



Universidad de Jaén

Facultad de Ciencias
Experimentales

Uso de *Bacillus* spp. como probióticos con un enfoque en animales de explotación ganadera y acuicultura

Autor: David Ríos Castillo

Grado: Biología

Fecha: 20/06/2024



CREA



Universidad de Jaén



Trabajo de Fin de Grado

Uso de *Bacillus* spp. como probióticos con un enfoque en animales de explotación ganadera y acuicultura



Alumno: David Ríos Castillo

Jaén, Junio de 2024

Firma: _____

Índice:

1.-Resumen:	1
1.1.- Abstract:	1
2.- Introducción	2
2.1.- Los Probióticos:	2
2.1.1.- Funciones y ventajas	3
2.1.2.- Historia de los probióticos	4
2.1.2.1- Probióticos más usados y comunes	5
2.2.- Bacillus spp.	6
2.2.1.-Tipos, formas y desarrollo	6
2.2.2.- Principales usos y ventajas	10
3.- Justificación	14
4.-Objetivos Generales	15
Objetivos específicos	15
5.- Metodología	15
6.- Resultados	16
6.1.1.- Aves, porcino, crustáceos y otros animales de explotación alimentaria:	17
6.1.2.- Usos específicos de Bacillus spp. como probióticos en las diferentes explotaciones ganaderas	19
7.- Discusión	23
8.- Conclusión	25
9.- Agradecimientos	25
10.- Bibliografía	25

1.-Resumen:

Introducción: El uso de probióticos puede mejorar el equilibrio bacteriano gastrointestinal, mejorando la absorción de nutrientes y ayudando frente patógenos. Este estudio se centra en *Bacillus* spp. y cómo actúa en esos campos pero con un enfoque a la ganadería y acuicultura, demostrando los beneficios de *Bacillus* spp. como probióticos en animales de interés económico.

Objetivos: Análisis de diferentes estudios que usen *Bacillus* spp. como probióticos en explotaciones ganaderas y acuicultura frente patógenos o mejora en el desarrollo de animales

Metodología: Se ha procedido a la búsqueda de estudio en distintas bases de datos (Google Scholar, Scielo, PubMed, ScienceDirect y artículos de los libros), aplicando criterios de búsqueda preestablecidos.

Conclusión: Queda en evidencia que el uso de *Bacillus* spp. como probióticos proporcionan ventajas y beneficios antivirales y antimicrobianos junto a mejoras en el desarrollo y estado de salud de los animales. Este campo de investigación se encuentra en auge por lo que se cabe esperar mejoras y cambios en muchos estudios. **Palabras clave:** *Bacillus* spp., probióticos, agricultura, actividad antimicrobiana, desarrollo

1.1.- Abstract:

Introduction: The use of probiotics can improve the gastrointestinal bacterial balance, as well as the absorption of nutrients and protect the host against pathogens. In this regard, this study focuses on the use of *Bacillus* spp. paying in particular attention to livestock and aquaculture, and demonstrating the benefits of *Bacillus* spp. as probiotics in animals of economic interest.

Objectives: Analysis of different studies on *Bacillus* spp. as probiotics in livestock farms and aquaculture against pathogens or improvement of animal development.

Methodology: The study searched on different databases (Google Scholar, Scielo, PubMed, ScienceDirect, and book chapters), applying pre established search criteria.

Conclusion: The study showed that the use of *Bacillus* spp. as probiotics provide antiviral and antimicrobial advantages and benefits together with improvements in the development and health status of animals.

Palabras clave: *Bacillus* spp., probiotics, agriculture, antimicrobial activity, growth

2.- Introducción

2.1.- Los Probióticos:

Los probióticos son una serie de bacterias que en parte pueden ser beneficiosas para nuestro organismo, como la absorción de alimentos, el estado de salud intestinal, gastrointestinal y junto a esto, emocional. Los probióticos están extendidos por todo el mundo de diferentes maneras y productos. Japón, por ejemplo, utiliza el “natto” o *Bacillus subtilis* variante *natto* que es una especie de *Bacillus* utilizado en las comidas de alimentos fermentados (Bodke y Jogdand, 2022) y *Bacillus subtilis* también en las sopas de miso (Gopikrishna, T. *et al* (2021)).

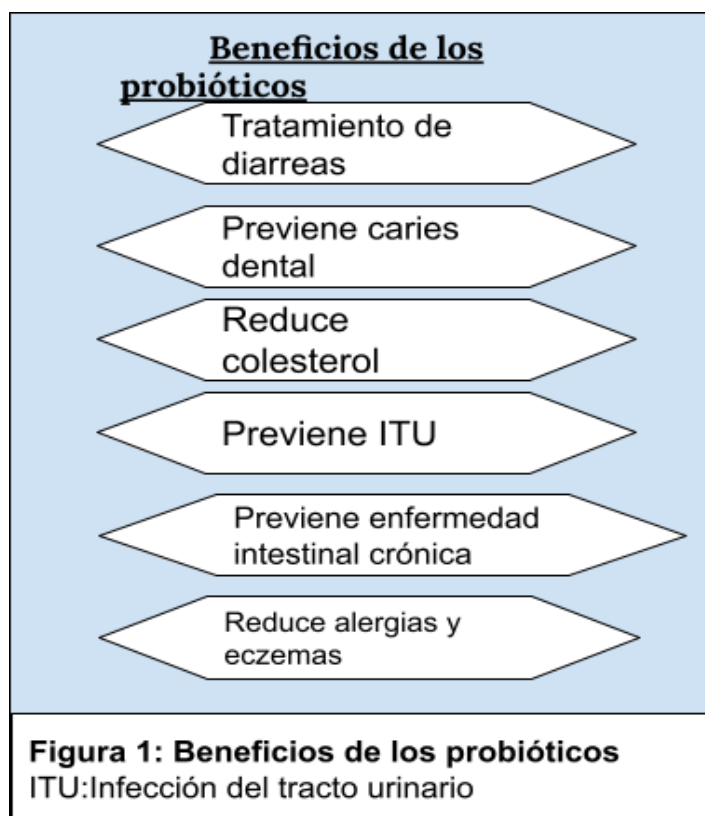


Figura 1: Beneficios de los probióticos, adaptado de Bodke y Jogdand, 2022.

Por todo el continente asiático se consumen frecuentemente alimentos fermentados de soja, los cuales han demostrado poseer diferentes tipos de beneficios y de especies de *Bacillus* como el *Bacillus subtilis* ya mencionado, *Bacillus pumilus* en el sashimi furu, *B. licheniformis* y *Bacillus cereus* en bekang, que es soja tradicional del

estado de Mizoram de la India, entre otros más provenientes de la soja fermentada (Gopikrishna, T. *et al.*, 2021).

No menos importantes, los prebióticos. Su definición más común fue dada por Gibson y Robertfroid en 1995 como “un ingrediente o alimento no digerible que afecta de manera beneficiosa al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o cierto número limitado de bacterias en el colon” aunque fue cambiada en 2016 por la Asociación Internacional Científica de Probióticos y Prebióticos como “un sustrato que es usado selectivamente por los microorganismos del huésped ofreciendo beneficios para la salud”, aunque la selectividad de la que se comenta se debate con frecuencia (Quigley E. M. M. 2019). Los más estudiados como prebióticos funcionales y de provecho son los fructooligosacáridos (FOS) que se encuentran en cebollas, ajo, yacón, puerro, y espárragos y los galactooligosacáridos (GOS) en frutos secos como las nueces, avellanas, anacardos, pistachos o legumbres como las lentejas y en garbanzos verdes (Bamigbade GB *et al.*, 2019). La mayoría de prebióticos se pueden clasificar como fibras o alimentos con fibra, que esto implica efectos secundarios producidos por la selectividad de digestión de estos alimentos como el crecimiento de bacterias que producen gases como lo es *Clostridium* (Quigley E. M. M. 2019).

2.1.1.- Funciones y ventajas

El intestino de los seres humanos posee unas 500 especies diferentes de bacterias, teniendo algunas de estas una importancia en las funciones de la salud, como la estimulación del sistema inmunitario, la protección del huésped frente a bacterias y virus ajenos y mejorando la digestión y degradación de los alimentos (Gupta, V., & Garg, R. 2009). De esta forma, aprovechan alimentos de los cuales no tendríamos tanto beneficio y a su vez recalamos, que pueden mantener a raya tanto patógenos invasivos externos, como internos (Kim *et al.*, 2019). Los probióticos al no ser patogénicos está bien visto por muchas de las ventajas que pueden proporcionar como los niveles de colesterol, para el tratamiento de diarreas e inflamaciones del intestino, así como también protección contra caries y un refuerzo del sistema inmunológico sobre todo frente a reacciones alérgicas (Bodke y Jogdand, 2022) (Figura 1).

En algunas ocasiones se ha utilizado tratamientos por interferencia microbiana, es decir, mediante probióticos, en los casos que los antibióticos no se puedan utilizar en la persona o puedan dañar la flora y desencadenar una enfermedad peor de la tratada (Bengmark S., 2019).

