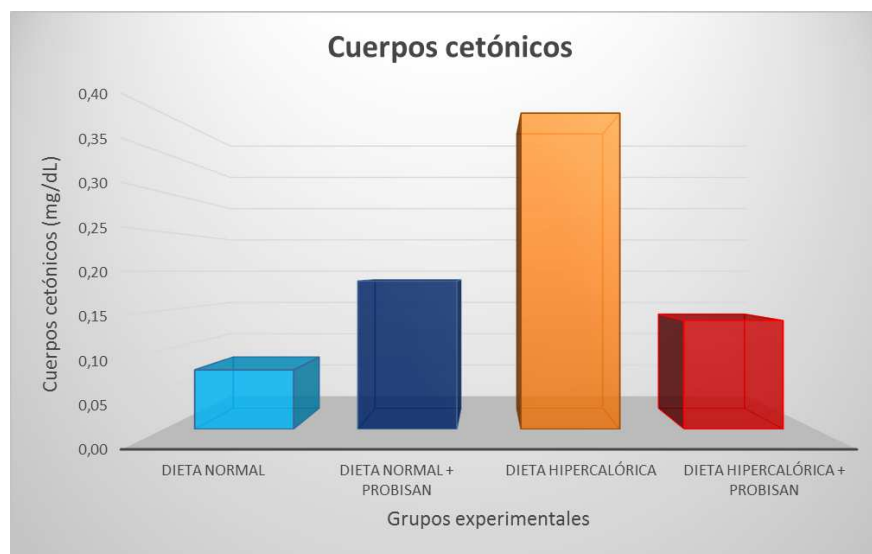
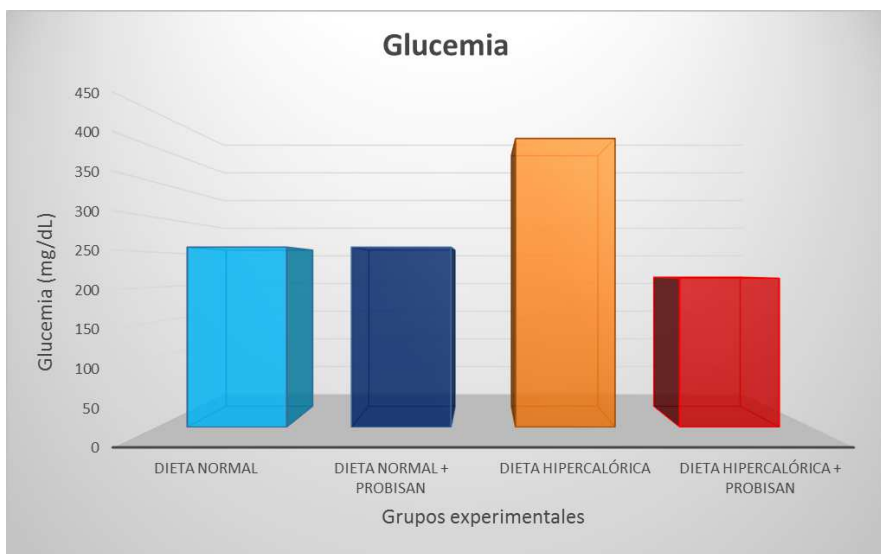
Average + standard deviation of cytokines expression degree, evaluated using the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ algorithm, by Q-reverse-PCR of RNA extracted from intestinal contents samples collected from sows.

