

INFLUENCIA DE LA FLORA INTESTINAL EN LA NUTRICION ANIMAL (*)

Werner G. Jaffé

Instituto Nacional de Nutrición

El interés por la influencia de la flora intestinal sobre el animal huésped data de los tiempos de Pasteur; él ya expresó la creencia de que los micro-organismos que habitan en el tracto gastro-intestinal tienen una gran importancia para el animal que los alberga (1). Desde entonces, el problema ha ocupado a numerosos autores y se han descrito gran número de fenómenos y observaciones que apoyan la tesis de Pasteur. Hasta en la nutrición humana no se puede negar la importancia de esta tesis. Sin embargo, muchas de estas observaciones son contradictorias o se prestan a interpretaciones diferentes. Por lo tanto, no se trata de un campo científico en el cual ya se haya llegado a conclusiones definitivas, sino, al contrario, donde se van a necesitar los esfuerzos de muchos investigadores para aclarar múltiples problemas no resueltos aún. Pero el material acumulado es ya tan vasto, que vale la pena dar una revista breve para poder contemplar el camino ya franqueado y el que queda por delante.

La capacidad de realizar reacciones bioquímicas específicas se encuentra más desarrollada en muchos micro-organismos que en los animales superiores. La fijación del nitrógeno elemental, por ejemplo, es verificada únicamente por algunas bacterias y quizás hongos, mientras que tanto plantas superiores como animales dependen de alguna fuente de nitrógeno en forma combinada para su vida. Otro ejemplo se refiere a la destrucción de la celulosa. Con pocas excepciones, los animales no producen fermentos para hidrolizar y metabolizar el compuesto orgánico más

(*) Recibido el 20 de diciembre de 1951.

abundante, que es la celulosa. Sin embargo, se conoce un considerable número de micro-organismos que pueden transformar la celulosa en compuestos orgánicos más simples derivando de ella la energía necesaria para sus procesos vitales. Otro ejemplo para la capacidad química microbiana, de interés en relación con este mismo tema, es su facultad de sintetizar un gran número de compuestos, algunos de considerable importancia para la alimentación animal y humana, como, por ejemplo, amino-ácidos y vitaminas.

Estos últimos forman parte o intervienen en muchos sistemas enzimáticos necesarios para el metabolismo tanto de bacterias como de animales. Muchas bacterias pueden formarlas y, por lo tanto, crecer y desarrollarse sin necesidad de una fuente externa de todos estos compuestos. Los animales, por lo general, dependen de la alimentación para obtener las vitaminas esenciales. Seguidamente trataremos de demostrar cómo los animales muchas veces aprovechan esta mayor capacidad química de las bacterias para sus procesos vitales. Son tantos los ejemplos que se podrían citar que no podemos sino mencionar algunos pocos.

Las bacterias fijadoras del nitrógeno se han estudiado intensamente en los suelos y en los nódulos de las plantas leguminosas por la enorme importancia que tienen en agricultura como fuente de compuestos nitrogenados; aprovechables por las plantas. Existen también casos de animales que aprovechan directamente esta capacidad microbiana para abastecerse de compuestos nitrogenados y así independizarse de fuentes externas alimenticias. Se conocen ejemplos del reino de los insectos, donde ciertas especies albergan bacterias fijadoras del nitrógeno en su tracto intestinal, y así pueden vivir de materias muy pobres en compuestos nitrogenados, como, por ejemplo, madera (2).