Según Bengmark S. (2019) un incremento de la ingesta de probióticos ayuda a restaurar y mantener un equilibrio favorable en el ecosistema intestinal y la actividad de los microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal es necesaria para mejorar la condición de salud del huésped. Algunas cepas probióticas pueden modular la respuesta inmune de los individuos e incrementar la efectividad de las vacunas o los alérgenos e incluso llegan a tener efecto en respuestas celulares y humorales y afectan a la secreción de citoquinas (Zawistowska-Rojek, A., & Tyski, S., 2018). Gracias a los usos ya dados y probados, en farmacología se han utilizado para enfermedades de diarrea, como el rotavirus en niños, el tratamiento de la pouchitis (Williams N. T. 2010). Aunque haya datos inconsistentes referente a la eficacias de los probióticos sobre la diarrea asociada a antibióticos (DAA), a pesar de ello, podemos decir que la terapia con probióticos frente a la enfermedad de Crohns, colitis ulcerosa (CU), síndrome del colon irritable (SCI) e infección de *Helicobacter pylori* es beneficiosa para su tratamiento y también se ha probado el uso de probióticos en enfermedades que no son del aparato gastrointestinal como problemas urogenitales, enfermedades de tracto respiratorio superior, y la reducción de probabilidades de cáncer de colon, reacciones alérgicas y atópicas (Williams N. T. 2010).

2.1.2.- Historia de los probióticos

El uso de los probióticos se viene dando desde tiempos de antes de cristo gracias al descubrimiento casi accidentado del yogurt, descubriendo así una gran variedad de alimentos y usos en estos (Ozen y Dinleyici, 2015).

Históricamente, hay nombramiento en escrituras y libros del uso de ciertas bacterias y métodos culinarios de manera probiótica, no solo en alimentos si no en la producción de productos fermentados como el vino que se habla de su uso en Grecia como diurético o antidiarreico, el Rey Francis I para aliviar su enfermedad intestinal se usó el yogurt (Ozen y Dinleyici, 2015). De otra forma, también

encontramos evidencias pictóricas de la Mesopotamia donde revelaban la manera de adiestrar y adquirir leche u otros productos (Gasbarrini, G., *et al.*, 2016).

Gracias a Louis Pasteur y el desarrollo del microscopio, se maximizaron los estudios e investigaciones ya que identificó a los microorganismos responsables de la fermentación (Gasbarrini, G. *et al.*, 2016). Pero el concepto de los probióticos probablemente se dió en 1908, cuando Elie Metchnikoff, que ganó el Premio Nobel que sugirió de la investigación de la larga vida de unas campesinas búlgaras que consumían leche fermentada (Gupta, V., & Garg, R. 2009). Elie Metchnikoff siguió con su investigación y los pasos de Pasteur y él fue el primero en probar los efectos de estos microbios en la salud humana sugiriendo poco después que *Lactobacillus*, las bacterias productoras de ácido láctico, pueden contrarrestar efectos putrefactivos del metabolismo gastrointestinal (Gasbarrini, G. *et al.*, 2016). Aunque el término de “probiótico” fue por primera vez usado en 1965 por Lily y Stillwell describiendo las sustancias secretadas por un organismo que estimulaba el crecimiento de otro, lo definieron como “la preparaciones microbiales o componentes de células microbiales que tienen efectos beneficiosos en la salud y el bienestar” (Gupta, V., & Garg, R. 2009). Gracias a estas investigaciones y estudios, se empezó a normalizar su uso diario en los alimentos con ventajas como la disminución del pH intestinal inhibiendo bacterias proteolíticas (Ozen y Dinleyici, 2015).

2.1.2.1- Probióticos más usados y comunes

Actualmente, los probióticos más conocidos, anunciados y comercializados para el consumo humano pertenecen al grupo de *Lactobacillus* spp. (Markowiak, y Ślizewska, 2017). Estas bacterias se encuentran en nuestro intestino aportando al anfitrión beneficios como por ejemplo en respuestas inmunes y la producción de sustancias antimicrobianas, moderando el colesterol, mejorando la actividad de la lactasa y la digestión de los alimentos en la fermentación a ácido láctico de los hidratos de carbono (Bull *et al.*, 2013). También se nombra y consume frecuentemente natto japonés, que consiste de *B. subtilis* natto, ayudando a la absorción de vitaminas y aminoácidos esenciales (Elisashvili V. *et al.*, 2019). Entre las especies más comunes seleccionadas como probióticos para incrementar el balance gastrointestinal y adsorción son: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*,

Lactobacillus plantarum, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium infantis* (tabla 1) (Ishibashi, N., & Yamazaki, S., 2001)

Género	Especies
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i> , <i>plantarum</i> , <i>casei</i> , <i>paracasei</i> , <i>salivarius</i> , <i>acidophilus</i> , <i>plantarum</i> , <i>gasseri</i> , <i>leichmanii</i> , <i>jensenii</i> , <i>confusus</i> , <i>brevis</i> , <i>bulgaricus</i> , <i>lactis</i> , <i>fermentum</i> , <i>minutus</i> y <i>catenaforme</i> sp.
<i>Lactococcus</i>	<i>lactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroides</i> , <i>paramesenteroides</i> , <i>citreum</i> , <i>pseudomesenteroides</i> u <i>lactis</i> sp.
<i>Pediococcus</i>	<i>acidilactici</i> y <i>pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>dentium</i> (<i>eriksonii</i>) y <i>adolescentis</i> sp.
<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> , <i>faecium</i> , <i>avium</i> y otros.

Tabla 1: Resumen adaptado de bacterias de ácido láctico aislados de endocarditis, bacteriemia y la sangre y de infecciones locales (Ishibashi, N., & Yamazaki, S. (2001). Siguiendo con los probióticos, nos centraremos en *Bacillus* spp. que se han estado incrementando sus usos y pruebas conforme pasa el tiempo como por ejemplo *Bacillus cereus* (Williams N. T. 2010).

2.2.- *Bacillus* spp.

2.2.1.-Tipos, formas y desarrollo

Género de la familia *Bacillaceae*, son bacilos gram positivos capaces de formar endosporas en condiciones adversas. *Bacillus* spp. son omnipresentes y se encuentran en los suelos, agua, aire y alimentos. Son bacterias móviles, aerobias,

anaerobias facultativas y anaerobias (Macedo y Vola, 2008). Aunque se conozca un gran número de especies de *Bacillus* sólo unas pocas seleccionadas y estudiadas se utilizan como probióticos: Estos incluyen *B. coagulans*, *B. clausii*, *B. cereus*, *B. subtilis* y *B. licheniformis* y variantes de estas mismas (Mingmongkolchai y Panbangred 2018). Gracias a que son formadoras de esporas, aumentan su resistencia y la expansión de la especie en el tracto gastrointestinal. Los *Bacillus* spp. pueden darse también en forma vegetativa teniendo mayores ventajas como bactericida y antimicrobianos, formadora de enzimas para la nutrición, crecimiento celular y absorción de ácidos lipoteicos (Bernardeau M., *et al* 2017). Para que se de esta forma, la célula o bacteria pasa por la esporulación de la célula y dar lugar a la espora (Figura 2):

