

# DESARROLLO DE UNA LECHE CAPRINA FERMENTADA PROBIÓTICA; SU EFECTO EN LA RECUPERACIÓN DE RATONES DESNUTRIDOS

Salva Susana<sup>1</sup>, Kairuz Martha<sup>1</sup>, Haro Cecilia<sup>2</sup>, Agüero Graciela<sup>2</sup>, Rabasa Alicia<sup>3</sup>, Alvarez Susana<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET). Chacabuco 145 (4000).

<sup>2</sup>Cát. de Bioqca. Clínica I. Inst. de Bioqca. Aplicada. UNT. Balcarce 747.

<sup>3</sup>Fac. de Agronomía y Zootecnia. UNT. Av. Roca 1900. S. M. de Tucumán. Tucumán.

[salvarez@cerela.org.ar](mailto:salvarez@cerela.org.ar)

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Producción caprina de leche](#)

## RESUMEN

En estudios previos, la adición de leche caprina (LC) a una dieta de renutrición, mostró claras ventajas en la recuperación de un modelo murino de desnutrición. Nichos caprinos del NOA contienen flora láctica con especies de interés tecnológico y probiótico. *Lactobacillus casei* CRL 1506, aislado de LC, estimula la respuesta inmune innata y adaptativa de manera dosis-dependiente. Objetivos: diseñar fermentos probióticos con bacterias lácticas aisladas de LC, para desarrollar una leche fermentada caprina probiótica (LFP) y estudiar su efecto sobre parámetros nutricionales y hematológicos alterados en un modelo murino de desnutrición. Mediante un diseño factorial aleatorizado se seleccionó como cultivo iniciador: *Streptococcus thermophilus* CRL 806 y 728 y como adjunto: *L. casei* CRL 1506 por sus propiedades inmunomoduladoras. Según la cinética de acidificación, análisis microbiológico, producción de diacetilo+acetoína y características reológicas de LFP, se definió una relación coco-bacilo 4:1, alcanzándose  $1,6 \cdot 10^6$  UFC/ml del probiótico (4h-42°C). Durante el almacenamiento, LFP mantuvo buen flavor y constantes: acidez, viabilidad probiótica y características reológicas. Para evaluar su efecto, ratones albino-suizos desnutridos al destete con una dieta hipoproteica (D) fueron renutridos durante 7 y 14d con: Dieta balanceada convencional (DBC); DBC más *L.casei* CRL 1506 ( $10^8$ UFC/ratón/d) (DBC+Lc); o DBC+LFP. Al final de cada tratamiento se determinó: Peso corporal (PC) y tímico (PT); Proteínas séricas; Hemograma; Medulograma; Actividad protrombínica; Tiempo tromboplastina parcial activado y Fibrinógeno (mg/dl). Todas las dietas incrementaron significativamente el PC de los D. Proteínas séricas y PT se recuperaron en 7d sólo con DBC+LF. El n° de leucocitos/L aumentó significativamente ( $p<0.05$ ) en DBC+LFP (Normal:  $6,90 \pm 0,15$ ; D:  $2,95 \pm 0,18$ ; DBC7d:  $2,98 \pm 0,08$ ; DBC+Lc7d:  $3,35 \pm 0,08$ ; DBC+LFP7d:  $5,78 \pm 0,11$ ).

El medulograma mostró un pico en el % de mielocitos en todos los grupos tratados (N:  $4,6 \pm 0,8$ ; D:  $2,7 \pm 1,6$ ; DB7d:  $23,5 \pm 3,4$ ; DB+Lc7d:  $28,8 \pm 3,2$ ; DB+LFP7d:  $25,5 \pm 4,1$ ). Los parámetros hemostáticos se normalizaron en 7d sólo con DBC+Lc y DB+LFP. Se desarrolló una LFP capaz de acelerar la recuperación de parámetros nutricionales y hematológicos alterados por la desnutrición.

## INTRODUCCIÓN

En la industria lechera, se introducen cada año nuevos productos lácteos fermentados, que son requeridos por sus beneficios preventivos y terapéuticos como “alimentos funcionales”. Dentro de los cuales, los probióticos ocupan un lugar relevante en el mercado de alimentos por sus efectos benéficos, como inmunomodulación, acción hipocolesterolémica, protección frente a infecciones, capacidad de renutrición y normalización de la respuesta inmune (Perdigón, 1995; Taranto, 2003; Alvarez, 2001; Villena, 2005). El uso de leche de pequeños rumiantes representa una innovación en la manufactura de productos lácteos. La leche de cabra (LC) tiene características que le otorgan ventajas con respecto a la de vaca como ser: baja capacidad bufferante, mejor digestibilidad, mayor eficiencia energética, y mayor contenido de selenio, con propiedades antioxidantes (Stark, 1988, Tantibhedhyangkul, 1978; Coveney, 1985).

