

**TENDENCIAS DE INVESTIGACIÓN DE PROBIÓTICOS UTILIZADOS EN ANIMALES
MONOGÁSTRICOS**

**Elaborado por:
ALEXIS MORALES CASTAÑEDA
Profesional inteligencia Tecnológica**

**OBSERVATORIO DEL SISTEMA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROINDUSTRIAL**

**Editor
CORPOICA**

DICIEMBRE DE 2014

TENDENCIAS DE INVESTIGACIÓN DE PROBIÓTICOS UTILIZADOS EN ANIMALES MONOGÁSTRICOS

Para este ejercicio de vigilancia tecnológica y con referencia a probióticos en animales monogástricos, se consultaron las bases de datos SCOPUS®, Sciencedirect®, Cabdirect® y Web of Science. Debido al gran volumen de información solo se analizó el periodo comprendido entre los años 2005 y 2014, con fecha de consulta a 5 de diciembre de 2014, lo que arrojó como resultado un corpus de 1842 registros, obtenidos a través de la utilización de la siguiente ecuación de búsqueda:

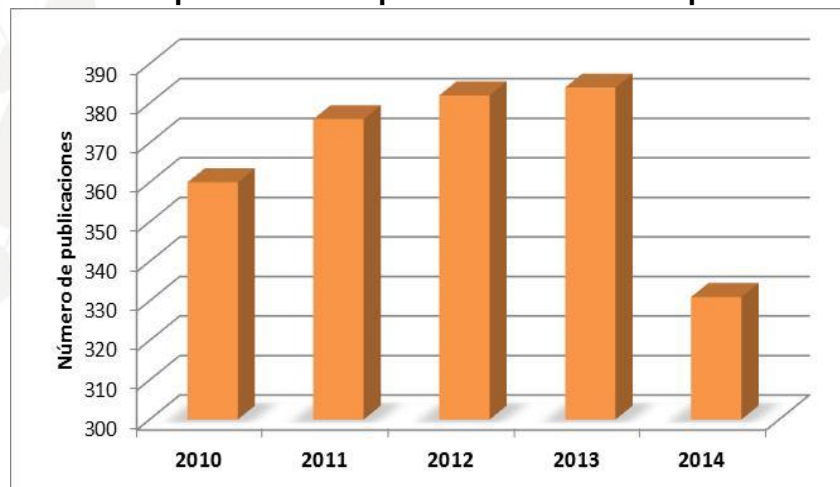
((probiotic* AND (dairy OR preweaning OR wean* OR calf OR calves OR bovine OR cattle OR pig* OR "sucking pig" OR poultry OR hen OR chicken OR lamb OR sheep OR goat* OR monogastric*)) AND (diarrhea OR diarrhoea OR growth)) AND NOT (cheese OR yogurt OR "dairy products" OR "milk products" OR yoghurt* OR whey OR "ice cream" OR "powdered milk" OR butter OR cream OR industr* OR human))

Dinámica de publicaciones

Para el periodo analizado se registró un promedio de 366 publicaciones por año, mostrando un leve crecimiento desde el año 2010 hasta 2013, pasando de 360 publicaciones a 384 respectivamente, con un crecimiento acumulado anual del 2%. Para el año 2014, el número de artículos científicos referentes al tema de probióticos, disminuyó 14% respecto del año anterior, indicando que la investigación sobre este tema puede tener una tendencia a disminuir o a especializarse en otros microorganismos distintos a los de mayor observancia, haciendo referencia específica a *Bacillus subtilis* o *Lactobacillus acidophilus*, que agrupan alrededor del 18% de las publicaciones (Gráfico 1).

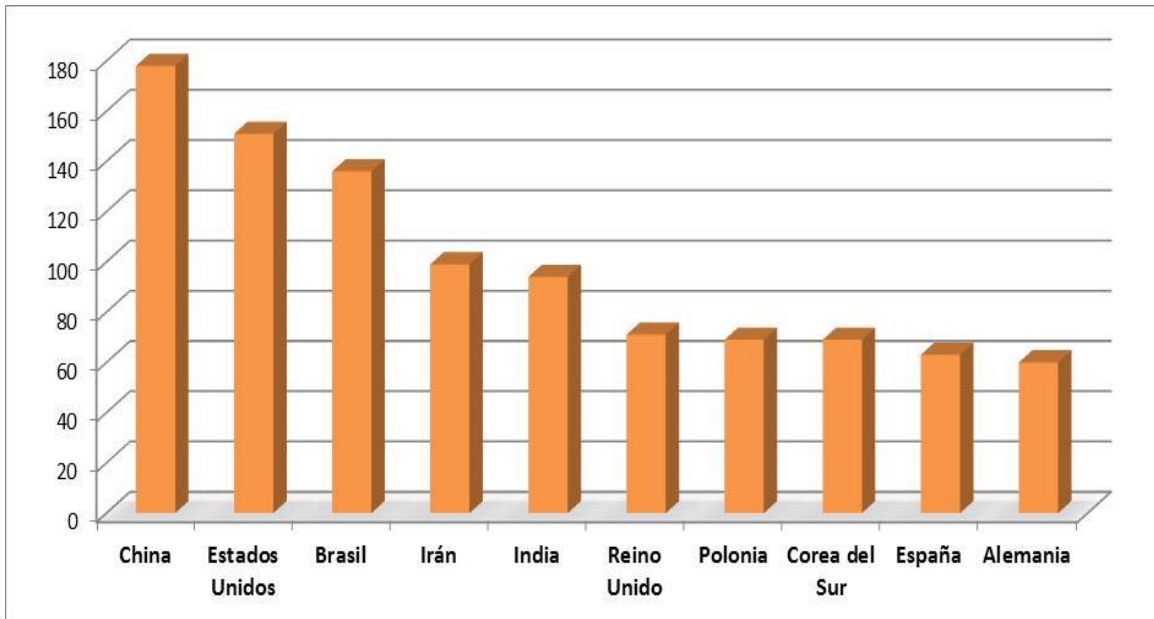
Entre los principales países con el mayor número de publicaciones se encuentra en primer lugar China con 178 publicaciones, seguido de Estados Unidos (151 publicaciones), Brasil (136), Irán (99) e India (94) (Gráfico 2).