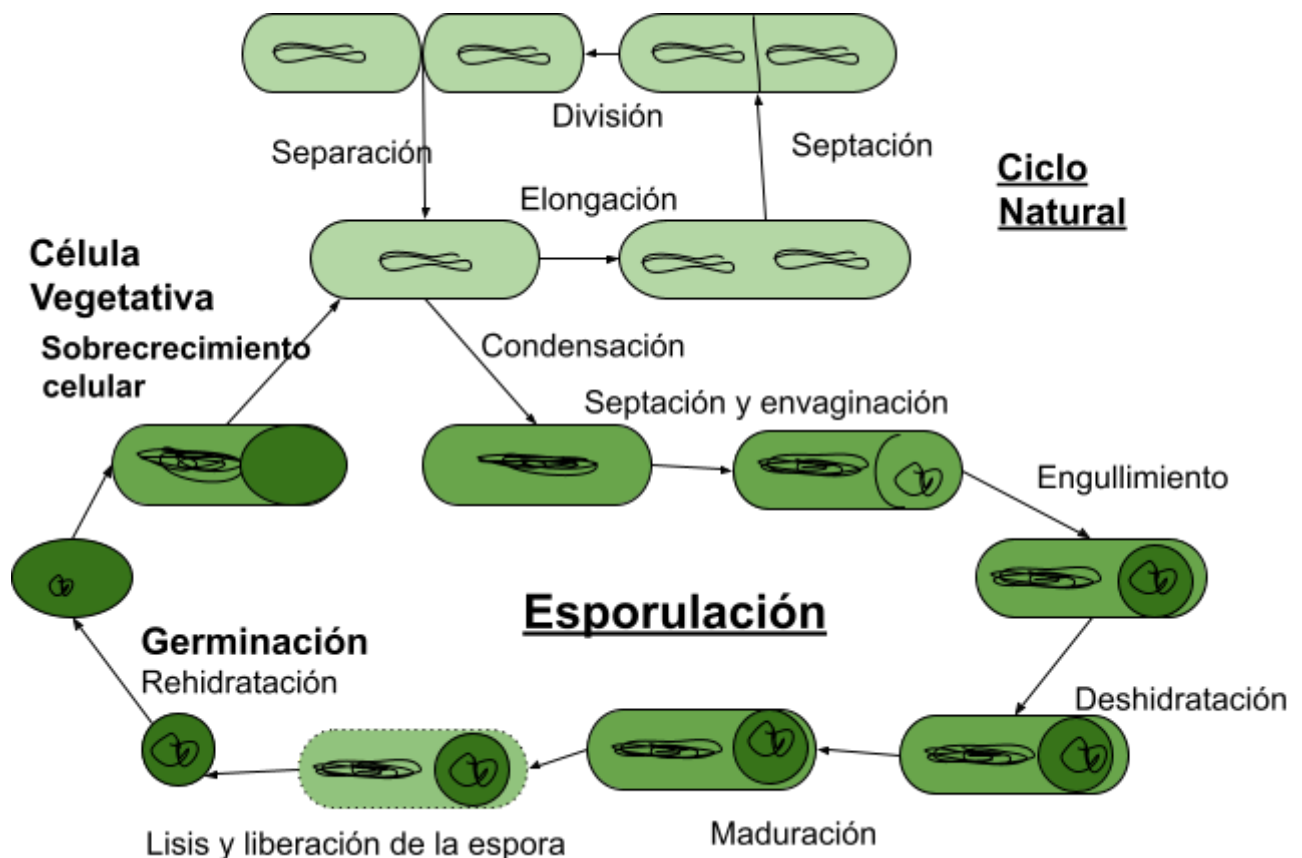


Figura 2: Ciclo de vida de una bacteria formadora de esporas como *Bacillus subtilis*. que bajo condiciones adversas, puede someterse a una transformación de supervivencia que es la espora mediante el proceso de esporulación, adaptado de Jedrzejak, M. J., & Huang, W. J., 2003.

Las esporas tienen estructuras muy diferentes que las células, con ciertas ventajas y constituyentes propios de las esporas. La estructura de estas esporas desde el exterior al interior consiste en un exosporio, una capa, la membrana externa junto a la interna y entre estos, recubriendo el núcleo, el córtex y una pared de células germinales alrededor del núcleo (Figura 3) (Setlow P. 2003). El exosporio es una estructura holgada que se encuentra en espora de algunas especies como *Bacillus cereus* y está formada por proteínas, como glicoproteínas y proteínas propias de la capa que se encuentra anterior al exosporio en esporas del grupo *B. anthracis* (Setlow P. 2006). La capa o recubrimiento está formada por un número elevado de proteínas unidas entre sí (Setlow P., 2006). Esta capa es importante para la resistencia de la espora frente a químicos, enzimas líticas exógenas que puedan degradar el córtex y la depredación de los protozoos (Setlow P., 2006). El córtex está compuesto por peptidoglicanos siendo esencial para la formación de una espora inactiva y reducir el contenido de agua en el interior de la espora, pero este se degrada si la espora se hidrata, dando lugar a la expansión de la espora y el núcleo (Setlow P., 2006).

En el interior junto al núcleo la pared de células germinales, las cuales no parecen proporcionar resistencia alguna pero forman la pared celular de la célula que se forma al germinar de nuevo la espora (Setlow P., 2006). Por último el núcleo, la parte central de la espora donde encontramos el genoma de la espora u célula correspondiente, un conjunto mínimos de proteínas y otras moléculas, grandes cantidades de Ca^{2+} y ácido dipicolínico que proporciona resistencia a temperaturas altas (Jedrzejewski, M. J., & Huang, W. J., 2003).

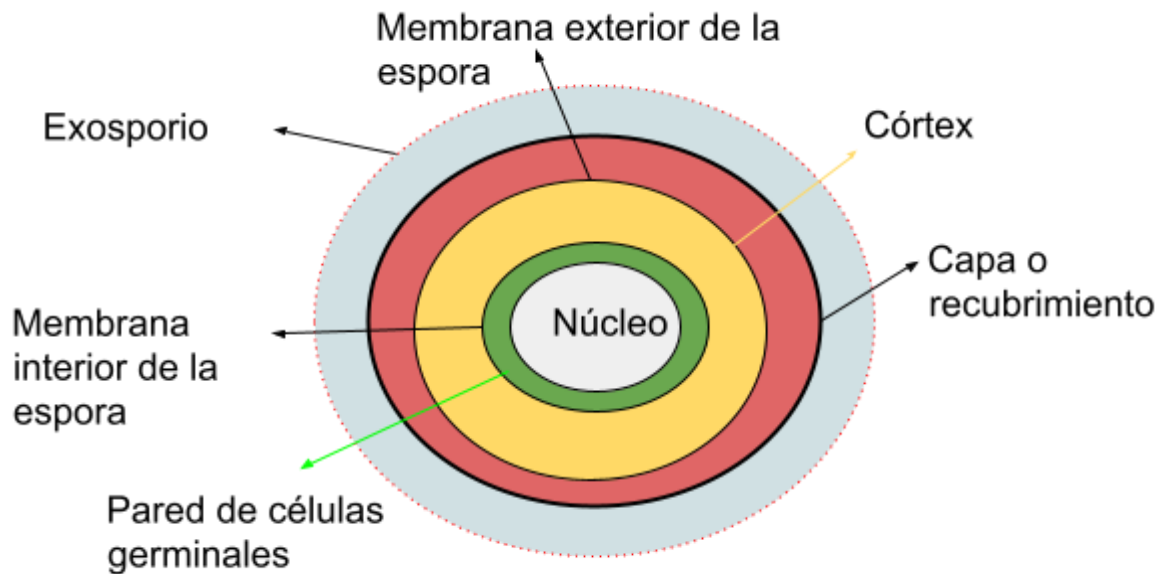


Figura 3: Adaptado de Setlow P., 2006, representación de una espora de bacteria formadora de espora de *Bacillus* spp. La estructura es similar en todas las especies a excepción de tamaño, forma del exosporio y/o la capa.

El desarrollo de los *Bacillus* spp. son diferentes entre las especies de *Bacillus*, con la noción de que la mayoría de *Bacillus* spp. son aerobios facultativos, es decir, puede crecer en presencia de oxígeno o en ausencia de éste, pero pueden no proliferan de manera adecuada en el tracto gastrointestinal ni tampoco mantener una interacción benefactora con el tracto gastrointestinal ya que son principalmente microorganismo adaptados a zonas de exterior como el suelo (Hong, H. A., et al., 2005). A pesar de las condiciones adversas del tracto, gracias a la esporulación de las bacterias (Figura 2) pueden replicarse y recrecer de nuevo, sobre todo en el intestino delgado donde el medio no es estrictamente tan anóxico (Hong, H. A., et al., 2005). De esta manera, nos encontramos con un microambiente suficiente para que las esporas *B. subtilis* var. *natto* puedan crecer y proliferar demostrado su beneficio en la microflora fecal, incremento de *Lactobacillus* bajo dietas e inhibición del crecimiento de *Candida albicans* (Hong, H. A., et al., 2005).

2.2.2.- Principales usos y ventajas

El uso dado a ciertas especies de *Bacillus* spp. como probiótico nos proporcionará ventajas frente microbios oportunistas u alérgicos incrementando las proteínas marcadoras, desórdenes gastrointestinales junto a diarreas y como antiinflamatorio de tracto gastrointestinal (Jeżewska-Fraćkowiak, *et al.*, 2018). *Bacillus* spp. también son usados en mejoras de producción de enzimas como las amilasas, glucoamilasas, proteasas, celulasas y peptidasas, junto a vitaminas (ej: riboflavina, inositol) y carotenoides para beneficio complementario de un consumo saludable (Elshaghabee, F. M. F., *et al.*, (2017);). Un ejemplo es el *Bacillus coagulans* GBI-30, es una variante formadora de ácido láctico y que puede darse en su forma de espora que con la cuál son capaces de resistir los ácidos del estómago y permanecer luego en el intestino lo que consigue que la bacteria probiótica llegue a mejorar la absorción y la eficiencia proteica, disminuir el dolor de las roturas musculares o agujetas y a su vez, mejorar la recuperación del músculo, así como mejorar y aumentar otros beneficios de los prebióticos, reducir los efectos de síndrome del colon irritable (SII) (Jäger, R., *et al.*, 2018). Esta variante ha sido probada y estudiada para la mejora de los mecanismos metabólicos de las personas, si no también para usos frente a las propias enfermedades (tabla 2):

Mecanismo	Variante	Acción	Referencia
Modulación de la microbiota nativa	GBI-30, 6086 (BC30)	Incrementa de la abundancia de <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> en personas mayores	Nyangale et al., 2015
Modulación de la inmunidad del huésped	GBI-30, 6086	Promueve la maduración de células presentadoras de antígenos	Benson et al., 2012
Regulación del metabolismo	GBI-30, 6086	Promueve la digestión de proteínas vegetales	Keller et al., 2017

Tabla 2: Distintos usos de la variante de *Bacillus coagulans* que mejoran los mecanismos metabólicos corporales (Mu, Y., & Cong, Y. 2019).