For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

New paradigms of animal nutrition



Pruebas científico - técnicas

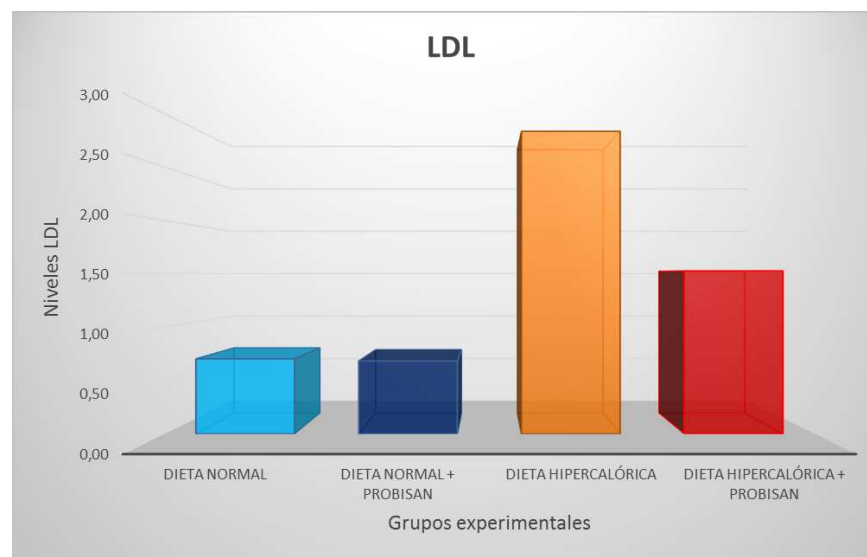
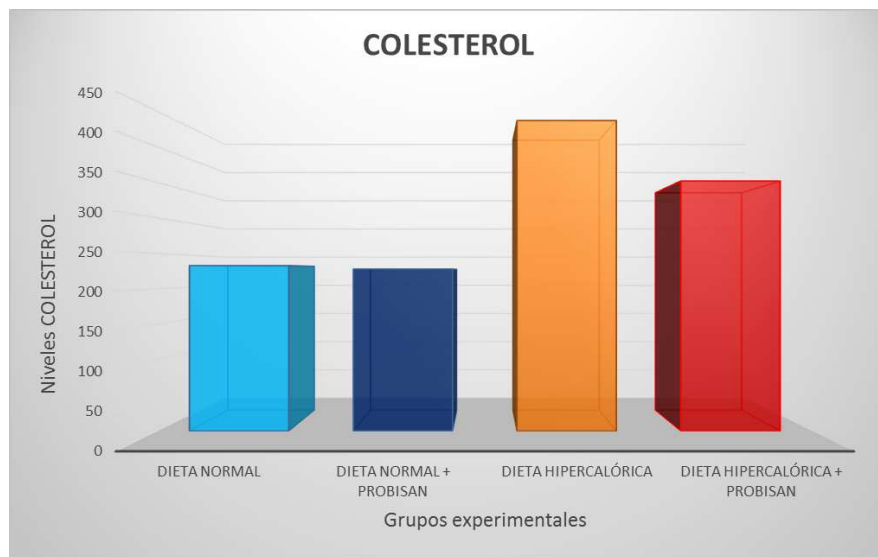


For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

New paradigms of animal nutrition



Pruebas científico - técnicas



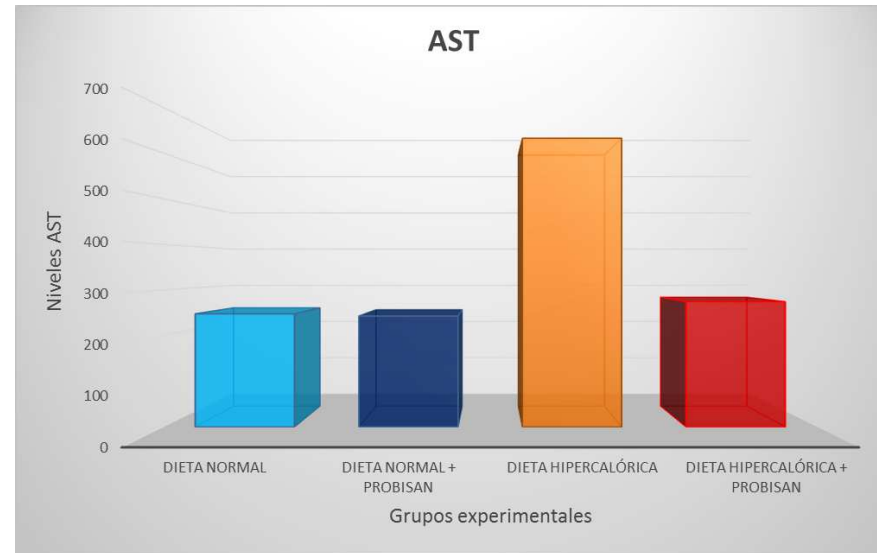
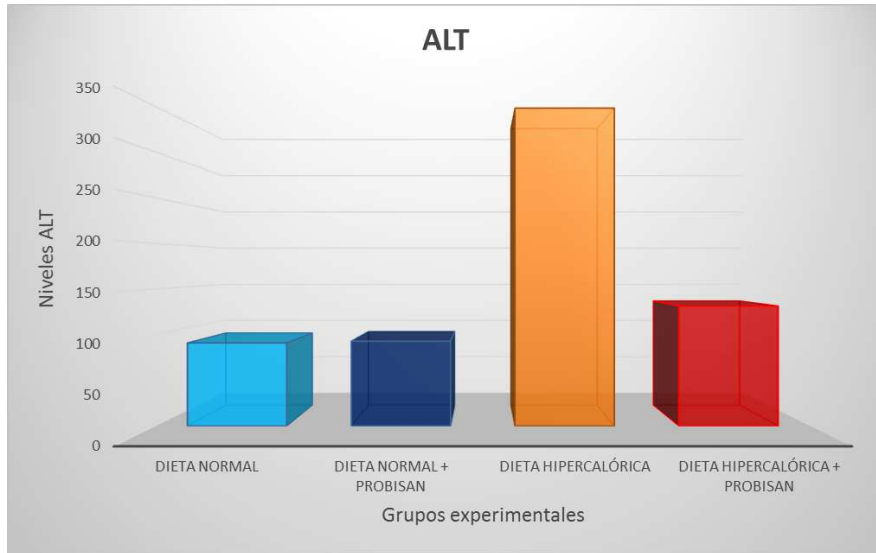
Co-funded by the Horizon 2020 programme of the European Union