Gráfico 1. Dinámica de publicaciones por año en el tema de probióticos. 2010 -2014



Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science. Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

Gráfico 2. Dinámica de publicaciones principales países en el tema de probióticos. 2000-2004



Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science. Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

Autores Líderes

Los 15 principales autores con los mayores números de publicaciones concentran el 9% del total de publicaciones (165 registros). El autor con el mayor número de publicaciones es el coreano Kim In Ho, con 16 artículos científicos. Su trabajo se ha concentrado en la dieta suplementaria de pollos de engorde, gallinas ponedoras y cerdos para lo cual ha enfocado sus investigaciones en tratamientos con probióticos teniendo como base principalmente *Bacillus subtilis*. Sus trabajos han evaluado el efecto de los probióticos en la digestibilidad de nutrientes, la emisión de gases nocivos provenientes de heces fecales (amoníaco y ácido sulfhídrico) y el crecimiento. En algunos trabajos, se registra el incremento en peso por el orden del 4,5% y reducción de gases en un 27 y 38%. Ho ha estado vinculado al Departamento de Ingeniería Química del Korea Advanced Institute of Science & Technology en Yusong, Republica de Corea (Gráfico 3).

En segundo lugar se encuentra la austriaca Michaela Mohnl de la empresa BIOMIN GmbH, (Herzogenburg, Austria). Sus estudios (14 publicaciones) se han centrado en tratamientos para la reducción de enteritis y coccidiosis en pollos de engorde a través de la suplementación en agua o alimentos sólidos, de probióticos que contienen *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus salivarius* y *Lactobacillus reuteri*.

Guillermo Téllez, que actualmente está vinculado al Department of Poultry de la Universidad de Arkansas, Estados Unidos, ocupa el tercer lugar de importancia en cuanto a producción de artículos científicos relacionados con probióticos (13 registros). Sus investigaciones se han enfocado en el control de *Salmonella* en pollos a través de la suplementación de

probióticos con bacterias del genero *Lactobacillus*, entre otros prebióticos comerciales cuyo componente principal son bacterias del género *Bacillus*.

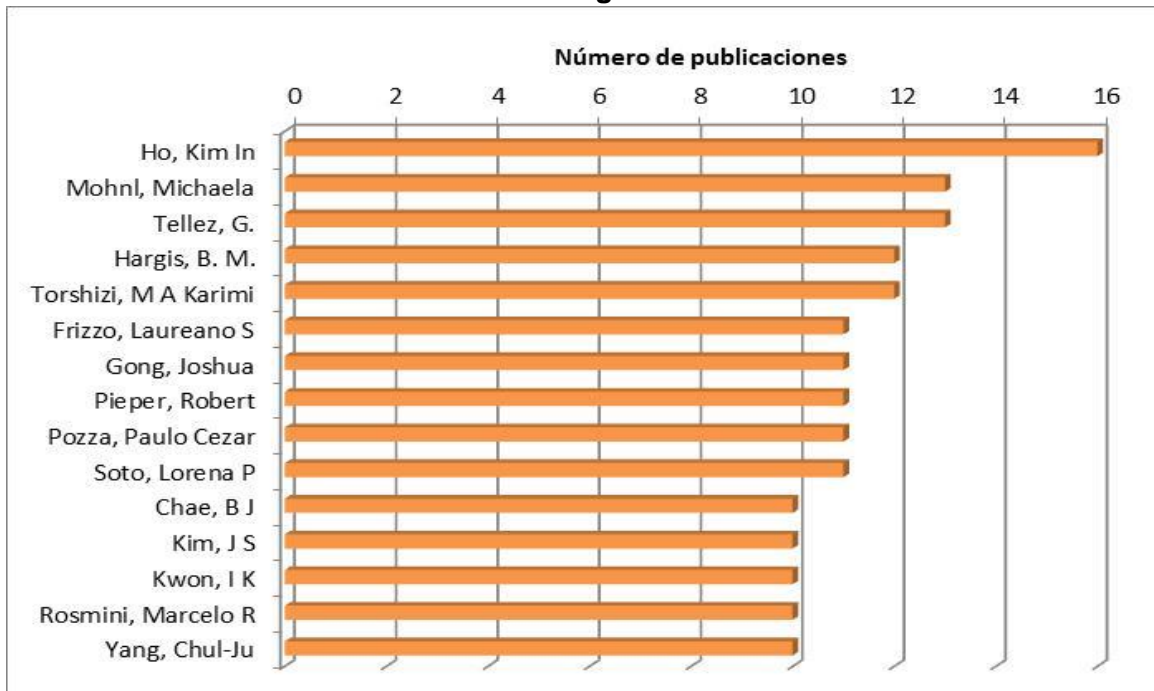
En cuarto y quinto lugar, con 12 artículos cada uno, se destacan el estadounidense Billy Marshall Hargis y el iraní Mohammad Amir Karimi Torshizi. El primero, que también trabaja con Tellez, G., en la Universidad de Arkansas, ha desarrollado estudios en el control de *Salmonella* y el segundo que trabaja en el Department of Poultry Science de la Tarbiat Modares University en Teherán, ha trabajado en el tema de la actividad antioxidativa de probióticos suministrados a pollos de engorde, así como su efecto en el fortalecimiento de huesos y respuestas inmunológicas.

