

Disertación de la Académica Correspondiente Dra. F. y Bioq. Aída P. de Ruiz Holgado

Efectos preventivos de bacterias lácticas en Sanidad Animal

**Sr. Vice-Rector
Sr. Presidente Dr. Norberto Ras,
Sres. Académicos,
Señoras , Señores y Amigos:**

Agradezco con profunda emoción y reconocimiento al Sr. Presidente Dr. Norberto Ras y a los señores académicos, el altísimo honor otorgado al designarme miembro correspondiente Nacional de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, designación que me honra por la distinción que implica pertenecer a este organismo de altísimo prestigio, dado los méritos de sus integrantes y la responsabilidad con que cada uno se desempeña dentro de la Institución y en su actividad diaria. Ello los convierte en testimonio digno de imitar por ser ejemplo para jóvenes generaciones que eligen dedicarse a estas áreas del conocimiento, que son la Agronomía y la Veterinaria, ciencias que se ven enriquecidas día a día con los aportes de investigadores y profesionales que a través de sus trabajos le confiere la trascendencia alcanzada hoy por sus muchas contribuciones que inciden en la economía y por ende en el bienestar de los pueblos.

Como respuesta a esta distinción, comprometo públicamente en este acto empeñar toda mi capacidad y esfuerzo para merecer la confianza que las autoridades del claustro académico depositan en quienes proponen, y aceptan como miembros de esta Corporación.

Junto a este honor recibo una gran responsabilidad, que con la ayuda

de Dios y de quienes comparten mi vida y actividad profesional, espero cumplir con dignidad.

Me han emocionado profundamente las palabras de su presidente Dr. Norberto Ras al brindarme el diploma de incorporación así como la elogiosa presentación del académico y amigo Ing. Agr. Antonio Nasca. Un reconocimiento particular para el Dr. Ras quien dejando sus compromisos, que son importantes y múltiples tales como desempeñarse en la Presidencia de la Academia, e integrar el Directorio del CONICET, entre otras actividades, se ha trasladado a Tucumán para presidir esta ceremonia que prestigia con su presencia. Por ello muchísimas gracias. Un breve comentario para quien apadrina mi presentación. Siento por el Ing. Agr. Nasca un fraternal afecto nacido, como el mencionó, por las circunstancias que nos brindara la vida al colocarnos en situaciones paralelas por compartir en la Universidad Nacional de Tucumán cargos directivos integrando el Consejo Superior y la Comisión Regional del Noroeste del CONICET durante varios años. Allí, particularmente en el primer caso, vivimos situaciones placenteras unas, difíciles otras, pero que sirvieron para fortalecer y estrechar nuestra amistad. Vayan también las gracias para el amigo.

Antes de referirme al tema elegido para mi disertación sobre "Efectos preventivos de bacterias lácticas en Sanidad Animal" deseo mencionar algunos hechos que creo oportuno desarrollar en relación a lo que hice en mi vida y también exponer brevemente algunos conceptos referidos a CERELA, organismo donde se cumplen las actividades de investigación a las que aludiré luego.

En la vida de las personas, por lo menos en mi caso, todos los logros obtenidos (no sé si llamarlos éxitos) están condicionados por una serie de circunstancias que podría resumir en dos. Por una parte haber tenido la suerte de hacer aquello que me gusta y por lo que siento inclinación, y no se si exagero al decir que me apasiona. Todos recibimos ciertos talentos que no siempre podemos desarrollar, es decir cumplir con nuestra vocación; en mi caso fueron la docencia y la actividad en el área científica que vengo realizando, desde hace 48 años. Cuando ello ocurre logramos dos cosas; además de sentirnos felices, nuestro trabajo rinde más frutos y la proyección de servir, ayudar, conducir y sobre todo, contribuir a formar, se vuelve efectiva. Otro tanto o más importante que el anterior es el haber contado con seres cercanos, que sin duda son los principales responsables y artífices de mi realización. Ellos me han apuntalado, facilitado, comprendido y diría, permitido, sin ningún retaceo hacer lo que hice a lo largo de mi vida.