For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

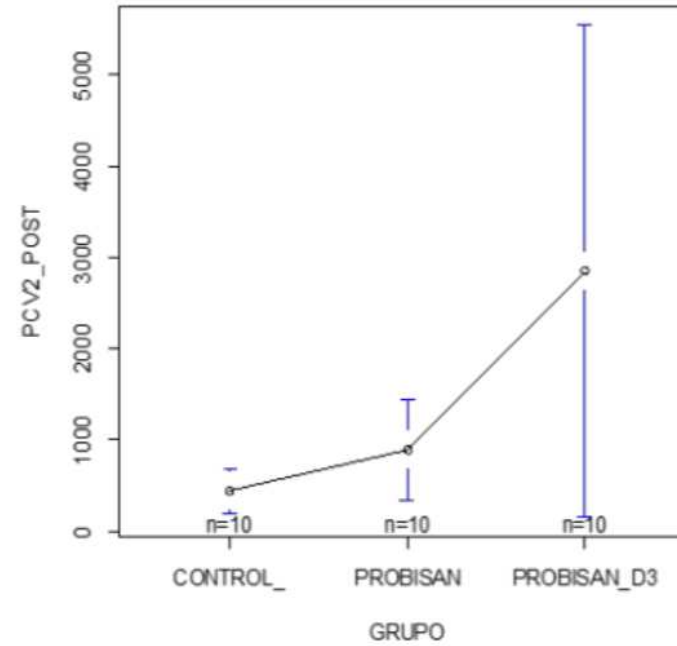
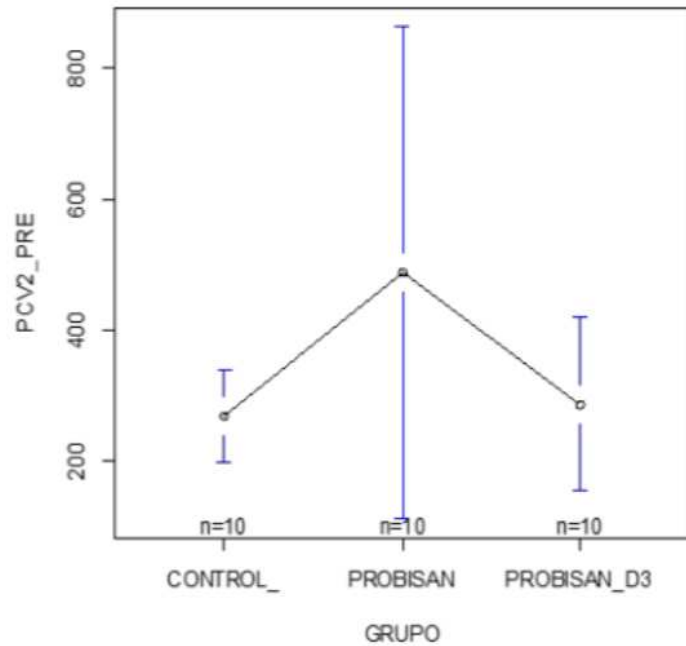
New paradigms of animal nutrition



Pruebas científico - técnicas



Efectos sobre patologías concretas: Circovirus (PCV2)



Cerdos - ROI

- **Aumento de la superficie de absorción – Mejora índices productivos**
- **Incremento de la inmunidad natural innata**
 - Responden más rápido a los desafíos.
 - Mejora la respuesta a medicaciones y vacunas
 - Menor respuesta inflamatoria
- **Mayor integridad intestinal – efecto antiinflamatorio**
- **Hepatoregenerador**
- **Incremento de la producción de ácidos en todos los tramos de intestino**
 - Especialmente en aquellas zonas donde es más difícil llegar:
 - Tramos distales
 - Base de las vellosidades

Dosificación porcino

Cuándo aplicar y dosis a suministrar

Está sumamente indicado en cerdas madre y en la fase de destete porque favorece el desarrollo y maduración temprana del aparato digestivo.