Un análisis de redes que agrupa autores bajo temáticas afines y muchas veces su correlación en publicación de artículos en forma conjunta, permitió identificar tres redes principales: La primera conformada por los coreanos Lee, Sang-Hyeon., Kim, Ki-Hwan., Kwon, I K., Kim, J S., Chae, B J. e Ingale, S L., que han trabajado principalmente en la suplementación dietaria a pollos de engorde y cerdos con las especies *Bacillus subtilis* y *Rhodobacter capsulatus*. La primera utilizada como base de premezclas para la reducción de infección intestinal causada por *Clostridium* y *coliforme* y la segunda utilizada en gallinas ponedoras como alternativa para la reducción de colesterol en huevos.

La segunda red la conforman Soto, Lorena, P., Rosmini, Marcelo., Frizzo, Laureano., Signorini, Marcelo., y Zbrun, Maria V., que han trabajado conjuntamente en los temas de administración de *Lactobacillus casei* a terneros con una innovación interesante que consiste en administrar periódicamente este inóculo probiótico en una capsula hecha de un gel especial elaborado a partir de alginato de almidón. Entre otros inóculos estudiados por esta red se encuentran *Lactobacillus salivarius* y *Pediococcus acidilactici*.

La tercera red está conformada por Muhammad, Faqir., Javed, Ijaz y Rahman Zia U., pakistaníes que han trabajado en el efecto de probióticos suplementados junto con vitaminas y proteínas en pollos de engorde en relación con respuestas inmunológicas y tratamiento contra enfermedades respiratorias (Gráfico 4).

Gráfico 3. Investigadores líderes



Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science. Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

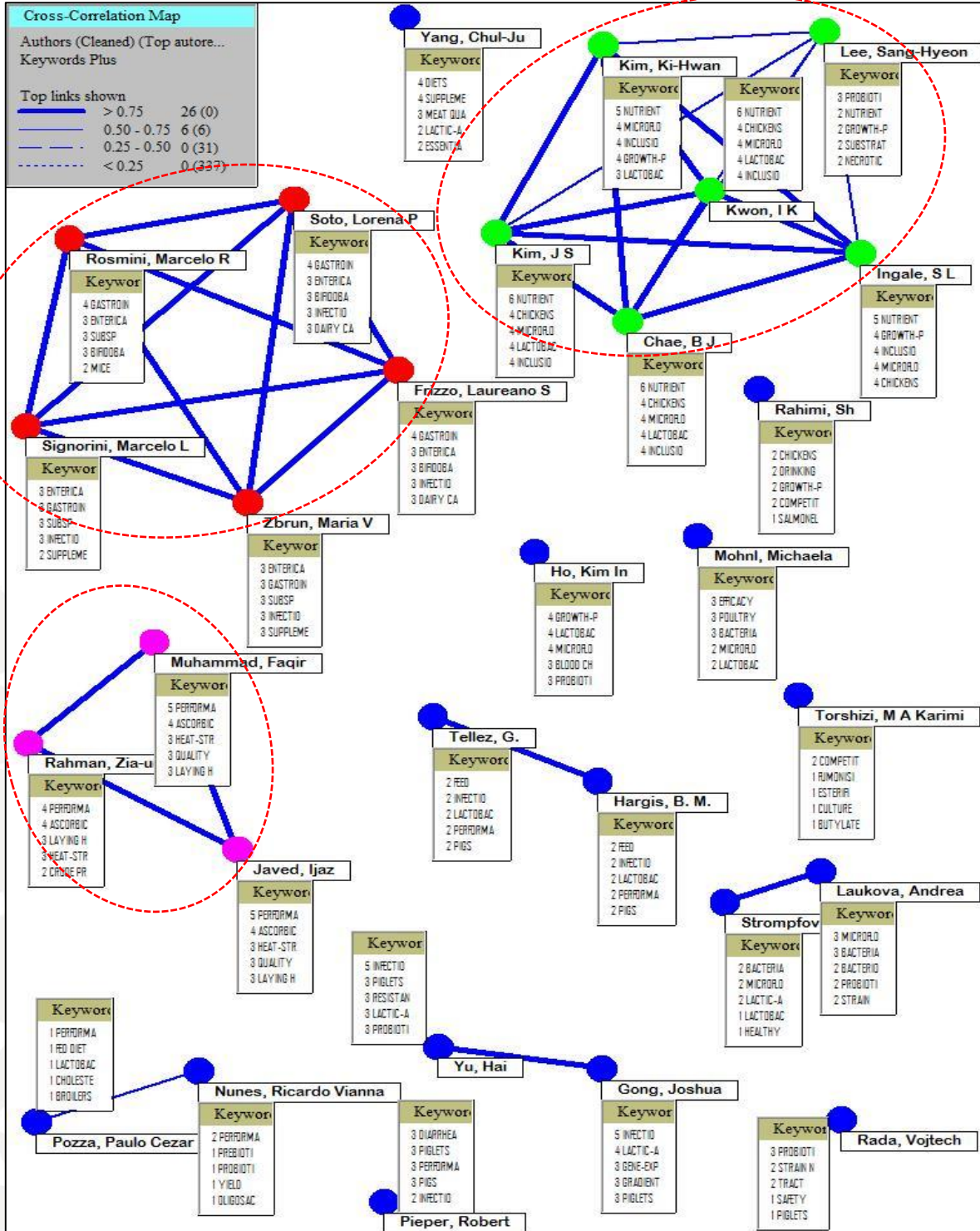
Instituciones líderes

Entre las instituciones más destacadas ocupa el primer lugar la *Freie Universität Berlin* adelantando investigaciones a través de la Facultad de medicina Veterinaria y el Instituto de Nutrición Animal. Allí se han llevado a cabo estudios sobre cepas de *Enterococcus faecium* y *Bacillus cereus* como probióticos para el tratamiento de gastroenteritis en lechones e infecciones intestinales causadas por *Salmonella* y *Escherichia coli*.