La malnutrición proteica es la causa más común de inmunodeficiencia secundaria en el mundo. Ésta conduce a un estado de inmunosupresión, observándose alteraciones en el timo y médula ósea. Demostramos que la adición de LC a una dieta de renutrición, tiene claras ventajas con respecto a la de vaca, en la recuperación de los parámetros bioquímicos e inmunológicos alterados en un modelo murino de desnutrición. Esta ventaja se refleja en un rápido aumento del peso corporal, incremento de proteínas séricas totales y transferrina, corrección parcial de cantidad y estado madurativo de leucocitos de sangre periférica y un mayor efecto protector contra infecciones intestinales (Agüero, 2004). Además se sabe que, el sistema inmune (SI) participa en la defensa del huésped en íntima relación con el de la coagulación, a través de un controlado circuito de señales (Opal, 2003) mediadas por citoquinas. Teniendo en cuenta que algunas bacterias lácticas y productos lácteos fermentados son capaces de influenciar la producción y balance de citoquinas (Racedo, 2006), sería posible que un alimento funcional con

bacterias lácticas que afecte positivamente al SI, inflencie también sobre el sistema hematopoyético y hemostático.

Los nichos caprinos del NOA contienen flora láctica con especies de interés probiótico y tecnológico adaptadas a dicha materia prima. Demostramos que *Lactobacillus casei* CRL 1506, aislado de LC, es capaz de estimular la respuesta inmune innata y adaptativa en forma dosis-dependiente. Así, las ventajas nutricionales de la LC, unida a las propiedades probióticas de *L. casei* CRL 1506 constituyen un importante recurso, dirigido a la prevención y/o recuperación de la desnutrición.

De acuerdo a estos antecedentes, el objetivo fue diseñar fermentos probióticos con bacterias lácticas aisladas de LC, para desarrollar una leche fermentada caprina probiótica (LFP) y estudiar su efecto sobre parámetros nutricionales y hematológicos alterados en un modelo murino de desnutrición.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Desarrollo de LFP.** La LC cruda provista por INTA-Leales fue analizada en su composición de proteínas y grasas (EKOMILK), y sometida a pasteurización alta (15min-85°C). Se empleó como cultivo iniciador: *Streptococcus thermophilus* CRL 806 y CRL 728, y como adjunto: *L. casei* CRL 1506, cuya capacidad de estimular el SI se determinó en una etapa previa a este estudio.

Se seleccionó la combinación de fermentos utilizando un diseño factorial aleatorizado. La fermentación se realizó a 37 y 42°C durante 4h, determinándose la cinética de acidificación (pH, acidez Dornic) y tiempo de coagulación. Durante el almacenamiento (4°C, 10 días) se evaluó: Cinética de acidificación; Análisis microbiológico; Producción de diacetilo+acetoína; Características reológicas de LFP.

**Efecto de LFP en desnutrición.** Se utilizaron ratones albino-suizos desnutridos (D) al destete con una dieta hipoproteica y renutridos durante 7 y 14 días con: Dieta balanceada convencional (DBC), DBC + *L. casei* CRL 1506 ( $10^8$  células/ratón/día) (DBC+Lc) y DBC+LFP. El grupo control normal (CN) recibió la DBC *ad libitum*. Al final de cada tratamiento, se determinaron: Parámetros nutricionales: Peso corporal, Peso del timo, Proteínas séricas totales y albúmina; Parámetros hematológicos: Hemograma, Estudio citomorfológico de médula ósea, Parámetros hemostáticos: Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (APTT), Tiempo de Protrombina (TP), Dosis de fibrinógeno(mg/dl).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Desarrollo de LFP.

Composición de la LC: pH=6,78 ± 0,02; Proteínas=3,64 ± 0,14 g%; Grasas=4,24 ± 0,76 g%.

Cinética de Acidificación. *L. casei* CRL 1506 como cultivo adjunto permitió acelerar la fermentación. Se definió una relación coco-bacilo 4:1. La combinación *S. thermophilus* CRL 806 0,90% + *S. thermophilus* CRL 728 0,10%, logró la estabilidad del pH y °D durante el almacenamiento a 4°C.

Análisis Microbiológico. El recuento total de bacterias se mantuvo constante en los productos realizados a 42°C. La combinación *S. thermophilus* CRL 806 0,90% + CRL 728 0,10%+ *L. casei* CRL 1506 0,25%, permitió alcanzar 6,8 y 6,2 log UFC/ml del probiótico con 4 h de fermentación a 37°C y 42°C respectivamente. Además fue la única que mantuvo su viabilidad durante el almacenamiento.