Micro-organismos capaces de transformar la celulosa en compuestos asimilables por los animales se encuentran en una gran variedad de animales, tales como insectos y rumiantes. El ganado vacuno ingiere con el pasto un porcentaje muy elevado de "fibra cruda" o celulosa y lignina. Sin embargo, no se encuentra ningún fermento capaz de hidrolizar la celulosa en las secreciones gástricas o intestinales de las vacas. Son las bacterias de la panza las que atacan la celulosa, transformándola principalmente en ácidos orgánicos que, a su vez, son aprovechados por el organismo animal para sus necesidades energéticas. Se puede

demostrar esta lisis de celulosa por el contenido estomacal de vacas, colocando una porción del último sobre una capa de papel filtro e incubándolo por algunas horas o días. Se observará que el papel es atacado y se disuelve, fenómeno que se debe a la acción microbiana (3). Otros animales que no albergan el mismo tipo de gérmenes en su tracto gastro-intestinal no aprovechan la celulosa y la eliminan con las heces.

La capacidad microbiana para la síntesis de vitaminas tiene probablemente una enorme importancia fisiológica también para el hombre. El estudio de este problema es difícil por la gran complejidad de la flora intestinal y la dificultad de determinar factores como la interacción de las diversas bacterias, la absorción de los factores sintetizados en los intestinos, la actividad bacteriana bajo las condiciones normales, etc. Por lo tanto, se debe recurrir a métodos indirectos para la demostración de la síntesis intestinal vitamínica y de su importancia fisiológica (4).

Los estudios sobre este problema se han realizado principalmente con ratas, por tratarse de un animal de laboratorio de fácil manejo y de características alimenticias parecidas al hombre. Sin embargo, siempre existen dificultades al tratar de sacar conclusiones válidas para la alimentación humana de resultados experimentales obtenidos con ratas.

Osborne y Mendel (5), los pioneros de la nutrología, observaron que ratas mantenidas con dietas purificadas y deficientes en ciertos factores tienden a consumir sus propias heces y que la inclusión de heces de animales normales influye favorablemente en el desarrollo de los animales deficientes. Bottomley (6), en sus trabajos sobre fisiología vegetal, observó que ciertas bacterias estimulan el desarrollo de arvejas germinadas y que el factor responsable purificado también estimula el crecimiento de plantas; probablemente es el primer trabajo que comprobó la síntesis bacteriana de una vitamina. También se encontró, ya al principio de este siglo, por Theiler (7), que dietas deficientes en vitaminas no producen trastornos en vacas y se concluyó que existe una síntesis intestinal de los factores de crecimiento en estos animales que satisface sus necesidades. Hoy se sabe que, efectivamente, la flora intestinal muy desarrollada de los rumiantes independiza a este grupo de animales de la necesidad de ingerir las vitaminas del grupo B con los alimentos.

Los estudios en ratas demostraron más y más la importancia de la coprofagia en ensayos con dietas deficientes. Si no se toman precauciones especiales, las ratas deficientes en ciertas vitaminas consumen sus heces, y así escapan de las consecuencias de la deficiencia. Por esta razón se usan exclusivamente jaulas con fondos de tela metálica gruesa, en esta clase de estudios, aunque no evitan completamente la coprofagia. Aparentemente, las vitaminas producidas por la flora intestinal y que es más abundante en el ciego y colon no se absorben en todos los casos en cantidad suficiente para proteger a los animales que reciben ciertas dietas deficientes; pero las vitaminas respectivas existen en las heces y se absorben al ser consumidas estas últimas. La prueba concluyente de esta síntesis se obtuvo por la determinación cuantitativa de ciertas vitaminas como la B₁ y riboflavina en los alimentos ingeridos y en las excretas (8). Se puede observar que, frecuentemente, en las últimas hay más factores que en los alimentos. Esto no puede significar sino que se han sintetizado en el mismo cuerpo o en los intestinos por acción bacteriana. Como hay bastantes indicios de que ni la vitamina B₁ ni la riboflavina se sintetizan en la rata, el excedente debe provenir de la síntesis microbiana intestinal.