Probisan Swine optimiza el desarrollo de la microbiota intestinal y reduce las disbiosis intestinales creando las condiciones óptimas para generar futuros cerdos de cebo con cualidades de crecimiento superiores.

Cerdas	Gestación	1 kg/Tm
	Lactación	1 kg/Tm
Lechones	Lactoiniciador	3 kgs/Tm
	Prestarter	3 kgs/Tm
	Starter	1,5 kgs/Tm
Engorde	Cebo	0,5 kg/Tm

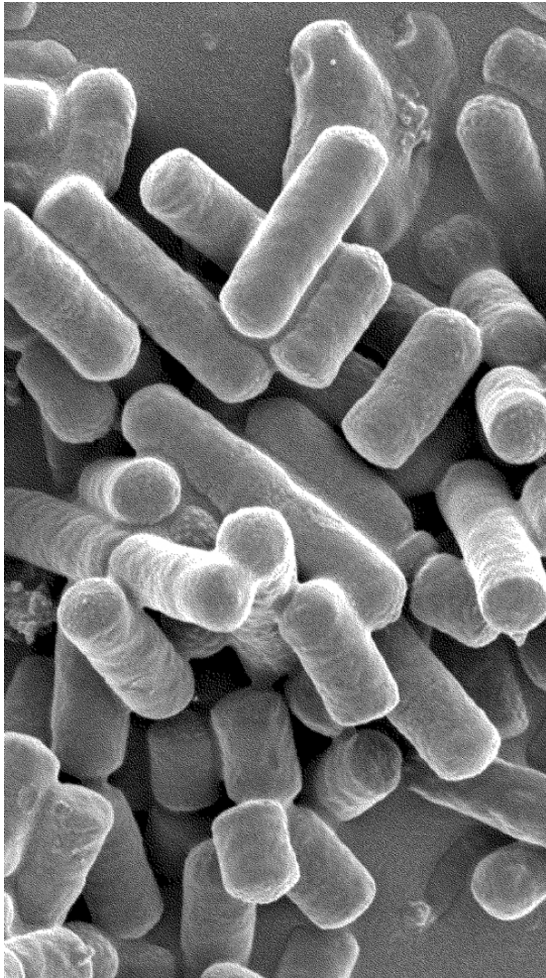
Nuestro producto - Probisan

- Probisan es un **POSTBIÓTICO** producido a partir de diversas bacterias lácticas y levaduras, sus metabolitos favorecen el correcto y rápido desarrollo intestinal e inmunitario
 - También aporta enzimas, vitaminas, ácidos y factores moduladores de inmunidad
- Probisan es un **producto innovador**, natural, con el que cubrimos un rango cada vez más amplio de aplicaciones en la salud animal y humana
 - Efecto preventivo – terapéutico
 - Planes desmedicalización

Garantías

- Las cepas de bacterias lácticas y levaduras están **depositadas en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT)**
- Fabricado con productos exclusivamente de **origen vegetal**
 - **OGM free**
- Elaborado de conformidad con los más altos estándares de producción, y son conformes con el **Reglamento UE/2017/1017**
- Nuestras instalaciones y procesos de producción están certificados por **GMP+**
- **Registrado en FDA – otras instituciones**





Caracterización del producto
Producción de enzimas

Presenta actividad:

1. Amilasa
2. Proteasa
3. Celulasa (carboximetilcelulosa)
4. Lipasa
5. Sacarasa
6. Alfa-galactosidasa. (**No constante*)

No presenta actividad:

1. Fitasa
2. Xilanasa



**Caracterización del producto.
Producción de ácidos - vitaminas**

Las cepas producen los siguientes ácidos:

1. Acético
2. Butírico
3. Fórmico
4. Láctico
5. Propiónico
6. Málico

Incorporan vitaminas del complejo B

For people to eat healthy **animals have to eat healthy**

New paradigms of animal nutrition



¡Muchas gracias por su atención!

PENTABIOL México - España

Tania Pérez-Sánchez
tania@pentabiol.es

XXVI AMVECAJ 2020 – 5-7 FEBRERO



Co-funded by the Horizon 2020 programme of the European Union