Siempre al enumerar se cometen omisiones, pero sería injusto dejar de mencionarlos. Ellos son, en la primera etapa mi madre, que con su ejemplo y el hogar que nos brindara, modeló el aspecto humano, con enseñanzas y conductas que dejan marcas (mi padre falleció prematuramente), luego y muy

especialmente mi marido y mis hijos (donde incluyo a los que se incorporaron luego). Destaco, también a mis hermanas, nietos, sobrinos y amigos, muchos aquí presente; reconozco en ellos su influencia y su cariño.

Ese es un grupo, el otro es el de mis maestros. He tenido la dicha de contar con tres personas que han contribuido a mi formación y de quienes recibí el testimonio de ejemplo de vida; ellos fueron la Sra. Carmen Porrúa de Olavarría, Rectora del Liceo Nacional de Señoritas con quien tuve un trato diario durante algunos años cuando trabajé a su lado como Secretaria de dicho establecimiento; luego en el período posterior universitario, mi maestro el Dr. Luis C. Verna, gran motivador de mi iniciación en la investigación, microbiológica con quien compartí trabajos, colaboré en la docencia y recibí sus enseñanzas de hombre de bien y su bonhomía. El tercero, en años recientes el Dr. Carlos Landa a quien tuve la suerte de acompañar durante cuatro años en la conducción de la Universidad Nacional de Tucumán en su paso como Rector. Por ello destaco y reitero, que si existe algún mérito en mi vida está basado en la oportunidad de tener a mi lado seres excepcionales.

Muchas gracias nuevamente por este honor que me vincula estrechamente a esta señera institución que es la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria.

Como dije me referiré brevemente a CERELA, donde realizamos nuestro trabajo de investigación.

Este organismo surgió por la inquietud de un grupo de investigadores, microbiólogos, dedicados al estudio de las bacterias lácticas, quienes propusieron a las autoridades del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la

Fundación Miguel Lillo y la Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura (FECIC), la creación de un Centro en esta área del conocimiento.

Esta idea se concretó en agosto de 1974 por la firma de un convenio entre las tres instituciones. Así nació CERELA.

Desde su inicio existe un subconvenio de funcionamiento acordado con la Universidad Nacional de Tucumán, en el que se fijan las acciones que posibilitan la formación de recursos humanos para docencia e investigación.

Asimismo el acuerdo permite que un grupo importante de investigadores de CERELA pueda prestar servicio en ambas instituciones.

Después de dos años de organización, adquisición de equipos, adecuación de locales de un edificio de 162 m² cedido por la Fundación Miguel Lillo, se inauguró el 27 de agosto de 1976.

Este hecho permitiría el desarrollo del conocimiento y la aplicación de las bacterias lácticas de tan relevante importancia en diversas industrias, particularmente, la alimentaria.

A pesar que la idea que predomina es que estos microorganismos intervienen y actúan en procesos fermentativos, cuya materia prima es la leche, la realidad es que la versatilidad de las bacterias lácticas es extraordinaria; así cumplen importante papel en la fermentación para la obtención de vino, de embutidos, en la industria panaria, en carne, obtención de encurtidos (chucrut, pickles, etc.)

Luego por el crecimiento propio de Centro, (incremento de las actividades), a lo largo de los años fue necesario realizar ampliaciones. Se han incorporado nuevos laboratorios que en la actualidad superan los 1000 m² de superficie.

Los objetivos originales son: 1) Contar con un organismo destinado a la investigación científica en el campo de la microbiología de alimentos en que intervienen las bacterias lácticas. 2) Formar recursos humanos altamente capacitados, y 3) Transferir conocimientos al medio, actuando como asesor y brindando nuevas tecnologías a las industrias.

La siguiente descripción da una idea de la estructura del Centro, sus actividades y organización. Dependen del Director y Vicedirector, Administración y Biblioteca, Cepario y Laboratorio de Bioestadística. La actividad de investigación se divide en grandes áreas destinadas a la formación de recursos humanos, investigación y transferencia al medio.