Con la introducción de las sulfadrogas que no se absorben y quedan concentradas en los intestinos, y más tarde de antibióticos de acción intestinal, comenzó una nueva fase de las investigaciones sobre la síntesis intestinal de vitaminas. Mediante el uso de dietas purificadas y adicionadas con sulfaguanidina y otras, se podían producir deficiencias en ratas que no se observan sin el uso de un agente antibiótico (9). Así se demostraron las funciones fisiológicas de la biotina y del ácido fólico en ratas. No se observan deficiencias de estos factores en ratas que reciben dietas purificadas, a no ser que se agregue una sustancia antibacteriana (sulfadrogas). Probablemente, la síntesis intestinal es muy efectiva y se absorben en cantidad suficiente del colon, de modo que no existe una necesidad dietética para estos factores. En otros casos, como el de la piridoxina y ácido fólico, también se puede demostrar la síntesis.

También se ha logrado criar ratas y pollos totalmente libres de gérmenes. Los primeros ensayos se verificaron ya a principios del siglo y últimamente se han obtenido algunos éxitos en este sentido (10). Huelga decir que estos animales son sumamente

útiles para el estudio de la importancia de la flora intestinal sobre la alimentación animal.

No cabe duda de que también en el hombre la síntesis intestinal de ciertas vitaminas tiene una considerable importancia fisiológica. Esto se comprobó por la vitamina B₁, por Najjar y Holt, mediante el balance de la cantidad de tiamina ingerida y excretada por sujetos humanos (11), y por la baja de la excreción de la vitamina de las heces al aplicar sulfasuxidina.

Mediante procedimientos similares se comprobó también la síntesis microbiana intestinal en el hombre de las vitaminas riboflavina (12), biotina (13) y niacina (14). Existen pruebas evidentes que demuestran la síntesis intestinal en humanos también para el ácido fólico, vitamina B₁₂ y otros.

Especial interés tiene la vitamina B₁₂ respecto a la síntesis microbiana. Esta vitamina, aislada hace cinco años, se encuentra en muchos productos animales, pero únicamente en cantidades mínimas en los productos vegetales (15). Las mejores fuentes son medios de cultivos sobre los cuales se cultivaron diferentes micro-organismos, como, por ejemplo, el *streptomyces griseus* o *aureofaciens*, productores de la estreptomycin y aureomicina, respectivamente. También se encuentra en cantidades apreciables en heces de rumiantes y en suelos ricos en micro-organismos.

Es interesante que existe en mayor concentración en las raíces de plantas, en menor en los tallos y en cantidad mínima en las hojas (16). Probablemente es absorbida del suelo por las raíces y no sintetizada por las plantas mismas. Es muy probable que tampoco los animales la sintetizan. La carne de res es especialmente rica en esta vitamina, mucho más que la de cochino, aunque los vacunos se alimentan exclusivamente con productos vegetales que no la contienen. Hoy se explica este hecho con la tesis de que la flora activa de los rumiantes sintetizan esta vitamina. Se han observado ya hace algunos años deficiencias en ganado vacuno y lanar cuidados en terrenos pobres en cobalto, frecuentes en Australia, y se observó que esta deficiencia se puede curar por la aplicación de cobalto por la vía oral (17), aunque las inyecciones de sales de este metal tenían escaso efecto. Ultimamente se encontró que el cobalto forma parte de la molécula de la vitamina B₁₂ y que estimula la síntesis microbiana de este factor (18). Una prueba muy concluyente de que el co-

balto administrado es incorporado en el tracto intestinal en la molécula de la vitamina B₁₂ se logró mediante el uso de cobalto radioactivo (19). Animales que ingieren este compuesto excretan vitamina B₁₂ radioactiva, tanto con la orina como también en las heces. El hecho de que la vitamina B₁₂ no es sintetizada aparentemente ni por plantas ni por animales superiores, sino únicamente por micro-organismos, la coloca en un lugar muy particular. Se puede comparar su síntesis en la naturaleza con la fijación del nitrógeno, reacción química restringida a un grupo de micro-organismos y los cuales proveen a todos los demás organismos con compuestos nitrogenados tan esenciales para la vida (15). Algo similar parece que ocurre con la vitamina B₁₂ si es realmente formada únicamente por ciertos organismos microbianos, aunque en este caso su importancia se ha comprobado únicamente para animales y no para las plantas.