En segundo lugar figura la *Islamic Azad University* que ha centrado sus estudios en la suplementación de probióticos comerciales en premezcla con aditivos enzimáticos para contrarrestar las altas concentraciones de colesterol en pollos de engorde, promover la solubilización de fósforo y la absorción intestinal de nutrientes.

Como tercera institución importante, se destaca *Agriculture and Agri-Food Canada* que ha centrado sus esfuerzos en estudiar las bacterias *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus acidophilus* y *Saccharomyces cerevisiae boulardii* como suplemento probiótico para cerdos en levante con el fin de incrementar la microbiota intestinal para evitar infecciones intestinales. Así mismo, esta institución también ha trabajado las especies *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, y *Lactobacillus salivarius* en pollos como probiótico con capacidades antiinflamatorias.

Gráfico 4. Redes de autores según temáticas afines



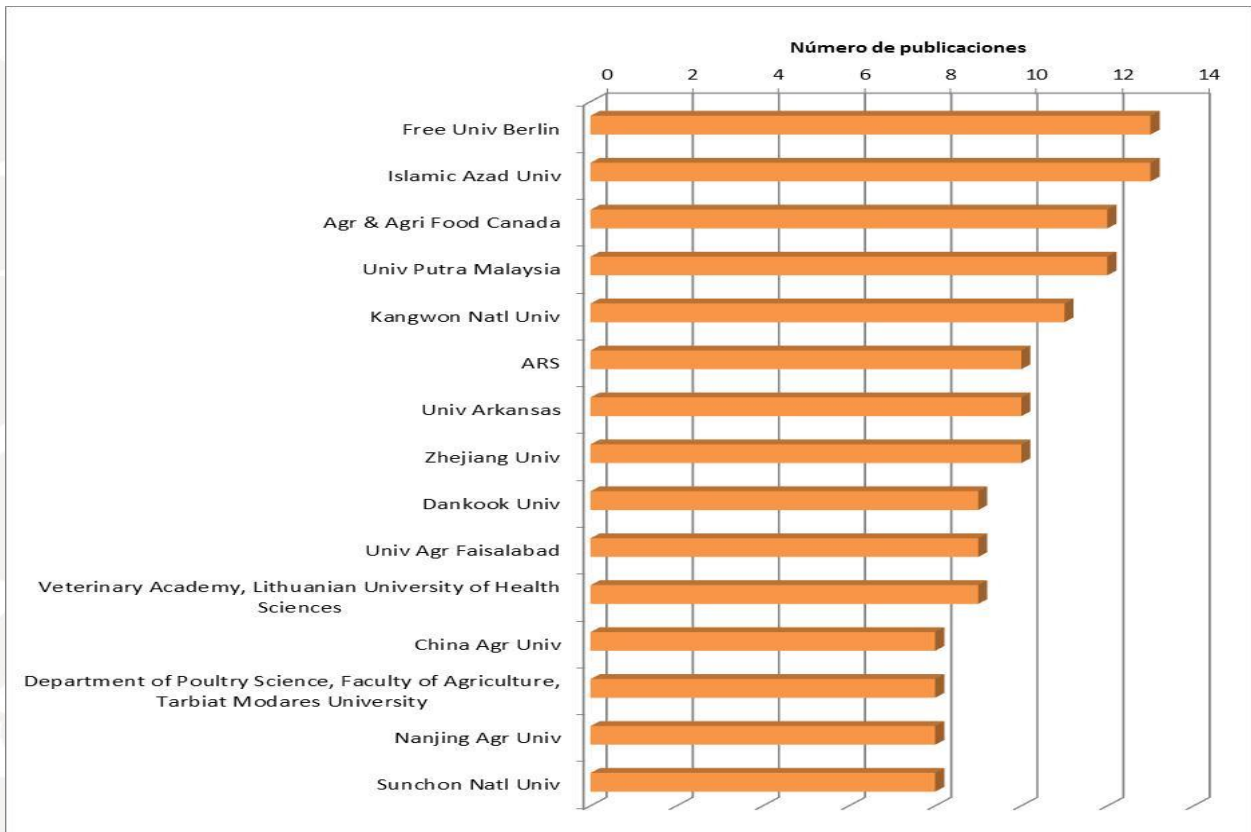
Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science.
 Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

Ocupa el cuarto lugar *Universiti Putra Malaysia* que ha adelantado investigaciones en oligosacáridos que actúan como probióticos en una interacción con cepas de *Lactobacillus*, caracterización de las mismas por PCR y su papel en la reducción de ácidos grasos en pollos de engorde.

En quinto lugar figura *Kangwon National University* de Corea que ha llevado a cabo estudios de probióticos combinados con bacteriófagos como factor promotor de crecimiento de pollos de engorde y ha enfocado su trabajo en *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en aditivos alimenticios con el fin de mejorar la digestibilidad de nutrientes (Gráfico 5).