El Comité de Representantes, por medio del cual participan las tres Instituciones fundadoras, asiste a los directivos de CERELA en la elaboración del plan de actividades anual, en el que se contempla el funcionamiento y expansión del centro.

Una preocupación primordial de CERELA es la formación de recursos humanos en Microbiología y Biotecnología. Ello se refleja en la publicación de trabajos de investigación en revistas internacionales con referato, todos de primer nivel, tesis doctorales terminadas y aprobadas y en preparación; ingresos en Carrera del Investigador. La realización de cursos internacionales de post-grado dictados por profesores visitantes de primer nivel en el mundo en la especialidad y cursos a cargo de investigadores de CERELA sobre Inmunología, Genética, Biología Molecular, Tecnología y Bioestadística. Realizan pasantías jóvenes profesionales de Brasil, Chile, Perú, España y de distintas regiones de la Argentina.

Otro de los intereses fundamentales del Centro es la transferencia a la industria y a la comunidad, lo que se refleja en la preocupación de resolver problemas regionales, industriales y relacionados con la salud. La transferencia a la industria se concreta asimismo con atención de consultorías sobre problemas tecnológicos, investigaciones a pedido, servicios, asesorías, etc.

Tres secciones de servicio cumplen actividades dirigidas a la totalidad de las áreas, ellas son Biblioteca, Cepario y Estadística.

A continuación vamos a enfocar el conocimiento de bacterias lácticas relacionándolo con un aspecto trascendente para los animales y el hombre. Esto es SUBBIENESTAR Y SALUD.

Con respecto a los microorganismos, sabemos que los seres vivos desde que existen, conviven con ellos, en particular con las bacterias lácticas. Sólo en el último decenio se obtuvieron evidencias científicas que se refieren a su faz o propiedades tecnológicas, así como a su acción probiótica y terapéutica.

En nuestros días y bajo el desarrollo de numerosas investigaciones experimentales se han establecido con claridad que las bacterias lácticas en asociación con bifidobacterias están en condiciones de cumplir un papel muy importante.

A principios de siglo, Elias Metchnikoff propuso una teoría para demostrar correlación entre "longevidad de los pueblos de los Balcanes y Caucásicos y el constante consumo de productos lácteos fermentados".

Toda nuestra actividad gira alrededor de las bacterias lácticas.

Uno de los objetivos más importantes con respecto a las investigaciones que se realizan es incursionar en aspectos relacionados con el mejo-

ramiento de procesos biotecnológicos en el área de alimentos y compuestos de productos farmacéuticos de acción preventiva para la salud. Por ello nos interesa conocer las bacterias lácticas y su uso, primordialmente como fermentos, apuntando a modificar en el producto fermentado, tiempo de maduración y exaltar sus características (textura, sabor, aroma, etc.)

Otro enfoque es diseñar nuevos alimentos probióticos, constituidos por microorganismos que se aíslan de un animal o persona sana y forman parte de la flora normal. Estos, incorporados a alimentos como leches fermentadas, embutidos, soja, etc. o como preparados farmacéuticos actúan mejorando el estado general y previniendo procesos infecciosos.

Su actividad es efectiva en los tractos gastrointestinal, vaginal, respiratorio, urinario, etc. En la actualidad, se afianza cada vez más el concepto de enseñar a la población a consumir aquellos productos que al mismo tiempo que alimentan, son beneficiosos para la salud. Estos compuestos, llamados nutraceuticos, constituyen una nueva era en la ciencia de los alimentos. Por lo tanto, el conjunto de nuestras investigaciones tiende a diseñar alimentos nutraceuticos que son los que van a dominar el mercado al final de este siglo y comienzos del otro. Este es el nuevo concepto: buscar bacterias con efectos probióticos para animales y hombres.