Visto la forma esporulada que puede adoptar el género *Bacillus*, se ha investigado sus usos de manera industrial (Figura 4), como es *Bacillus coagulans*, una bacteria formadora de esporas de ácido láctico (BFEAL) (Biermann, R., & Beutel, S. (2023)). Además, el organismo combina las propiedades probióticas de las bacterias de ácido láctico con la resistencia de la acidez de las endosporas consiguiendo aumentar la supervivencia de las bacterias y del estrés ambiental del intestino y el ácido gástrico, aún así la mayoría de las BFEAL están registradas como seguras o GRCS (generalmente reconocido como seguro) que ayudan y simplifican el uso de *Bacillus* spp. como probióticos (Biermann, R., & Beutel, S. (2023)). Otros usos industriales a *Bacillus* spp. son utilizados como químicos en hogares u hospitales para evitar el crecimiento de otras bacterias, como *Staphylococcus aureus* en hospitales o *B. thuringiensis* como biopesticida (Biermann, R., & Beutel, S. (2023)).

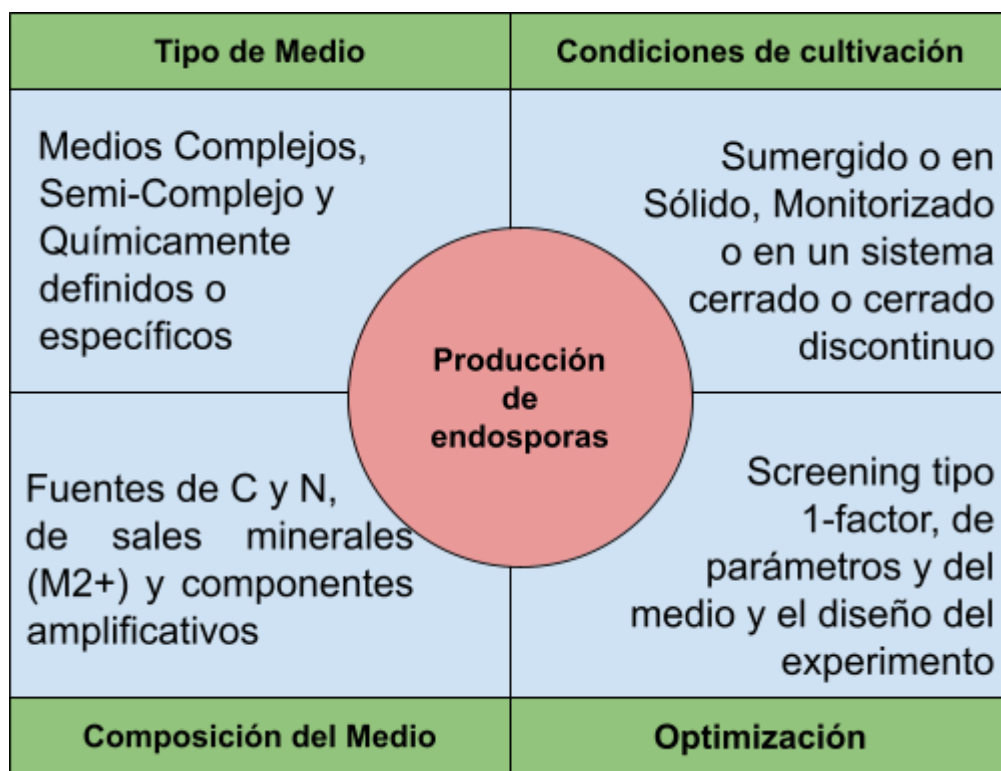


Figura 4, Representa una descripción general de las condiciones que se deben de asumir para los bioprocesos a la hora de formar las endosporas de manera industrial. Adaptado de (Biermann, R., & Beutel, S. 2023).

De esta manera, destacamos que los *Bacillus* spp. en consumo humano, proporciona mejora gastrointestinal, emocional, metabólica y la respuesta inmunitaria frente a diferentes patógenos, algunos perduran pudiendo ser malignos (*B. cereus*) y otros utilizados en dietas y medicina (*B. subtilis* var. *natto*) (Hong, H. A., et al., 2005). *Bacillus coagulans* es un buen ejemplo de *Bacillus* spp. empleado de diferentes maneras y con diferentes propósitos. Se demostró que *B. coagulans* var. BC30 aumentó significativamente la producción de la bacteria beneficiosa *Faecalibacterium prausnitzii*, mayor respuesta inmune por aumento de secreción de citocinas antiinflamatoria IL-10, y mantenimiento de células natural killers (NK) (Nyangale et al., 2015). También apoyan a dos tipos de células importantes responsables del reconocimiento de antígenos, la presentación de bacterias y material no deseado a las células dentro del sistema inmunológico adaptativo y la mejora de la ejecución de las funciones reguladoras, incluida la memoria inmunológica (Benson et al., 2012). Una prueba con el modelo del intestino delgado *in vitro*, con alta correlación *in vivo*, demostró el incremento de la absorción de proteínas vegetales gracias a BC30 en guisantes, soja y arroz, incrementando la obtención de carbohidratos, vitaminas, digestión de lípidos y proteínas debido al genoma de BC30 que contiene en su genoma un cierto número de genes que codifican peptidasas (Keller et al., 2017). Previamente mencionamos que *B. coagulans* no solo proporciona ciertas mejoras a los mecanismos metabólicos del individuo que los ingieren, si no que también ha demostrado su eficiencia y eficacia frente a ciertas enfermedades (tabla 3):

Enfermedad	Sujetos/ Pacientes	Dosis de la variante	Resultados	Referencia
Diarrea Aguda	60, India	LBSC, 2x10 ⁹ UFC*	Recuperación de la diarrea aguda con dolor abdominal y discomfort	Maity & Guta, 2019
Antibióticos asociados a diarrea para síndrome de intestino irritable	52, USA	GBI-30, 6086 2x10 ⁹ UFC*	Disminución significativa del movimiento del intestino	Dolin B. J. 2009

(SII)				
Anti toxicidad contra metales pesados	Ratón/es	10 ⁹ esporas de <i>B. coagulans</i> diario	Reducción de mercurio en hígado y riñón e inhibición de cambios de niveles de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa	Majlesi et al., 2017
Deportes	29, USA	GBI-30, 6086 2x10 ⁹ UFC* + casein	Mejora de recuperación muscular después de un alto ejercicio intensivo y reducción del daño muscular	Jäger, R., et al., 2018
Colitis	Ratón/es	GBI-30, 6086	Mejora el índice de <i>Clostridium difficile</i> en el intestino	Fitzpatrick et al., 2012

Tabla 3: Algunos ejemplos de *Bacillus coagulans* frente a distintos padecimientos y enfermedades (Mu, Y., & Cong, Y. 2019). *UFC: Unidad formadora de colonias.

El *Bacillus* de ácido láctico (*B. coagulans* cepa LBSC) fue bien tolerado por los pacientes (2 mil millones de esporas activas) demostrando su seguridad y eficiencia frente la diarrea aguda, el dolor y discomfort (Maity & Guta, 2019). *B. coagulans* GBI-30 fue probado también para el SII disminuyendo el movimiento del intestino en pacientes con SII-diarrea (Dolin B. J. (2009). En ratones, se probó con BC30 frente la colitis inducida por *Clostridium difficile* con abstinencia a la vancomicina demostrando heces más consistentes con BC30 como tratamiento y mejorando aún más junto al apoyo posterior de la vancomicina (Fitzpatrick et al., 2012). Otro estudio con la misma cepa se realizó demostrando su eficacia en la disminución de metales pesados como el mercurio, en hígado y riñón e inhibiendo cambios de niveles de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa sin variar pesos u otros factores en los ratones, recomendando que se realicen futuros estudios para el aliviar la toxicidad del mercurio en el cerebro y el sistema cardiovascular con *B. coagulans* (Majlesi et al., 2017)).

3.- Justificación

El debido desarrollo de los animales de una explotación ganadera es fundamental para que los animales mantengan un crecimiento y salud estables durante su periodo de crianza (Várhidi y Máté, 2019). Añadido a esto, el incremento del precio para la fabricación de las vacunas y otros medicamentos, así como el pienso que se ofrece como comida principal se han incrementado durante los últimos años por la inflación, un añadido para mantener largo plazo una estabilidad de la inmunidad de los animales es el uso de probióticos (Uyeno y Shimosato, 2015).

No solo se busca el mantenimiento de estos animales, también el refuerzo de las futuras generaciones que estos mismos tengan, ya sean mediante la lactancia principalmente por los mamíferos y en piscifactorías solo durante el alimento y estado del agua durante el desarrollo de estos (Gu, X. L. *et al.*, 2019). Por eso, el incremento de la aparición cada vez más frecuente de bacterias resistentes a antibióticos ha dado qué pensar y pasar a métodos más naturales, en este caso *Bacillus* spp. como probióticos, demostrando su eficacia, tanto en personas como en la ganadería y así también disminuir el uso de antibióticos y prohibir casi en su totalidad los promotores de crecimiento en UE (Biermann, R., & Beutel, S. (2023)).