Producción de diacetilo-acetoína fue positiva para todos los fermentos empleados.

Características reológicas de LFP (desuerados y consistencia) no fueron alteradas por la adición del cultivo probiótico del producto realizado a 42°C.

Se obtuvo una LFP utilizando como fermento: *S. thermophilus* CRL 806 0,90% + *S. thermophilus* CRL 728 0,10%+ *L. casei* CRL 1506 0,25%. El proceso se realizó a 42°C-4 hs, obteniendo un producto de buen flavor, consistencia y acidez adecuadas, y ausencia de desuerado y viabilidad del cultivo probiótico constante durante el almacenamiento.

Eficiencia de LFP en desnutrición.

Peso corporal y de timo. Todas las dietas ensayadas permitieron la recuperación del peso corporal de D, sin diferencia significativa con o sin el agregado de *L. casei* o LFP. La atrofia del timo observada en D fue revertida por todas las dietas ensayadas. LFP permitió a los 14d un aumento significativo de este parámetro, con respecto a las otras dietas empleadas (p<0,05) (Tabla1). (CN: 44,2±0,5 mg).

Tabla 1. Peso Corporal y Peso de Timo

Grupos experimentales	BCD		BCD + Lc		BCD + LFP	
	7d	14d	7d	14d	7d	14d
Incremento de Peso Corporal %	95,2±10,8	230,5±12,5	109,5±14,6	252,0±27,4	120,5±12,2	236,8±15,4
Peso de timo mg	57,9±12	75,8±11,5	69,3±10,8	83,1±10,3	65,1±14,3	114,1±10,1

**Proteínas séricas.** La desnutrición indujo un descenso significativo de la concentración de proteínas totales y de albúmina. DBC+Lc y DBC+LFP corrigieron los niveles de estas proteínas a los 7d de renutrición, mientras que DBC requirió 14d para su normalización (Tabla 2).

Tabla 2. Proteínas séricas								
Grupos experimentales	CN	D	BCD		BCD + Lc		BCD + LFP	
			7d	14d	7d	14d	7d	14d
Totales g/dl	5,40±0,35	2,90±0,36	4,00±0,14	6,10±0,14	5,10±0,35	5,30±0,35	5,05±0,21	4,77±0,23
Albúmina g/dl	2,67±0,06	2,08±0,13	2,13±0,01	2,45±0,01	2,48±0,05	2,98±0,04	2,46±0,07	3,25±0,12

**Parámetros hematimétricos.** Los D presentaron un marcado descenso ( $p<0,05$ ) del nº de leucocitos ( $N=6,9±0,3;D=2,9±0,5$ ) y valores de hemoglobina ( $N=13,2±1,2;D=9,9±1,8$ ). La renutrición con DBC+Lc y DBC+LFP normalizó los recuentos de leucocitos totales (7dDBC+Lc=5,9±0,5;7d DBC+LFP=6,9±0,5), de neutrófilos y de linfocitos a los 7d (Fig 1), sin diferencias significativas entre ambas dietas. La administración de DBC sola, no logró normalizar este parámetro durante todo el periodo estudiado. Todas las dietas permitieron la recuperación de los valores de hemoglobina, siendo más temprano el efecto de la suplementación con *L. casei* o LFP.

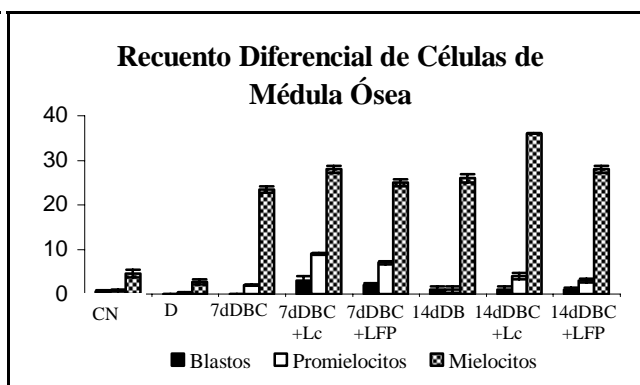
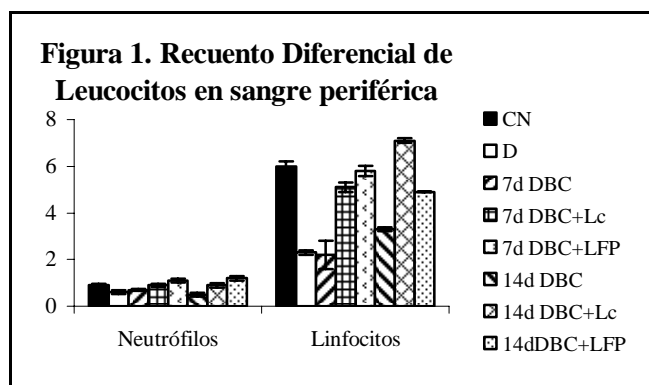
**Recuento diferencial de células de médula ósea.** Se observó un incremento significativo del % de mielocitos en todos los grupos renutridos, superando los valores normales. La administración de DBC+Lc y DBC+LFP indujo un incremento relativo de promielocitos y blastos a los 7d de tratamiento (Fig 2). Todas las dietas normalizaron a los 14d el nº de eritroblastos, disminuido por la desnutrición.