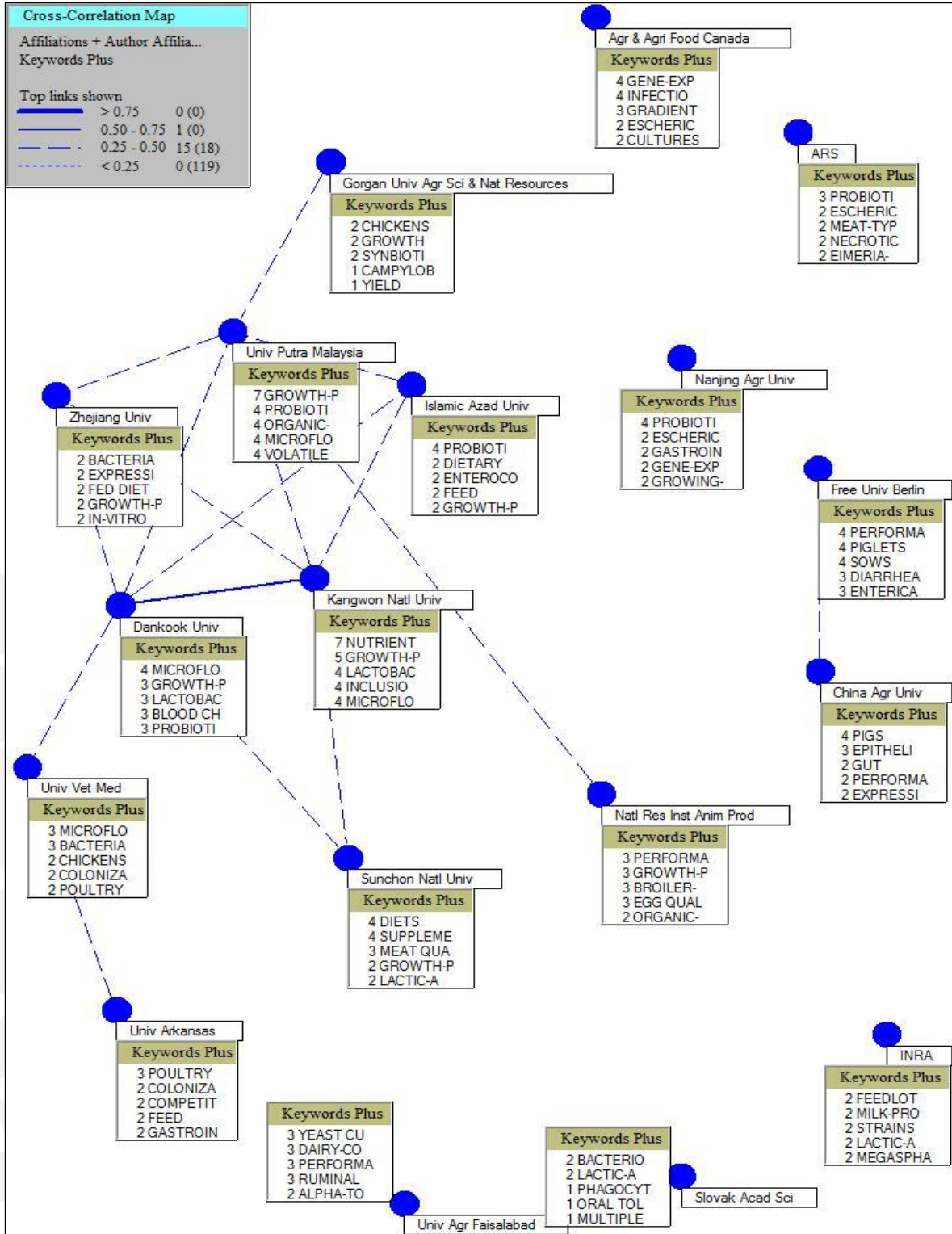
El análisis de redes por temáticas afines, permitió identificar una red compuesta por *Universiti Putra Malaysia*, *Islamic Azad University*, *Zhejiang University* y *Kangwon National University*, siendo el principal contenido de sus investigaciones, los temas de suplementación de aditivos alimenticios de *Bacillus subtilis* y su efecto en el crecimiento, la utilización de bacteriófagos y la eficacia de probióticos multimicrobiales comerciales en presentaciones líquidas y sólidas para reducir infecciones intestinales (Gráfico 6).

Gráfica 5. Instituciones líderes



Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science. Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

Gráfico 6. Redes de instituciones de investigación según temáticas afines

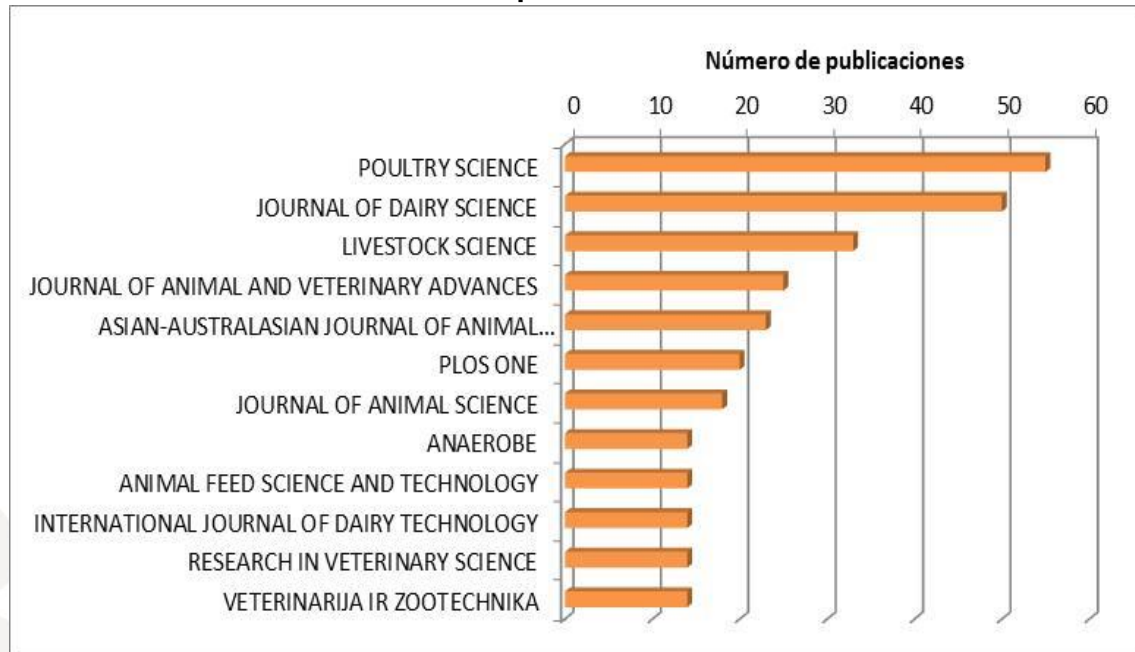


Fuente: Bases de datos SCOPUS®, Science Direct®, Cabdirect® y Web of Science. Procesamiento de datos con software Vantagepoint®. Fecha de consulta Diciembre de 2014

Journals destacados

Entre las fuentes de consulta más importantes en el tema de probióticos se encuentran *Poultry Science* con 55 artículos publicados, *Journal of Dairy Science* (50 publicaciones), *Livestock Science* (33 pub.), *Journal of Animal and Veterinary Advances* (25 pub) y *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* con 23 artículos (Gráfico 7).