En la actualidad, ostentamos un problema de sobrepoblación en el planeta con casi 8.000 millones de personas en el mundo. Por lo tanto, el mantenimiento de las granjas de explotación ganadera se ven con problemas de mantenimiento y abastecimiento de piensos y medicinas, siendo China la que lidera la producción y exportación de alimento con el 64% de cría intensiva de cerdo y la avícola con un 70%. Es necesario que las explotaciones ganaderas principales mantengan la saludabilidad de los animales y su crecimiento estable para que la exportación de los productos avícolas o cárnicos sea correcta y sin ninguna infección o infección vírica del animal o el alimento alimento exportado ([World Population Prospects 2022](https://www.bbva.com/es/sostenibilidad/conoce-los-paises-y-las-regiones-que-practic-an-la-ganaderia-intensiva) ; <https://www.bbva.com/es/sostenibilidad/conoce-los-paises-y-las-regiones-que-practic-an-la-ganaderia-intensiva>).

Además, el mercado de los probióticos tiene un incremento del 7% anual en todo el mundo y se estima que para el 2024 crezca o exceda el valor de 65 billones de dólares en cuanto a probióticos (Zawistowska-Rojek, A., & Tyski, S. 2018) y para el 2024 se estima que el mercado de prebióticos también exceda sus expectativas con 8.5 billones de dólares (Quigley E. M. M. (2019)).

Teniendo en cuenta lo anterior, el uso de *Bacillus* spp. como probiótico en ganadería y acuicultura puede constituir una herramienta útil para una producción ganadera sostenible y saludable. Por lo tanto, se han investigado el estado del arte del uso de *Bacillus* spp. como probiótico en este entorno.

4.-Objetivos Generales

Análisis del uso de *Bacillus* spp. que se consumen como probióticos con enfoque en la ganadería y la piscicultura.

Objetivos específicos

- Cómo afecta al desarrollo y crecimiento de los animales y humanos
- Utilidad antibacteriana y antimicrobiana como posible sustituto a fármacos
- Análisis de los tipos de *Bacillus* spp. que se utilizan, viendo su desarrollo y respuesta

5.- Metodología

Para este estudio se ha realizado una búsqueda bibliográfica referente al interés del trabajo que es *Bacillus* spp. como probióticos. La búsqueda del material se ha realizado mediante las páginas web científicas como lo son Pubmed, NCBI, Google Scholar, ScienceDirect y artículos de libros. Para ello se han tomado en cuenta unos criterios de búsqueda para la recopilación de información, todos los artículos leídos y recopilados tenían que estar escritos en inglés o español, que incluyeran las palabras *Bacillus* spp., probióticos y actividad antimicrobiana en datos generales y específicos según los objetivos de este estudio, con texto completo y científico principalmente y artículos encontrados y escritos entre 2000-2023.

<i>Criterios de inclusión</i>
Inglés y Español
Tratar <i>Bacillus</i> spp. y su uso como probióticos
Revisiones sistemáticas
Referente general y sobretodo animal
Animales de explotación ganadera y acuacultura comunes
Texto completo y científico
Publicados entre 2000-2023 aproximadamente

Figura 5: Representación resumida de los criterios de búsqueda de artículos científicos Fuente:Elaboración propia

En una primera búsqueda con “*Bacillus* spp. y probiotics”, se concretaron unos 280 artículos con estas especificaciones. Revisando que el título contenga las primeras especificaciones y después concretando con “antimicrobial” y “agriculture” reducimos la búsqueda a unos 70 a 50 artículos los cuales se realizará una revisión bibliográfica completa y de estos se utilizarían para el trabajo y 30 artículos en las que indagaremos en nuestro objetivo específico.

6.- Resultados

6.1.-*Bacillus* spp. como probióticos en industria ganadera y piscicultura

La ganadería se basa en la crianza de los animales de consumo diario principalmente para el consumo humano como es el pollo, cerdo y otros animales de explotación ganadera y crustáceos y peces en la piscicultura. El incremento de costes en mantenimiento y antibióticos (Parker-Lue, *et al.*, 2015), afecta de forma directa a la crianza correcta de estos animales. Teniendo que sobreexplotar las crianzas con piensos convencionales junto la prohibición del uso del AGP con un trato inadecuado de los animales, puede acarrear problemas de salud en los

animales que se alimenten de estos (Mingmongkolchai, S., y Panbangred, W. 2018). No solo con eso, otro problema que se arraiga es la vacunación, que puede causar estrés e influir en los comportamientos de los animales, en su estilo de vida y producción (Parker-Lue, *et al.*, 2015). Por estas razones, se busca una manera igual o más efectiva de proteger, cuidar y alimentar a los animales. Una de esas formas puede ser el uso de los probióticos de *Bacillus* spp. Los probióticos de esporas son manufacturados y usados de manera extensiva en humanos (ejemplos, Bactisubtil®, France; Nature's First Food, USA) como promotores de crecimiento en animales (ejemplos, BioGrow®, UK; Toyocerin®, Japan) y excluyentes de agentes externos en acuicultura como factor de crecimiento y resistencia frente a enfermedades (por ejemplo, Biostart®, USA; Promarine®, Belgium) aunque solo unos pocos de *Bacillus* spp. han sido estudiados hasta este punto y la producción masiva es uno de los aspectos más importantes para el biocontrol y desarrollo comercial (Elisashvili, V. *et al.*, 2015). Se ha estado experimentado con una mayor énfasis con el género *Bacillus* spp. desde hace, relativamente poco. Alrededor de las 2 últimas décadas es cuando más interés se le ha estado poniendo al uso de estas bacterias. Su uso como probiótico provee varias ventajas y beneficios que deberían ser considerados para las ganaderías y sus animales. Algunos se describen a continuación:

6.1.1.- Aves, porcino, crustáceos y otros animales de explotación alimentaria:

El aislamiento de ciertas variantes de *Bacillus* spp. para determinar sus beneficios es el primer paso para su uso como probiótico y tratarlos como microbios de alimentación directa (direct-fed microbials) reduciendo la competencia de nutrientes, promoviendo la proliferación y producción de bacterias beneficiosas y metabolitos (Grant, A. *et al.*, 2018). Un ejemplo, contra la *Salmonella typhimurium* en aves de corral se aisló la variante *B. subtilis* Np 122 demostrando un mayor crecimiento, ganancia de peso en las aves y el aumento en la resistencia frente a la *Salmonella typhimurium* y las infecciones zoonóticas de esta bacteria frente a la vacunación (Chen, Y., *et al.*, 2021). La mayoría de estos estudios se hacen en pequeños grupos aislados, pero cuando se realiza a grandes escalas se utilizan AGP y *Bacillus* probióticos vis- a-vis viendo las ventajas de los probióticos a la hora del desarrollo total de las aves (Shivaramaiah, S. *et al.*, 2011).

El porcino, uno de los animales que se suelen destacar por su higiene, debe de tener una bioseguridad excepcional para garantizar un consumo humano seguro (<https://bioseguridad.net/>). *Bacillus subtilis* variante C-3102 ayuda a controlar infecciones en el cerdo, también el crecimiento, desarrollo y calidad de reproducción del mismo neutralizando o reduciendo bacterias que como *Escherichia coli* y *Clostridium* spp. en estos animales y en sus camadas (Kritas *et al.*, 2015).

Variantes como *Bacillus subtilis* DSM 32540 se han estudiado frente a variantes de *E.coli* como la Enterotoxigénica *E. coli* o ETEC demostrando una gran actividad antimicrobiana, modulando la respuesta inmune del animal junto a la disminución de su reproducción con la microbiota y la flora, a su vez del incremento en el crecimiento del animal, peso la disminución de diarreas (He *et al.*, 2020).

La base de crianza de crías de porcino es por lactancia, por eso se han realizado estudios donde los probióticos actúan sobre la leche materna con dietas variadas de menos grasas en la leche y llena de probióticos beneficiosos para los lechones si no que las madres proveen de una mayor salud, bajando de peso y mejor producción de leche lactante (Gu, X. L. *et al.*, 2019).

El conejo, otro animal de comercialización común en los que también se ha tenido interés para el uso de probióticos. En ellos se buscará mejoras en la amilasa, células y otros factores que benefician a estos animales de manera específica y de manera general como la inmunodeficiencia, incremento de la producción de antimicrobianos con estudios comparativos entre *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus acidophilus* en una dieta variada de *Bacillus* spp. como probióticos resultando en un incremento de *Bacillus* spp y *Lactobacillus* spp. y disminución de *Escherichia coli* en el producto fecal (Wang *et al.*, 2020).

En bovino, se da el caso del uso de *Bacillus* spp. como probióticos para intentar tratar la Hepatitis C a partir de *Bacillus* spp. aislados de una esponja *Petromica citrina*, con resultados satisfactorios en inhibición del virus y adhesión a estos virus (Bastos J.C., *et al* 2013)

En medio acuático, un crustáceo muy común es la gamba o caridea que sufren una de las enfermedades que más problemáticas es la necrosis hepatopancreática aguda (NHPA) producida por una toxina de *Vibrio parahaemolyticus* (Avery *et al.*, 2020). Un estudio determinó que *Bacillus inaquosorum* variante o cepa T1 probiótico provoca una actividad microbial de gran eficiencia contra *V. parahaemolyticus*

mediante transposones reguladores de la actividad de fases estacionarias regulando y curando la enfermedad de manera efectiva (Avery *et al.*, 2020).