Para hablar del efecto benéfico de las bacterias lácticas es imprescindible conocer las acciones que estos microorganismos ejercen a través de sus componentes y los mecanismos que ponen en juego cuando están presentes en determinados organismos vivos, ya sea incorporados en medicamentos o alimentos.

No todas las bacterias lácticas

se comportan de igual forma y esto es válido no sólo para especies diferentes, sino que aún iguales bacterias, que pertenecen al mismo género y especie, difieren en efectividad de una cepa a otra. Esto es importante para detectar su beneficio.

Así, por ejemplo, se seleccionaron cepas capaces de reducir el colesterol en base a su tolerancia a sales biliares y a las condiciones de "stress" existentes en el tracto gastrointestinal. La etapa siguiente fue

incluir en fórmulas de fermento, las cepas mencionadas (cepas vivas). Los resultados han sido exitosos, obteniéndose reducción de hasta un 60% del colesterol sérico.

Los estudios han permitido postular el posible mecanismo responsable del efecto mencionado. Este estaría relacionado con el metabolismo de sales biliares. Se encontró que existe relación entre esta propiedad y la hidrólisis de sales biliares.

Bacterias lácticas deconjugan

Hidrólisis de sales biliares



El hígado, para mantener el pool de sales biliares, realiza síntesis "de novo" utilizando colesterol endógeno que consume.



Acidos biliares deconjugados que pptan. a bajo pH y arrastran colesterol (se elimina por heces).

Una de las cepas aisladas en ensayos de laboratorio, efectivas para reducir colesterol, es *L. fermentum*, que se considera por ello, bacteria láctica probiótica. Se realizan estudios genéticos para confirmar la hipótesis expuesta; los resultados son alentadores (mutantes que no hidrolizan sales biliares en las que el efecto hipocolesterolémico desaparece).

Otra acción benéfica demostrada es el comportamiento de dos bacterias: *L. casei* y *L. acidophilus*. Se ha puesto en evidencia que poseen capacidad para:

1) Inhibir patógenos intestinales., se ubican en las paredes del intestino impidiendo que agentes patógenos se fijen a los receptores allí ubicados, condición necesaria para que manifiesten su patogeneidad;

- 2) Actuar como reguladores de flora intestinal;
- 3) Aumentar la inmunidad, actuando como inmunomoduladores entre otros de los aparatos respiratorio y digestivo.
- 4) Favorecer la mayor absorción de calcio, previniendo la osteoporosis.
- 5) Incrementar la digestibilidad de los alimentos actuando como suplemento nutritivo, facilitando la absorción de los mismos.

Un importante objetivo para comprender las ventajas del uso de estos organismos previniendo enfermedades, es analizar los diversos mecanismos por los cuales las bacterias lácticas estimulan el sistema inmune.

La importancia de los resultados reside en contar con bases científicas para una correcta interpretación de dichos mecanismos y en base a ello

efectuar una adecuada selección de cepas con capacidad inmunopotenciadora.

Un ejemplo válido, en el que se utilizó como modelo un pequeño animal (ratón), es el estudio realizado para conocer la efectividad del empleo de *L. casei* como adyuvante oral en un proceso tumoral no intestinal (fibrosarcoma).

Estos resultados alentadores sirvieron de base para estudios en humanos. Así se puso en evidencia, en un trabajo realizado en pacientes con tumor superficial de vejiga, a quienes se les administró un producto fermentado con *L. acidophilus* y *L. casei*. Después de un seguimiento de 36 meses sólo se produjo recidiva en 2 casos.

Se destacan los resultados beneficiosos obtenidos en la selección de probióticos aislados de microflora bovina. Una vez tipificados, se propone su uso en Medicina Veterinaria, con el objeto de prevenir infecciones mediante la elaboración de óvulos vaginales conteniendo dichas bacterias. Son muy frecuentes los procesos infecciosos post partum en vacunos. Ellos dependen del nivel hormonal de los animales y de la presencia en el tracto vaginal, de microflora estable y beneficiosa. Es importante restaurar la flora vaginal normal. El método usado actualmente es el de administrar óvulos conteniendo sustancias bactericidas de origen químico.