En estudios propios hemos logrado demostrar que el cobalto también tiene un efecto estimulante sobre ratones y ratas mantenidas por varias generaciones con dietas pobres en vitamina B₁₂. En estos animales se observa una mayor mortalidad de las crías y un crecimiento retardado. Al adicionar las dietas con una cantidad mínima de cloruro de cobalto, tanto la sobrevivencia como el crecimiento de las crías mejoran. La explicación más probable para este fenómeno es que la síntesis intestinal de la vitamina B₁₂ haya sido aumentada (20).

Los estudios experimentales sobre la vitamina B₁₂ han dado por resultado no únicamente esclarecer muchos aspectos de su metabolismo e importancia fisiológica, sino también encontrar otro factor de crecimiento nuevo: una fuente rica y barata de esta vitamina son los residuos de la fabricación de la aureomicina o estreptomycinina. Jukes y Stockstad (21) observaron que estos residuos tienen un efecto estimulante sobre el crecimiento de animales experimentales superior al estímulo mismo de la vitamina B₁₂ que contienen y concluyeron que debe existir en estos residuos otro factor de crecimiento. Más tarde demostraron que son los mismos antibióticos que en estos casos tienen un efecto completamente contrario al descrito por las sulfadrogas, es decir, que estimulan el crecimiento de animales deficientes en vitamina B₁₂, mientras que, en los ensayos mencionados anteriormente, había una inhibición del crecimiento por las sulfadrogas incorporadas en dietas purificadas y ensayadas en animales experimentales. Esta contradicción aparente es to-

davía mayor desde que se demostró que también las sulfas y otras drogas bactericidas, como los arsenicales, pueden estimular el crecimiento de animales deficientes (23), y también que este efecto no está restringido a experimentos con dietas pobres en vitamina B₁₂, sino que tales efectos pueden comprobarse también con ácido fólico, ácido pantoténico, niacina, etc. (24). Todavía no es posible dar una explicación satisfactoria para estos efectos tan contrarios que se pueden obtener con las mismas drogas. Pero no cabe duda de que se trata de una influencia sobre la flora intestinal, modificándola en el sentido de una mayor o menor síntesis vitamínica o suprimiendo gérmenes dañinos. Por lo tanto, el efecto depende de la flora existente en el tracto gastro-intestinal de los animales experimentales antes de iniciar el ensayo y, naturalmente, de la composición de la dieta, además de otros factores. Por lo tanto, no es sorprendente que los resultados pueden variar en distintos laboratorios donde la flora intestinal de los animales no es idéntica. Así, el efecto estimulante sobre el crecimiento de la aureomicina no se puede comprobar siempre (25), aun en condiciones experimentales aparentemente parecidas a las de los investigadores que lo observaron.

Existen muchos factores que influyen en la síntesis intestinal microbiana de vitaminas. Un cambio en la composición de la dieta puede modificar marcadamente la composición de la flora intestinal (26) y existen varios ejemplos en que se puede comprobar un aumento o una reducción en la síntesis de vitaminas por esta flora por el cambio de, por ejemplo, el tipo de carbohidrato usado. En varias ocasiones se observó que la dextrina favorece tal síntesis mientras que la lactosa y también el almidón pueden tener un efecto contrario. Indudablemente, en muchos casos de resultados contradictorios obtenidos en diferentes laboratorios, la explicación está en que se usaron dietas no idénticas y que pequeñas diferencias en su composición pueden causar variaciones grandes en los resultados.