La región nipona lidera sobre el consumo marino y estudia con mucho cuidado y de cerca esta industria de explotación, de tal manera, que el control y la vacunación de los animales acuáticos explotados acaban perdiendo la eficiencia y se desarrollan enfermedades resistentes a antibióticos en los que la alimentación por productos con probióticos con *Bacillus* spp. acaban siendo la mejor de las opciones a largo plazo (Matsuura *et al.*, 2019). No solo por la capacidad de desatar una defensa mejor con antimicrobianos, también el tamaño, salud, peso, mejoras en las barreras epiteliales intestinales (El-Sadoony *et al.*, 2019).

China, otro exportador y consumidor importante, busca una respuesta eficiente frente a la streptococcosis del *Streptococcus agalactiae* mediante *Bacillus velezensis* cepa LF01 como principal *Bacillus* probiótico potencial para *Nile tilapia* destacando un efecto antimicrobiano eficiente no solo contra *Streptococcus agalactiae* si no a muchas más cepas perjudiciales (Zhang *et al.*, 2019).

En demostración a todos estos casos y estudios por y para todos tipos de animales y humanos, se considera que *Bacillus* spp. puede ser utilizada comercialmente como dominante probiótico intestinal para inmunidad y crecimiento animal, sea terrestre o acuático buscando la variante de *Bacillus* spp. probióticos que mejor se adapte y se considere para el animal correspondiente (Várhidi y Máté, 2019).

6.1.2.- Usos específicos de *Bacillus* spp. como probióticos en las diferentes explotaciones ganaderas

En el siguiente apartado destacaremos el uso y estudios de *Bacillus* spp. en las explotaciones ganaderas que destacan por su ventajas en un mejor crecimiento de los animales, inhibición de colonias de virus y bacterias invasivas, entre otros en los distintos animales de agricultura y de explotación ganadera (Tabla 4):

Especie de probiótico	Especie de animal	Acción	Metodología	Referencia
-----------------------	-------------------	--------	-------------	------------

<i>B. inaquosorum</i> variante T1 (<i>B. subtilis</i>)	Gamba u Caridea	Inhibidor de expresión genética de <i>V. Parahaemolyticus</i> variante D4	<i>in vitro</i>	Avery, S. E. <i>et al.</i> , 2020
---	-----------------	---	-----------------	-----------------------------------

<i>B. subtilis</i> C-3102	Porcinas e híbrido de Nile Tilapia	Reducción de colonias de <i>E. coli</i> y <i>Clostridium</i> spp. y traspaso a crías. No diferencias en Nile Tilapia destacables	<i>In vivo</i>	Kritas, S. K. <i>et al.</i> , 2015 El-Sadoony <i>et al.</i> , 2019.
BSWJ2017003, BSWJ2017001 (<i>Bacillus subtilis</i>) BSWJ2017002 (<i>Bacillus pumilus</i>)	Conejo	Incremento de producción de enzimas como la catalasas, amilasas y celulasas. Disminución de colonias fecales de <i>E.coli</i> y aumento de colonias de <i>Bacillus</i> spp y <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>In vivo</i>	Wang <i>et al.</i> , 2020
<i>Bacillus velezensis</i> variante LF01	Nile Tilapia	Antagonista <i>Streptococcus agalactiae</i> y especies (ej: aeromonas) Incremento de características y salud del animal	<i>In vivo</i>	Zhang, D. <i>et al.</i> , 2019
<i>Bacillus subtilis</i> NP 122	Polluelos y aves	Reducción e inhibición de colonias de <i>Salmonella typhimurium</i> , ganancia de peso en el animal y la	<i>In vivo</i>	Shivaramaiah, S. <i>et al.</i> , 2011

		recuperación sobre ST		
TRT 3,4 y 6 dieta basal + <i>B. subtilis</i> variantes no especificadas		Aumento de crecimiento o, formación de desarrollo y grasas, de coste y menor mismo beneficio.	<i>In vivo</i>	Dela Cruz, P. J. D. <i>et al.</i> , 2019).
<i>Bacillus subtilis</i> DSM 32540 y DSM 32539	Porcino	Disminuye a <i>E. coli</i> enterotoxigénica por expresión de genes específicos. Estabilidad de la salud del porcino	<i>In vivo</i>	He, Y. <i>et al.</i> , 2020
<i>Bacillus subtilis</i> y <i>B. Licheniformis</i>		Mejora del rendimiento de lactancia, de producción de hormonas de crecimiento y de anticuerpos (Ig A y G) en la leche lactante	<i>In vivo</i>	Gu, X. L. <i>et al.</i> , 2019
<i>Petromica citrina</i> B555 y B584,B616 <i>Bacillus</i> spp. sin especificar	Bovino	Viabilidad <i>in vitro</i> y actividad frente al “virus de la diarrea viral bovina” (VDVB), presenta actividad viral similar que la hepatitis C	<i>In vitro</i>	Bastos, J. C. <i>et al.</i> , 2013

Tabla 4: Resumen de la actividad y ventajas de *Bacillus* spp. como probióticos

La información resultante de estos estudios tiene como finalidad demostrar el uso de *Bacillus* spp. como probióticos enfocado en ganadería y acuicultura en la actuación de una variante específica de *Bacillus* o de ensayos en grandes ejemplos de

animales frente a un virus o sobre la mejora en el desarrollo del animal. Caso como el estudio que aísla *B. inaquosorum* variante T1, subespecie de *Bacillus subtilis*, es demostrada *in vitro* como potente antimicrobiano e inhibidor por su expresión genética NRPS-PKS frente *V. Parahaemolyticus* variante D4 (Avery, S. E. *et al.*, 2020).

Otro estudio enfocado en *B. subtilis* C-3102 usado en porcinas durante 2 diferentes ciclos donde en el ciclo 1, T1 es placebo y T2 contiene el *Bacillus subtilis* correspondiente como probiótico y viceversa en el ciclo 2, resultando en la disminución de colonias de *E. coli* y *Clostridium* spp. en materias fecales y el traspaso para las crías de este probiótico aislandolo de las crías de la camada (Kritas, S. K. *et al.*, 2015). Esta misma variante, *B. subtilis* C-3102 ha sido utilizado en un híbrido de Nile tilapia, una especie de pez con propiedades de explotación acuífera, no presenta diferencias de la dieta probiótica entre la dieta basal (El-Sadoony *et al.*, 2019).

También se investigan 3 variantes de un total de 122 especies aisladas de *Bacillus* spp. BSWJ2017003, BSWJ2017001 son *Bacillus subtilis* y BSWJ2017002 como *Bacillus pumilus* que resultan en incrementan las catalasas, amilasas, celulasas e incrementa el desarrollo de los conejos así como disminución de *E. coli* y aumento de colonias de *Bacillus* spp. y *Lactobacillus* spp. en materias fecales (Wang *et al.*, 2020).

Se utilizó *Bacillus* spp. como microbios de alimentación directa (direct-fed microbials) o probióticos frente a *Salmonella typhimurium* (ST), de las variantes candidatas aisladas, se especificó que *Bacillus subtilis* NP 122 resultó de las mejores en la reducción e inhibición de colonias de ST ($p < 0.05$), incluyendo la ganancia de peso en el animal y la recuperación sobre ST (Shivaramaiah, S. *et al.*, 2011).

También en acuicultura encontramos *Bacillus velezensis* variante LF01 aislado de Nile tilapia, pez de interés económico, no solo resultó tener ventajas de desarrollo, crecimiento, control en UV y pH, contando también con inhibición frente a 9 patógenos más como algunas especies de *Aeromonas*, *Vibrio*, *Edwardsiella* y antagonismo frente *Streptococcus agalactiae* ($p < 0.05$) (Zhang, D. *et al.*, 2019). Se aisló de una esponja marina *Petromica citrina* 128 posibles bacterias con posible actividad antiviral frente a la Hepatitis C en bovino, de las cuales 2, B555 y B584, poseen estas actividades (98%) y 1 promete activamente, B616 (90%), siendo cepas de *Bacillus* spp. sin especificar, presentan viabilidad *in vitro* y actividad frente al

“virus de la diarrea viral bovina” (VDVB), que presenta una similar actividad viral que la hepatitis C (Bastos, J. C. *et al.*, 2013). Con los porcinos se realizó un estudio con unos 36 ejemplares que busca por aislamiento de las variantes *Bacillus subtilis* DSM 32540 y DSM 32539, enfrentar a *E. coli* enterotoxigénica mediante expresiones de genes específicos y beneficiando a su vez el crecimiento y el peso corporal de los porcinos (He, Y. *et al.*, 2020).

A su vez, descubrimos estudios con un número de pruebas mayor con la finalidad de comparar y encontrar mejoras en crecimiento y desarrollo, su defensas frente virus, enfermedades entre otros como: Estudio y ensayo con 630 polluelos vacunados, 9 por cada caja, 70 en total, TRT 3,4 y 6 dieta basal + *B. subtilis* variantes no especificadas, pequeñas diferencias entre todo los tratamientos, en crecimiento, desarrollo y formación de grasas, se demuestra que los correspondiente variantes de *B. subtilis* son igual de beneficiosos y algo más baratos en coste total (Dela Cruz, P. J. D. *et al.*, 2019). De otra forma, se buscan los beneficios de los probióticos en las camadas de cerdos mediante la lactancia, con una dieta combinada de diferentes maneras de isomatoligosacáridos (IMO), *Bacillus subtilis* y *B. licheniformis*, demostrando un aumento de las hormonas de crecimiento, inmunoglobulinas A y G, proteínas y en el rendimiento de lactancia, superior rendimiento en combinación de IMO + *B. subtilis* y IMO + *B. subtilis* + *B. licheniformis* en estas características (Gu, X. L. *et al.*, 2019).