Gráfico 7. Principales revistas científicas



Temáticas y tendencias de investigación

Como conclusión, se puede evidenciar en el anterior análisis temático de los distintos actores líderes en referencia a estudios de probióticos, la mayoría de microorganismos utilizados pertenecen a cepas de *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus acidophilus* y son administrados tanto en forma líquida o sólida en premezcla con vitaminas, minerales (zinc, selenio), proteínas y otros compuestos enzimáticos. En efecto, el análisis cuantitativo del corpus de registros descargado permite identificar que existen 577 publicaciones relacionadas con el género *Lactobacillus* y 170 específicos para *L. acidophilus* y para el género *Bacillus* se encontraron 221 registros de los cuales 150 son específicos para *B. subtilis*. También se encuentra un considerable número de registros relacionados con los géneros *Bifidobacterium* (163 publicaciones), *Enterococcus* (141 pub.) y *Saccharomyces cerevisiae* (115 pub.).

Otras especies relevantes en las publicaciones analizadas son *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus zeae*, *Rhodobacter capsulatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus crispatus*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Propionibacterium spp.*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus* y *Streptococcus gallolyticus*. Estos

microorganismos por lo general son utilizados para mejorar el crecimiento, ejercer actividad antimicrobiana contra infecciones intestinales, estimular la actividad antioxidante, fortalecimiento de huesos y sistema inmune, liberación de fósforo, fermentación en rumen, reducir la emisión de gases de excretas, reducir diarrea, incrementos microflora intestinal y mejorar la digestibilidad de nutrientes. La mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en pollos de engorde, gallinas ponedoras (582 publicaciones, 33% del total) y cerdos en levante (428 pub., 25%) y en una baja proporción en bovinos (206 pub., 12%) con el objetivo recurrente de disminuir infecciones causadas por *Escherichia coli* y *Salmonella*.

Como se puede apreciar existe un amplio rango de cepas utilizadas como agentes probióticos, y de las 14 especies de bacteria que se encuentran en estudio en Corpoica, las especies *Bacillus safensis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. mojavensis*, *B. solisalsi*, *Lysinibacillus xylanilyticus* y *Paenibacillus peoriae* no poseen un gran número de investigaciones registradas a nivel internacional, lo que provee un potencial de estudio que hasta ahora ha sido poco explotado.

ANÁLISIS DE PATENTES

Como insumo para este estudio se analizó un corpus de registros de 313 patentes consultadas en la bases de datos de la OMPI a través de su motor de búsqueda Patentscope®, para el periodo 2003-2014.

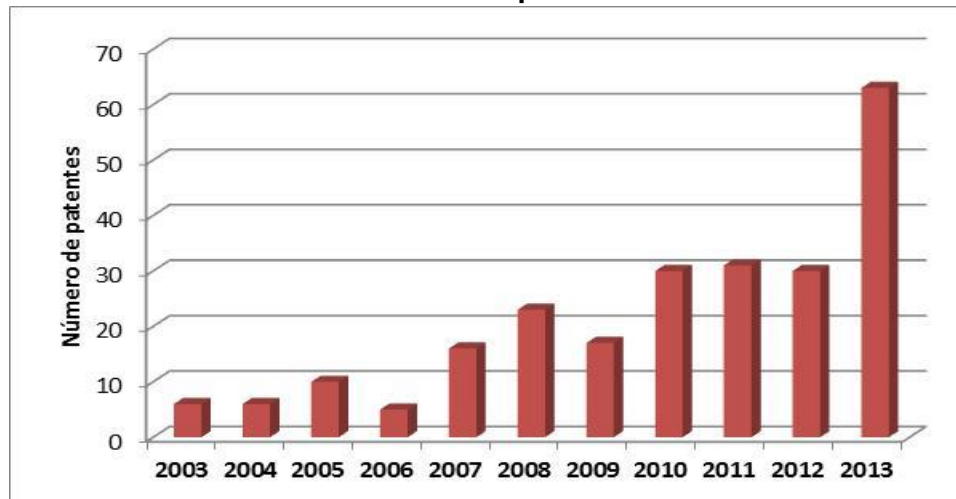
Las ecuaciones de búsqueda utilizadas fueron las siguientes:

```
EN_AB:((((bacillus and (pumilus or subtilis or amyloliquefaciens or megaterium or mojavensis or solisalsi or safensis or natto)) or "lysinibacillus xylanilyticus" or "Paenibacillus peoriae") and (dairy OR preweaning OR wean* OR calf OR calves OR bovine OR cattle OR pig* OR "sucking pig" OR poultry OR hen OR chicken OR lamb OR sheep OR goat* OR monogastric* or gastro* or intestin*) and (feed or food or diarrhea OR diarrhoea OR wast*)) AND NOT (cheese OR yogurt OR "dairy products" OR "milk products" OR yoghurt* OR whey OR "ice cream" OR "powdered milk" OR butter OR cream OR industr* OR human OR insecticid* or fertiliz* or fertilis* or compost))
```

```
EN_AB:((probiotic* and (dairy OR calf OR calves OR bovine OR cattle) and (feed or food or diarrhea OR diarrhoea OR wast*)) AND NOT (cheese OR yogurt OR "dairy products" OR "milk products" OR yoghurt* OR whey OR "ice cream" OR "powdered milk" OR butter OR cream OR industr* OR human OR insecticid* or fertiliz* or fertilis* or compost))
```

La dinámica de patentes para el periodo analizado muestra un marcado crecimiento en el número de patentes publicadas, pasando de 6 patentes en 2003 a 63 patentes en 2013, con un crecimiento anual promedio de 23% (Gráfico 8).