Se están determinando los grupos de microorganismos predominantes presentes en esta población, así como las características de los lactobacilos vaginales bovinos, seleccionando aquellos con propiedades óptimas para su uso como probióticos.

Hasta el presente se han aislado diferentes microorganismos del tracto vaginal de 15 animales en período estral,

inducido artificialmente, mediante inoculación de hormonas.

La importancia de esta investigación está dada por posibilidad de evitar las infecciones post partum en vacunos, mediante uso de óvulos con bacterias lácticas beneficiosas, capaces de interferir en la adherencia de patógenos y prevenir infecciones. Estos procesos retardan los servicios y como consecuencia disminuyen el número de crías.

Merece, asimismo, mencionarse una línea de investigación que consiste en el diseño de alimentos probióticos para la producción caprina.

Para que estén presentes bacterias benéficas en la microflora intestinal de cabras, se requiere de una sustancia segregada en el intestino de los animales, denominada mucina.

Cuando las cabras se encuentran sometidas a estrés (alteración de hábito alimentario, castración, descorne, inclemencias climáticas, destete, etc.) se reduce la secreción de mucina lo que desequilibra la flora microbiana normal produciéndose una disbacteriosis que puede causar alteraciones que van desde la reducción de peso (en casos leves) hasta diarrea y/o muerte del animal (en casos graves).

Para solucionar el desequilibrio se procede a:

- 1) Aislamiento de microorganismos del tracto gastrointestinal;
- 2) Identificación de los mismos;
- 3) Selección de cepas probióticas capaces de producir bacteriocinas (sustancias inhibitorias de patógenos) y con ellas preparar fermentos para alimentos probióticos caprinos. Los resultados previos de un estudio sobre el comportamiento de una bacteria aislada por nuestro grupo, denominada *E. faecium*, permitieron

conocer que la misma produce una bacteriocina (enterocina) activa contra *Listeria monocytogenes*.

En base a ello se encaró un estudio que consiste en incorporar este microorganismo al cultivo iniciador o starter en la manufactura y maduración de un queso de cabra fabricado experimentalmente en el laboratorio.

Los resultados demuestran una importante disminución en el desarrollo de *Listeria*, sin producirse cambios en la característica físico química del producto. Los datos precedentes son de mucha importancia para ser adoptados por queseros artesanales dedicados a la elaboración de quesos de cabra.

Un tercer tema es la selección de cepas del tracto gastrointestinal de aves sanas, con propiedades probióticas, para ser usadas como suplementos alimentarios naturales, competitivos y eficientes en la cría de aves.

En forma similar a los procesos previos se aíslan y tipifican bacterias lácticas productoras de sustancias antimicrobianas y/o adhesinas, aisladas del tracto gastrointestinal.

Se realiza la evaluación "in vivo" de la efectividad de dichos alimentos probióticos en animales de experimentación (pollitos BB de 30 hs de vida).

Ya se aislaron aproximadamente 200 microorganismos de pollos de alimentación libre.

La importancia de estas investigaciones y su aplicación industrial reside en la posibilidad de reducir "naturalmente" el índice de mortandad que se registra en los primeros días de vida del ave, producida por microorganismos patógenos, controlados actualmente sólo por el uso de antibióticos. Se vería asimismo disminuído el costo de producción y los riesgos del consumo de alimentos conteniendo trazas de sustancias químicas.

Conclusión

Los mencionados son sólo unos pocos ejemplos de la gran potencialidad de diversas bacterias lácticas para actuar restituyendo la microflora normal en los organismos de animales y del hombre, inhibiendo agentes patógenos por acción de bacteriocinas (equivalentes a antibióticos) y por otros mecanismos, actuando como "producto natural" sin incorporar sustancias extrañas al interior de los seres vivos mencionados.

Nada más, así que doy a Uds. muchas gracias tanto por su concurrencia como por la gentil atención.