Aunque se observa una preferencia por *Bacillus subtilis*, se investigan todo tipos de variedades en *Bacillus* spp (ej. *B. cereus*, *B. pumilus*) para salud humana principalmente pero también en animales de acuicultura y ganadería con propiedades de biocontrol de aguas y contra infecciones bacterianas (ej: *E. coli*) (Jeżewska-Frąckowiak, *et al.*, 2018).

7.- Discusión

En este estudio se busca analizar los resultados de *Bacillus* spp. como probiótico. Este tema conlleva una gran cantidad de pruebas y trabajo, además, se ha extendido en las últimas 2 décadas y al ser tan extenso y con tantas posibilidades se realizan estudios que nos presentan los beneficios y ventajas de los probióticos en humanos y animales de agricultura y acuicultura siendo este último nuestro enfoque de estudio. Siendo este el caso, muchos estudios se enfocan en la recopilación de

probióticos usados y las ventajas que confieren su uso como probióticos, teniendo *Bacillus* spp. muy presente (Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W., 2018).

Uno de los temas es el uso de *Bacillus* spp. en personas y tiene una gran extensión en investigación y estudios que se realizan para el consumo humano, algunos de estos estudios se centran tanto en una misma variante como es *B. coagulans* (Mu, Y., & Cong, Y. 2019) que ha demostrado ventajas frente a mecanismo metabólicos, como la recuperación muscular después de ejercicio intensivo o también resistencias y mejoras contra enfermedades como diarrea (tabla 3).

Otras investigaciones para la agricultura y sus animales son algunos estudios que se centran en aislar bacterias específicas y variantes de las mismas como el caso de *Petromica citrina* que aíslan B555 y B584, B616, *Bacillus* spp. sin especificar (Bastos, J. C. *et al.*, 2013), para ello se necesita tiempo para que se especifique la especie función y que no resulte dañino a largo plazo.

Aunque sea así, el uso de los probióticos en ganadería y acuicultura se encuentra en desarrollo aún, en los últimos años se han desarrollado investigaciones siendo *Bacillus* spp. común y género en auge en este campo, que sigue y en estado de análisis por sus gran variedad de subespecies de *Bacillus*, que se aíslan del propio animal o de otros animales y por sus ventajas frente patógenos, incrementado del desarrollo y crecimiento del animal y crías a costes moderados. Añadir, que los estudios desarrollados *in vitro* quedan a la espera de ser probados y testeados en los animales deseados probando que el uso de los probióticos de *Bacillus* sea el correcto y el esperado en el animal. Añadir que la cuota de mercado de los probióticos está valorada en unos 36.600 millones de dólares estadounidenses en 2015, cifra que se ampliará con un crecimiento CAGR de más del 7 % entre 2016 y 2023 y que Asia-Pacífico será el mayor participante de la industria, ya que representa más del 40% de la industria global siendo India, China y Japón los principales factores que contribuyen en este campo, mientras que tanto India como China también experimente un crecimiento de beneficios máximo en los próximos años (Elshaghabee, F. M. F., *et al.*, 2017). Con la creciente conciencia sobre la salud, el estilo de vida y los crecientes problemas relacionados con los trastornos metabólicos y digestivos y la resistencia de los antibióticos, son factores importantes que contribuyen al aumento de la cuota de mercado de los probióticos (Elshaghabee, F. M. F., *et al.*, 2017). Estimamos entonces que se espera que las investigaciones *in vitro* se lleven a cabo y se refuerce y se continúe con

investigaciones del uso de *Bacillus* spp., variantes de este o subespecies como probióticos en la dieta de los animales de interés ganadero y piscicultura, como en humanos a posteriori.

8.- Conclusión

Estudios dedicados a este tipo de investigación se encuentran en auge, es por eso que algunos estudios están en vilo para ser probados *in vivo*. En este estudio se muestra:

- Se muestran ventajas del uso de *Bacillus* spp. como probiótico con un enfoque en animales de explotación ganadera y acuicultura. Algunas ventajas a resaltar son: actividad antimicrobiana y anti-inflamatoria, reguladora del tracto gastrointestinal, recuperación muscular o leche materna más nutritiva.
- Estudios realizados *in vitro* a espera de ser desarrollados *in vivo* en animales y personas.
- El uso de estos probióticos puede resultar como alternativa a medicinas.
- Futuro desarrollo e investigación de *Bacillus* spp. como probiótico en mayor variedad y formas con posibles cambios en los estudios en un futuro.

9.- Agradecimientos

Doy mis agradecimientos a mi coordinadora por su arduo trabajo y consejos durante la realización del trabajo

10.- Bibliografía

1. Ahuja, K., & Rawat, A. (2019). Global Market Insights, Inc. *Astaxanthin Market to exceed \$800 mn by, 2026*.
2. Avery, S. E., Ruzbarsky, S. P., Hise, A. M., & Schreier, H. J. (2020). Antibacterial Activity of *Bacillus inaquosorum* Strain T1 against *pirABVp*-Bearing *Vibrio parahaemolyticus*: Genetic and Physiological Characterization. *Applied and environmental microbiology*, 86(21), e01950-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01950-20>

3. Bamigbade, G. B., Subhash, A. J., Kamal-Eldin, A., Nyström, L., & Ayyash, M. (2022). An Updated Review on Prebiotics: Insights on Potentials of Food Seeds Waste as Source of Potential Prebiotics. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(18), 5947. <https://doi.org/10.3390/molecules27185947>
4. Bastos, J. C., Kohn, L. K., Fantinatti-Garboggini, F., Padilla, M. A., Flores, E. F., da Silva, B. P., de Menezes, C. B., & Arns, C. W. (2013). Antiviral activity of *Bacillus* sp. isolated from the marine sponge *Petromica citrina* against bovine viral diarrhea virus, a surrogate model of the hepatitis C virus. *Viruses*, 5(5), 1219–1230. <https://doi.org/10.3390/v5051219>
5. Becton, L., Davis, P., Sundberg, P., & Wilkinson, L. (2022). Feed safety collaborations: Experiences, progress and challenges. *Transboundary and emerging diseases*, 69(1), 182–188. <https://doi.org/10.1111/tbed.14297>
6. Bengmark S. (1998). Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, 42(1), 2–7. <https://doi.org/10.1136/gut.42.1.2>
7. Benson, K. F., Redman, K. A., Carter, S. G., Keller, D., Farmer, S., Endres, J. R., & Jensen, G. S. (2012). Probiotic metabolites from *Bacillus coagulans* GanedenBC30™ support maturation of antigen-presenting cells in vitro. *World journal of gastroenterology*, 18(16), 1875–1883. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i16.1875>
8. Bernardeau, M., Lehtinen, M. J., Forssten, S. D., & Nurminen, P. (2017). Importance of the gastrointestinal life cycle of *Bacillus* for probiotic functionality. *Journal of food science and technology*, 54(8), 2570–2584. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2688-3>
9. Biermann, R., & Beutel, S. (2023). Endospore production of *Bacillus* spp. for industrial use. *Engineering in life sciences*, 23(11), e2300013. <https://doi.org/10.1002/elsc.202300013>
10. Bodke, H., & Jogdand, S. (2022). Role of Probiotics in Human Health. *Cureus*, 14(11), e31313. <https://doi.org/10.7759/cureus.31313>
11. Bull, M., Plummer, S., Marchesi, J., & Mahenthiralingam, E. (2013). The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. *FEMS*

12. Chen, Y., Wang, Y., Robertson, I. D., Hu, C., Chen, H., & Guo, A. (2021). Key issues affecting the current status of infectious diseases in Chinese cattle farms and their control through vaccination. *Vaccine*, 39(30), 4184–4189. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.05.078>
13. Dela Cruz, P. J. D., Dagaas, C. T., Mangubat, K. M. M., Angeles, A. A., & Abanto, O. D. (2019). Dietary effects of commercial probiotics on growth performance, digestibility, and intestinal morphometry of broiler chickens. *Tropical animal health and production*, 51(5), 1105–1115. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-01791-0>
14. Dolin B. J. (2009). Effects of a proprietary *Bacillus coagulans* preparation on symptoms of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 31(10), 655–659. <https://doi.org/10.1358/mf.2009.31.10.1441078>
15. Elisashvili, V., Kachlishvili, E., & Chikindas, M. L. (2019). Recent Advances in the Physiology of Spore Formation for *Bacillus* Probiotic Production. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(3), 731–747. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9492-x>
16. El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Patra, A. K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M. A. O., Dhama, K., & Abdel-Latif, H. M. R. (2021). The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & shellfish immunology*, 117, 36–52. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.007>
17. Elshaghabe, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in microbiology*, 8, 1490. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>
18. Fitzpatrick, L. R., Small, J. S., Greene, W. H., Karpa, K. D., Farmer, S., & Keller, D. (2012). *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 limits the recurrence of *Clostridium difficile*-Induced colitis following vancomycin withdrawal in mice. *Gut pathogens*, 4(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-4-13>
19. Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Gramenzi, A. (2016). Probiotics History. *Journal of clinical gastroenterology*, 50 Suppl 2, *Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health*

meeting held in Rome, Italy on September 13-15, 2015,
S116–S119. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000697>