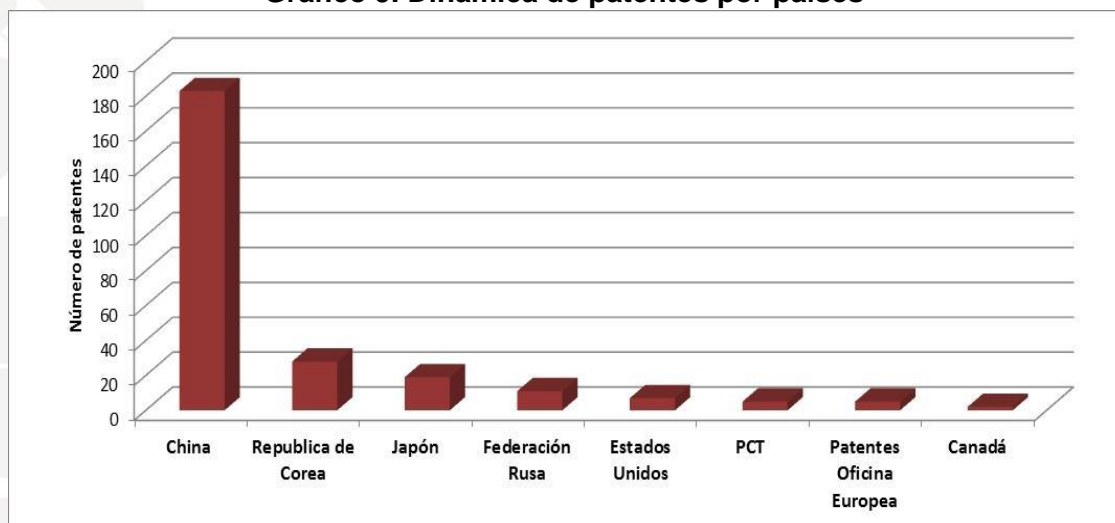
Gráfica 8. Dinámica de patentes 2003-2013



Fuente: WIPO, 2014

Como generalidades para este análisis, se puede indicar que China figura como primer país en materia de patentes relacionadas con probióticos respecto de animales monogástricos, concentrando el 70% del total de patentes publicadas en este tema. Como segundo país importante, se encuentra la República de Corea con el 11%, seguido de Japón con el 7%, Federación Rusa 4% y estados Unidos con el 3%. El 2% de las patentes publicadas pertenecen a solicitudes PCT o solicitudes internacionales que tienen protección en 148 países (Gráfico 9).

Gráfico 9. Dinámica de patentes por países



Fuente: WIPO, 2014

Respecto de las principales áreas temáticas de invención, las cuales se pueden determinar identificando códigos de la Clasificación Internacional de Patentes¹, se puede evidenciar que el 78% de las patentes publicadas (204 patentes) pertenecen al área de invención clasificada bajo el código A23K que comprende todo lo relacionado con alimentos para animales y métodos especialmente adaptados para su producción y más específicamente, alimentos suplementados con factores nutricionales adicionales.

El segundo campo de invención de importancia lo constituye el área de invención relacionada con microorganismo y enzimas (Código CIP C12N) especialmente bacterias y sus medios de cultivo, donde se agrupa el 27% (71 patentes) del total de registros publicados. Le sigue en orden de importancia las patentes clasificadas bajo el código CIP C12R que trata sobre desarrollos en la enzimología y bioquímica, principalmente relacionado con la especie *Bacillus subtilis*.

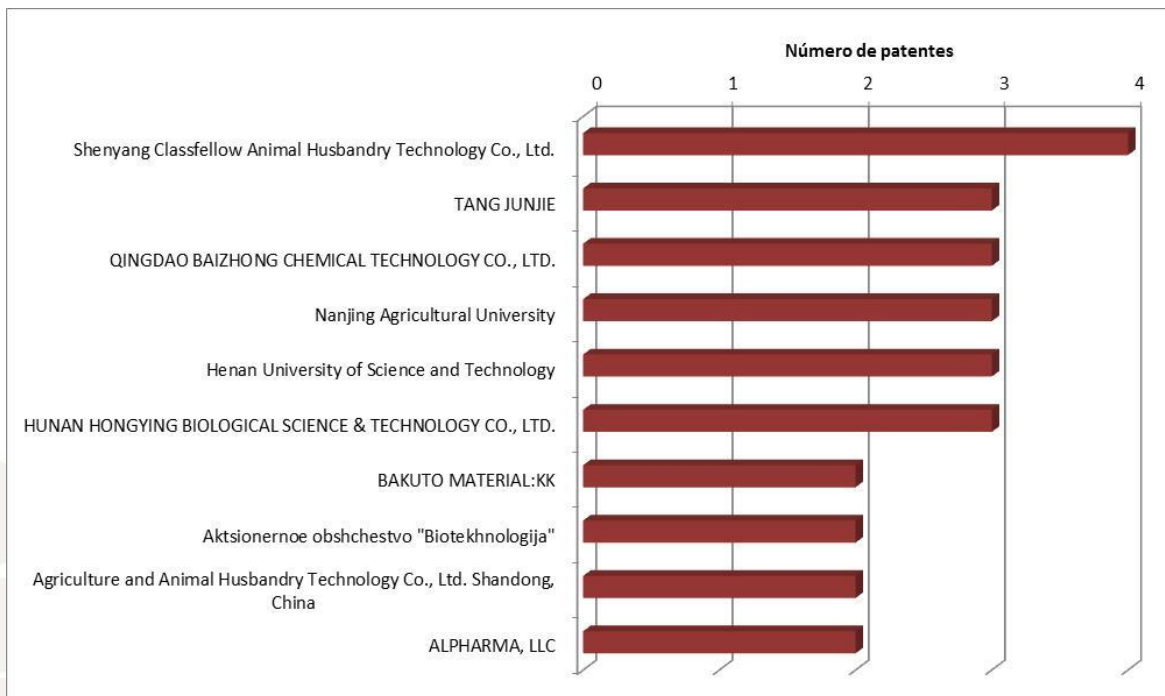
Otra área de invención importante pertenece al código A61K que agrupa invenciones relacionadas con ciencias médicas veterinarias con especial interés en sustancias provenientes de microorganismos con más detalle en bacterias. Por último, las invenciones clasificadas con el código A61P que concentra el 11%, tratan sobre preparaciones medicinales especialmente destinadas a producir aditivos microbiales para alimentos de animales.