**Parámetros hemostáticos.** La deficiencia de proteínas produjo un descenso del % de actividad protrombínica, que se normalizó a los 7d con BDC+Lc o BDC+LFP. Probablemente, las bacterias lácticas mejorarían la absorción y producción de vitamina K, favoreciendo la  $\gamma$ -carboxilación de los factores de la coagulación involucrados en la vía extrínseca de la coagulación, evaluada en esta determinación. Los D presentaron valores prolongados de APTT, los cuales se normalizaron con todas las dietas de renutrición. La disminución de la concentración de fibrinógeno inducida por la desnutrición ( $p<0,05$ ), fue revertida a los 7d con DBC+Lc y DBC+LFP (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros Hemostáticos								
Grupos experimentales	CN	D	BCD		BCD + Lc		BCD + LFP	
			7d	14d	7d	14d	7d	14d
TP %	97,1±4,8	15,7±2,7	60,0±0	78,6±3,6	95,0±5,8	65,7±3,7	90,0±0	85,0±7,1
APTT seg	33,3±1,6	49,5±3,4	26,6±1,1	25,4±2,9	22,5±1,7	26,7±3,1	25,2±0,3	28,0±1,4
Fgno mg/dl	277,6±29,2	176,6±5,8	214,0±24,5	291,1±18,4	340,5±24,8	313,6±23,0	266,5±14,8	272,5±23,3

Por lo tanto se ha desarrollado una leche fermentada probiótica utilizando LC como materia prima, la cual, administrada como suplemento de una dieta de renutrición, redujo el tiempo de necesario para la recuperación de los parámetros nutricionales y hematológicos alterados por la desnutrición. Además la suplementación con LFP fue la más eficiente de las dietas ensayadas, en la recuperación del peso del timo, lo que tendría importancia en la inmunidad celular afectada por la desnutrición.

La importancia de este trabajo radica en que, un producto de estas características permitiría una mayor eficiencia en la recuperación de parámetros nutricionales y hematológicos, y en la modulación de los mecanismos implicados en enfermedades que involucran la interrelación inflamación-hemostasia.



## BIBLIOGRAFÍA

- Perdigón G, Agüero G, Alvarez S, Allori CG, Pesce de Ruiz Holgado A. 1995. Effect of viable *Lactobacillus casei* feeding on the immunity of the mucosae and intestinal microflora in mal-nourished mice. *Milchwis.* 50 (3):251-6.
- Taranto MP, Vera JL, Hugenholtz J, Valdez GF, Sesma S. 2003. *Lactobacillus reuteri* CRL 1098 produces cobalmin. *J Bacterial.* 185 (18):5643-7.
- Alvarez S, Herrero C, Bru E, Perdigón G. 2001. Effect of *Lactobacillus casei* and yogurt administration on prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infection in young mice. *J Food Prot.* 64: 1768-74.
- Villena J, Racedo S, Agüero G, Alvarez S. 2005. Yogurt accelerates the recovery of defence mechanisms against *Streptococcus pneumoniae* in protein malnourished mice. *Br J Nutr.* 95(3):591-602.
- Stark BA. 1988. Improving the quality of goat milk. *Dairy Industries Intl.* 53(2):23-25
- Tantibhedhyangkul P, Hashim SA. 1978. Medium-chain triglyceride feeding in premature infants: Effect on calcium and magnesium absorption. *Pediatrics* 61: 537-45.
- Coveney J, Darnton-Hill I. 1985. Goat's milk and infants feeding. *Med. J. Aust.* 143: 508-11
- Agüero G, Lazarte S, Salva S, Villena J, González S y Alvarez S. (2004). Biological effects of goat milk administration in a malnutrition model. *Milchwis.* 5/6: 266-70.
- Opal SM. 2003. Interaction between coagulation and inflammation. *Scand J Infect Dis.* 35(9): 545-54.
- Racedo S, Villena J, Medina M, Agüero G, Rodriguez V, Alvarez S. 2006. *Lactobacillus casei* administration reduces lung injuries in a *Streptococcus pneumoniae* infection in mice. *Microbes Infect.* 8(9-10):2359-66.

[Volver a: Producción caprina de leche](#)