20. Gopikrishna, T., Suresh Kumar, H. K., Perumal, K., & Elangovan, E. (2021). Impact of *Bacillus* in fermented soybean foods on human health. *Annals of microbiology*, 71(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01641-9>
21. Grant, A., Gay, C. G., & Lillehoj, H. S. (2018). *Bacillus* spp. as direct-fed microbial antibiotic alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A.*, 47(4), 339–351. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1464117>
22. Gu, X. L., Song, Z. H., Li, H., Wu, S., Wu, S. S., Ding, Y. N., He, X., Yin, Y. L., & Fan, Z. Y. (2019). Effects of dietary isomaltooligosaccharide and *Bacillus* spp. supplementation during perinatal period on lactational performance, blood metabolites, and milk composition of sows. *Journal of the science of food and agriculture*, 99(13), 5646–5653. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9821>
23. Gupta, V., & Garg, R. (2009). Probiotics. *Indian journal of medical microbiology*, 27(3), 202–209. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.53201>
24. He, Y., Jinno, C., Kim, K., Wu, Z., Tan, B., Li, X., Whelan, R., & Liu, Y. (2020). Dietary *Bacillus* spp. enhanced growth and disease resistance of weaned pigs by modulating intestinal microbiota and systemic immunity. *Journal of animal science and biotechnology*, 11, 101. <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00498-3>
25. Hong, H. A., Duc, leH., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS microbiology reviews*, 29(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.12.001>
26. <https://bioseguridad.net/higienizante/bioseguridad-en-granjas-porcinas-c-omo-llev-ar-una-higiene-adecuada/>
27. Ishibashi, N., & Yamazaki, S. (2001). Probiotics and safety. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2 Suppl), 465S–470S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.465s>
28. Jäger, R., Purpura, M., Farmer, S., Cash, H. A., & Keller, D. (2018). Probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 Improves Protein Absorption

and Utilization. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(4), 611–615.
<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9354-y>

29. Jedrzejak, M. J., & Huang, W. J. (2003). Bacillus species proteins involved in spore formation and degradation: from identification in the genome, to sequence analysis, and determination of function and structure. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 38(3), 173–198. <https://doi.org/10.1080/713609234>
30. Jeżewska-Frąckowiak, J., Seroczyńska, K., Banaszczyk, J., Jedrzejczak, G., Żylicz-Stachula, A., & Skowron, P. M. (2018). The promises and risks of probiotic Bacillus species. *Acta biochimica Polonica*, 65(4), 509–519. https://doi.org/10.18388/abp.2018_2652
31. Keller, D., Van Dinter, R., Cash, H., Farmer, S., & Venema, K. (2017). Bacillus coagulans GBI-30, 6086 increases plant protein digestion in a dynamic, computer-controlled in vitro model of the small intestine (TIM-1). *Beneficial microbes*, 8(3), 491–496. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0196>
32. Kim, S. K., Guevarra, R. B., Kim, Y. T., Kwon, J., Kim, H., Cho, J. H., Kim, H. B., & Lee, J. H. (2019). Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *Journal of microbiology and biotechnology*, 29(9), 1335–1340. <https://doi.org/10.4014/jmb.1906.06064>
33. Kritas, S. K., Marubashi, T., Filioussis, G., Petridou, E., Christodouloupoulos, G., Burriel, A. R., Tzivara, A., Theodoridis, A., & Pískoriková, M. (2015). Reproductive performance of sows was improved by administration of a sporing bacillary probiotic (Bacillus subtilis C-3102). *Journal of animal science*, 93(1), 405–413. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7651>
34. Macedo, M., & Vola, M. (2008). Principales grupos de bacilos Gram positivos aerobios. *línea*. Disponible: http://www.higiene.edu.uy/bacvir/materiales/cefa/2008/grampositivos_aerobios.pdf. [Acceso: Abr. 29, 2021].
35. Maity, C., & Gupta, A. K. (2019). A prospective, interventional, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study to evaluate the efficacy and safety of Bacillus coagulans LBSC in the treatment of

- acute diarrhea with abdominal discomfort. *European journal of clinical pharmacology*, 75(1), 21–31. <https://doi.org/10.1007/s00228-018-2562-x>
36. Majlesi, M., Shekarforoush, S. S., Ghaisari, H. R., Nazifi, S., Sajedianfard, J., & Eskandari, M. H. (2017). Effect of Probiotic *Bacillus Coagulans* and *Lactobacillus Plantarum* on Alleviation of Mercury Toxicity in Rat. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 9(3), 300–309. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9250-x>
37. Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
38. Matsuura, Y., Terashima, S., Takano, T., & Matsuyama, T. (2019). Current status of fish vaccines in Japan. *Fish & shellfish immunology*, 95, 236–247. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.031>
39. Meng, L., Zhang, R., Dong, L., Hu, H., Liu, H., Zheng, N., Wang, J., & Cheng, J. (2022). Characterization and spoilage potential of *Bacillus cereus* isolated from farm environment and raw milk. *Frontiers in microbiology*, 13, 940611. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.940611>
40. Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of applied microbiology*, 124(6), 1334–1346. <https://doi.org/10.1111/jam.13690>
41. Mu, Y., & Cong, Y. (2019). *Bacillus coagulans* and its applications in medicine. *Beneficial microbes*, 10(6), 679–688. <https://doi.org/10.3920/BM2019.0016>
42. Nyangale, E. P., Farmer, S., Cash, H. A., Keller, D., Chernoff, D., & Gibson, G. R. (2015). *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 Modulates *Faecalibacterium prausnitzii* in Older Men and Women. *The Journal of nutrition*, 145(7), 1446–1452. <https://doi.org/10.3945/jn.114.199802>
43. Ozen, M., & Dinleyici, E. C. (2015). The history of probiotics: the untold story. *Beneficial microbes*, 6(2), 159–165. <https://doi.org/10.3920/BM2014.0103>
44. Parker-Lue, S., Santoro, M., & Koski, G. (2015). The ethics and economics of pharmaceutical pricing. *Annual review of pharmacology and*

<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010814-124649>

45. Quigley E. M. M. (2019). Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 17(2), 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.09.028>
46. Setlow P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>
47. Shivaramaiah, S., Pumford, N. R., Morgan, M. J., Wolfenden, R. E., Wolfenden, A. D., Torres-Rodríguez, A., Hargis, B. M., & Téllez, G. (2011). Evaluation of *Bacillus* species as potential candidates for direct-fed microbials in commercial poultry. *Poultry science*, 90(7), 1574–1580. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00745>
48. URL:<https://www.bbva.com/es/sostenibilidad/conoce-los-paises-y-las-regiones-que-practican-la-ganaderia-intensiva/>
49. URL:[World Population Prospects 2022](https://www.un.org/en/development/desa/pop/2022/)
50. Uyeno, Y., Shigemori, S., & Shimosato, T. (2015). Effect of Probiotics/Prebiotics on Cattle Health and Productivity. *Microbes and environments*, 30(2), 126–132. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14176>
51. Várhidi, Z., Máté, M., & Ózsvári, L. (2022). The use of probiotics in nutrition and herd health management in large Hungarian dairy cattle farms. *Frontiers in veterinary science*, 9, 957935. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.957935>
52. Wang, J., Ni, X., Wen, B., Zhou, Y., Liu, L., Zeng, Y., Zhao, W., Khalique, A., Wang, P., Pan, K., Yu, Z., Jing, B., Liu, H., & Zeng, D. (2020). *Bacillus* strains improve growth performance via enhancing digestive function and anti-disease ability in young and weaning rex rabbits. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(10), 4493–4504. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10536-9>
53. Williams N. T. (2010). Probiotics. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of*

Health-System Pharmacists, 67(6), 449–458.
<https://doi.org/10.2146/ajhp090168>

54. Zawistowska-Rojek, A., & Tyski, S. (2018). Are Probiotic Really Safe for Humans?. *Polish journal of microbiology*, 67(3), 251–258.
<https://doi.org/10.21307/pjm-2018-044>
55. Zhang, D., Gao, Y., Ke, X., Yi, M., Liu, Z., Han, X., Shi, C., & Lu, M. (2019). *Bacillus velezensis* LF01: in vitro antimicrobial activity against fish pathogens, growth performance enhancement, and disease resistance against streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Applied microbiology and biotechnology*, 103(21-22), 9023–9035.
<https://doi.org/10.1007/s00253-019-10176-8>
56. Żylicz-Stachula, A., & Skowron, P. M. (2018). The promises and risks of probiotic *Bacillus* species. *Acta biochimica Polonica*, 65(4), 509–519.
https://doi.org/10.18388/abp.2018_2652