Otro factor que influye en la síntesis intestinal de vitaminas son las mismas u otras vitaminas que estimulan el desarrollo de microbios. Así, por ejemplo, Wooley ha demostrado que ratones deficientes en inositol se pueden curar agregando ácido pantoténico a la dieta, sin la necesidad de agregar inositol (27). Esto se explicó por un estímulo en la síntesis intestinal del inositol causado por el ácido pantoténico. Otro ejemplo de esta in-

teracción complicada es el experimento con ratas que se desarrollaron bien con una dieta que no contenía ni ácido para-amino-benzoico ni inositol. Al agregarse uno de estos factores se observaron signos de la deficiencia del otro. La explicación que se dió a esta observación era la de que cada uno de los factores modifica la síntesis intestinal bajo condiciones experimentales (28). Es evidente que estas complicadas interacciones pueden ocultar y modificar muchos resultados experimentales y a veces dificultan o imposibilitan una interpretación correcta.

Desde el punto de vista práctico, la importancia de la acción microbiana intestinal está fuera de dudas en el caso de rumiantes, ciertos insectos, etc., pero es difícil de estimar en humanos. No cabe duda de que existe, y puede ser tan efectiva que no se producen signos evidentes de deficiencia en individuos que consumen raciones deficientes en ciertas vitaminas esenciales por un prolongado período. Es bien sabido que existen grandes sectores de la población de muchos países que viven con una alimentación poco variada y poco equilibrada. Aunque las manifestaciones de deficiencias en estos casos no son nada raras, sorprende a veces que muchos de estos individuos pueden subsistir con dietas tan pobres sin mayores trastornos. Una de las posibles explicaciones en estos casos es la de que el poder sintético de la flora intestinal protege contra deficiencias alimenticias más severas.

La acción de los agentes antibióticos sobre la flora intestinal y su influencia sobre la acción sintética de vitaminas de ésta, crea un problema para el médico que usa tales medicamentos. Hay que considerar la posibilidad de una modificación involuntaria de la actividad microbiana al aplicar agentes bacteriostáticos y bactericidas. Esta acción puede manifestarse también en casos de aplicación parenteral, como se ha comprobado para la aureomicina, que es capaz de modificar la flora intestinal después de haber sido aplicada por la vía endovenosa (29). Frecuentemente se recetan preparaciones del complejo vitamínico B, junto con antibióticos de acción intestinal, para contrarrestar cualquier posible reducción en el aporte vitamínico. En un trabajo reciente (30) pudimos demostrar que la acción secundaria de la aureomicina puede ser de un carácter grave. Observamos que la mayoría de las ratas que habían recibido una dieta deficiente en vitamina B₁₂ y suplementada con aureomicina, se

morían al eliminar el antibiótico de la dieta. Esta observación interpretamos en el sentido de que el antibiótico interfirió el equilibrio entre los distintos componentes de la flora intestinal, y al suprimirlo se producían trastornos graves que causaron la muerte en gran parte de los animales, debilitados por la deficiencia en vitamina B₁₂. No parece imposible que fenómenos similares puedan presentarse en humanos bajo condiciones excepcionalmente desfavorables.

En esta corta revista no podíamos más que esbozar el problema para demostrar su complejidad y el gran volumen de trabajo que habrá que realizar hasta esclarecer totalmente la interrelación compleja que existe entre la flora intestinal y la alimentación.

RESUMEN

Se da una revista general sobre diversos aspectos de la influencia de los micro-organismos del tracto gastro-intestinal sobre la nutrición de animales. Se discuten los fijadores de nitrógeno en insectos, destructores de celulosa en insectos y rumiantes y la síntesis microbiana intestinal de vitaminas, su supresión por drogas sulfa, otros factores que la influyen, la acción estimuladora de ciertos antibióticos sobre el crecimiento y al final se discuten algunas perspectivas prácticas de estas consideraciones.