Titulares de patentes

La mayoría de apoderados o titulares de patentes relacionadas con el tema de probióticos pertenecen a empresas chinas, entre las cuales figuran Shenyang Classfellow Animal Husbandry Technology Co., Ltd. que ha desarrollado complejos microbiales inoculantes como aditivos alimenticios para pollos. También son importantes las empresas Qingdao Baizhong Chemical Technology Co., Ltd. y Hunan Hongying Biological Science & Technology Co., Ltd. Con desarrollos en el campo de mejoramiento de flora intestinal en cerdos de cría. Como titular particular aparece Tang Junjie, que ha desarrollado alimentos para cerdos suplementados con aminoácidos esenciales. También figuran como titulares instituciones como Nanjing Agricultural University y Henan University of Science and Technology. Respecto a titulares de patentes relacionadas con probióticos en bovinos, se destacan Inner Mongolia Mengniu Dairy Industry (Group) Co., Ltd, Berol Nobel AB, University Of Vermont And State Agriculture College y Akzo Nobel NV (Gráfico 10).

¹ La Clasificación Internacional de Patentes (CIP) se utiliza para clasificar las patentes y los modelos de utilidad en función de los diferentes campos de la tecnología a los que se refieren. La Clasificación Internacional de Patentes (CIP) fue establecida por el [Arreglo de Estrasburgo](#) en 1971 y es revisada constantemente por el [Comité de Expertos de la CIP](#)

Gráfica 10. Apoderados importantes de patentes relacionadas con probióticos



Fuente: WIPO, 2014

Inventores

Al igual que en el caso de titulares de patentes, los principales inventores son de nacionalidad china figurando en primer lugar Dong Shanrui que trabaja para Chengdu Hexie Biotechnology Co., Ltd., que ha desarrollado aditivos alimenticios microbiológicos para cerdos y aves de corral con base en composiciones de *Bacillus subtilis* para la prevención de diarrea. Entre otros inventores cabe destacar a Zhang Ming de la empresa Qingdao Baizhong Chemical Technology Co., Ltd, que trabaja en composiciones probióticas para el mejoramiento de la flora intestinal especialmente en pollos; el estadounidense James Skinner que ha trabajado para Zoetis Products LLC y Alpharma LLC, ha desarrollado composiciones alimenticias incorporando *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*.

Temáticas de invención

Como se ha venido analizando en los apartes anteriores, debido a que China es uno de los principales países productores de carne de cerdo, la mayoría de los desarrollos e invenciones en el campo de probióticos están enfocados hacia ese sector de producción. En este sentido, es frecuente encontrar la utilización de *Bacillus subtilis* con el objetivo de

promover el desarrollo y el crecimiento en lechones a través de su adición en la dieta normal de comida o como simples aditivos. Al respecto, se presentan en muchas invenciones, el proceso de premezcla con leche artificial que contiene esta bacteria, además de otras como *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* o *Bacillus licheniformis*.

Para cría de pollos también se relacionan invenciones aditivos alimenticios que contienen *Bacillus cereus* como una alternativa a la reducción de coccidiosis en aves de corral. Varias de estas premezclas están combinadas con vitaminas y otras preparaciones enzimáticas. Otra de las aplicaciones de microorganismos a estos aditivos alimenticios es la reducción de amoníaco con el fin de desodorizar heces y orina de ganado bovino, aves de corral y cerdos, con la subsecuente supresión de la ocurrencia de diarrea.

Entre otras bacterias utilizadas como insumos de probióticos, se encuentran *Streptococcus vestibularis* aislado de intestinos de terneros, que han mostrado efectividad contra infecciones intestinales causadas por enterobacterias patógenas de los géneros *Escherichia*, *Proteus*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Patente N° ru02317328).

También se encuentran invenciones de utilización de otras especies de bacterias como *Rumenococcus albus* y *Lactobacillus plantarum* que sirven como tratamiento para endometritis y mastitis (Pat. N° ru02084233); De igual forma, las especies *Bifidobacterium pseudocatenulatum* en mezcla con *Lactobacillus acidophilus* o *Pediococcus pentosaceus*, en algunas invenciones reportan control sobre *Salmonella gallinarum*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, y *Clostridium perfringens*. (Pat. kr1020110065128). También son comunes la mezcla de probióticos con extractos de plantas medicinales como *Asparagus*, *Withania*, *Lepidium*, *Bacopa*, *Nardostachys*, *Vetiveria*, *Pueraria*, *Emblica*, *Tinospora*, entre otras especies vegetales (Pat. WO/2011/045801; CN101066094; US20120263697)