SUMMARY

A review about different aspects of the influence of intestinal microorganisms on animal nutrition is given. The following points are discussed briefly: nitrogen fixation in insects, cellulose destruction in insects and ruminants, microbiological synthesis of vitamins in animal and men, action of bacteriostatic agents on this synthesis, others factors influencing intestinal synthesis, growth stimulating action of antibiotics and some practical aspects of the problem.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Übersicht über die verschiedenen Aspekte des Einflusses der Microdarmflora auf die tierische Ernährung gegeben. Die folgenden Punkte werden kurz behandelt: Stickstoff-

bindung in Insekten, Celluloseabbau in Insekten und Wiederkäuern, mikrobiologische Vitaminsynthese in Tieren und Menschen, Wirkung von bakteriostatischen Substanzen auf diese Synthese, andere Faktoren, die sie beeinflussen, Wachstumsfördernde Wirkung von Antibiotika und einige praktische Ausblicke.

BIBLIOGRAFIA

- (1) L. Pasteur.—Compt. rend. Acad. Med. 100, 66 (1885).
- (2) J. Pelke y J. Satava.—Experientia, 6, 190 (1950).
- (3) J. G. Louw, H. H. Williams y L. A. Maynard.—Science, 110, 478 (1949).
- (4) V. A. Najjar y R. Barret.—Vitamins and Hormones, 3, 23 (1945).
- (5) T. B. Osborne y L. B. Mendel.—Cit. por Najjar y Barret, loc. cit.
- (6) W. B. Bottomley.—Ibid.
- (7) A. Theiler, H. H. Green y P. R. Viljon.—Ibid.
- (8) N. B. Guerrant y R. A. Dutcher.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 31, 796 (1934).
- (9) F. S. Daft y W. H. Sebrell.—Vitamins and Hormones, 3, 49 (1945).
C. A. Elvehjem.—Fed. Proc., 7, 410 (1948).
- (10) J. A. Reyniers, P. C. Trexler, R. F. Ervin, M. Wagner, H. A. Gordon y T. D. Luckey.—J. Nutr., 41, 31 (1950).
- (11) V. A. Najjar y L. E. Holt.—J. Am. Med. Assoc., 123, 683 (1943).
- (12) V. A. Najjar, G. O. J. Johns, G. C. Medairy, G. Fleischman y L. E. Holt.—J. Am. Med. Assoc., 126, 357 (1944).
- (13) T. W. Oppel.—J. Clin. Inv., 21, 630 (1942).
- (14) P. Ellinger y R. A. Coulson.—Nature, 154, 270 (1944).
- (15) W. G. Jaffé.—Zeitschr. Vit. Horm. Fermentforsch. 2, 33 (1949).
- (16) W. J. Robbins, A. Hervey y M. E. Stebbins.—Science, 112, 455 (1950).
- (17) E. J. Underwood.—Nutr. Abstr. Rev., 9, 515 (1940).
- (18) G. Hendlin y M. L. Ruger.—Science, 111, 541 (1950).
- (19) R. L. Davis y B. F. Chow.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 77, 218 (1951).
- (20) W. G. Jaffé.—Arch. Venez. Nutr., 2, 20 (1951).
- (21) E. L. R. Stockstad y T. H. Jukes.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 73, 523 (1950).
- (22) J. J. Oleson, B. L. Hutchings y A. R. Whitehall.—Arch. Biochem., 29, 334 (1950).
- (23) M. O. Schultze.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 75, 53 (1950).
- (24) Hwa Lih y C. A. Baumann.—J. Nutr., 45, 143 (1951).
- (25) W. G. Jaffé.—Arch. Venez. Nutr., este número.
- (26) C. A. Herter y A. I. Kendall.—Cit. por Najjar y Barret, loc. cit.
- (27) D. W. Wooley.—J. Exptl. Med., 75, 277 (1942).
- (28) G. J. Martin.—Am. J. Physiol., 136, 124 (1942).
- (29) S. Jacob, F. B. Schweinburg y A. M. Rutenburg.—Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 78, 121 (1951).
- (30) W. G. Jaffé.—Acta Cient. Venez., 2 (6) (1951), en prensa