



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria

**Uso de probióticos como alternativa sustitutoria de los
antibióticos promotores del crecimiento en cerdos**

TESINA

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Teresa Isabel CABELLO CASAS

ASESORES

Fernando Demetrio CARCELÉN CÁCERES

Teresa Sebastiana ARBAIZA FERNÁNDEZ

Sergio Augusto CUEVA MORENO

Lima, Perú

2009



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cabello T. Uso de probióticos como alternativa sustitutoria de los antibióticos promotores del crecimiento en cerdos [Tesina]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria; 2009.

A Dios

A la memoria de mis padres:

Oscar, por su amor incondicional por haber sido mi mejor amigo, mi confidente, el apoyo constante en mi vida. Tus palabras de aliento las extraño mucho pero tu recuerdo me da la fuerza para continuar.

Teresa, gracias por cuidar de mi desde el cielo. No nos vimos físicamente pero siempre siento que estas a mi lado eres un ángel a quien tengo presente todos los días de mi vida y espero poder encontrarnos al final de esta.

A mi abuelita Isabel Vila

A mi hijo Oscar Fabrizio

AGRADECIMIENTOS:

A mis hermanos Luz María y Oscar Cabello R. y a su mamá. Ninguna familia es perfecta, ningún ser humano lo es. Dios nos hizo con defectos y virtudes, nos puso, pone y pondrá pruebas difíciles; pero es tan misericordioso que finalmente nos brinda el don del perdón.

A la nueva familia que he formado: a Justo por demostrarme que las cosas que hacen felices a las personas no son siempre materiales. A sus padres Flora y Justo Félix por el cariño y amor que demuestran a su nieto y a mi persona.

A mis amigos Lilian Cruz y Henry González gracias por su amistad a lo largo de los años, por acompañarme en muchos momentos importantes en mi vida; por dejarme compartirles mis alegrías y tristezas y también compartir las suyas. No puedo dejar de mencionar a Lucero, Janet, Sivi, Astrid gracias por ser amigas y estar dispuestas a escuchar y ser escuchadas.

Al Dr. Fernando Carcelén por ser mi Tutor para el desarrollo de la presente tesina. A los doctores Teresa Arbaiza, Sergio Cueva, Dra. Rosa González y M.V. Josmel Pacheco por su asesoría para desarrollar y mejorar este trabajo.

A los demás compañeros de Facultad y a todos los profesores que son una fuente de inspiración constante para mi: Dra. Norma Noé Mocseti, Dr. Diego Díaz Coahila, Dr. Alfonso Chavera, Dra. Rosa Perales, Dr. Armando González, Dr. Víctor Fernández, el recordado Dr. Montoya y aquellos de los que tuve la suerte de ser alumna. Mi especial agradecimiento al Dr. Néstor Falcón quien se dio un tiempo en la UPCH y pude hacer menos tediosa parte de mi búsqueda bibliográfica.

A las estimadas Sras. Lirida, Rosalia, Consuelo, todos los trabajadores administrativos y de apoyo de la Facu Jorge, Jaime, Gianina, Miluska, el señor Victoriano a quienes aprecio y estimo mucho. A la Señora María por la alimentación.

Finalmente, a Dios no sólo le dedico el presente trabajo sino que le doy gracias por todos los días de mi vida, por los momentos buenos y los malos y por haberme dado la dicha de ser madre.

INDICE GENERAL

	Pág.
Indice General.....	i
Relación de cuadros.....	iii
Relacion de figuras.....	Iv
I INTRODUCCION	1
II REVISION DE LITERATURA	3
2.1 MICROBIOTA BACTERIANA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL (TGI)	3
2.1.1 Desarrollo de la microbiota bacteriana del TGI	4
2.1.2 Localización de la microflora intestinal	6
2.1.3 Microbiota de los distintos tramos del TGI	7
a. Estomago	7
b. Intestino delgado	8
c. Intestino grueso	8
2.1.4 Interacción microbiana-hospedador	9
2.2 ANTIBIOTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO(APC)	10
2.2.1 APC y su relación con la microbiota bacteriana del TGI	11
2.2.2 Beneficios obtenidos por la utilización de APC en dietas para animales	12
2.2.3 La prohibición de los APC en la Unión Europea	16
2.3 ALTERNATIVAS AL USO DE LOS APC	19
2.4 PROBIOTICOS	20
2.4.1 Probióticos y alimentación funcional	21
2.4.2 Microorganismos utilizados como probióticos	22
2.4.3 Mecanismos de acción de los probióticos	24
2.4.3.1 Exclusión competitiva	26
2.4.3.2 Producción de sustancias antibacterianas y enzimas	26

	2.4.3.3	Estímulo al sistema inmune	26
	2.4.3.4	Efecto nutricional	27
	2.4.3.5	Supresión de la producción de amonio	28
	2.4.4	Composición y administración de probióticos	29
	2.4.5	Obtención y conservación de cepas probióticas	30
2.5		USO DE PROBIOTICOS EN CERDOS	31
	2.5.1	Microorganismos usados como probióticos en cerdos	32
	2.5.1.1	Bacterias	34
		<i>Lactobacillus spp.</i>	34
		<i>Bacillus spp</i>	
	2.5.1.2	Levaduras	39
	2.5.2	Uso de Probióticos en Marranas y Lechones	
	2.5.3	Uso de Probióticos en Gorrinos en crecimiento	
III		CONCLUSIONES	46
IV		BIBLIOGRAFIA CITADA	48

RELACION DE CUADROS

Cuadro 1. Antibióticos utilizados para promover el crecimiento en la alimentación animal, clasificados de acuerdo al tipo de sustancias y mecanismo de acción.....	12
Cuadro 2. Resumen de los beneficios obtenidos en la producción animal por el empleo de distintos antibióticos promotores del crecimiento.....	14
Cuadro 3. Resumen de la influencia de bacterias probióticas en la flora gastrointestinal de los cerdos.....	33
Cuadro 4. Consumo de alimento y ganancia de peso vivo en marranas y lechones en fase de lactación.....	42
Cuadro 5. Tamaño de camada y peso al nacimiento de lechones provenientes de marranas con y sin suplementación de probióticos durante las tres semanas previas al parto.....	44
Cuadro 6. Morbilidad de lechones	44

I. INTRODUCCIÓN

El fin de la tecnología utilizada en la industria porcina actual es el de optimizar la producción animal a fin de lograr mejores resultados económicos y a la vez producir un alimento seguro y saludable para los consumidores. Por este motivo, la industria de la alimentación animal está atravesando por cambios significativos con el fin de adaptarse a las nuevas demandas tanto del mercado de consumo como de la legislación pertinente.

Los aditivos antimicrobianos se han utilizado como promotores del crecimiento animal desde la década de 1940. Su uso a niveles sub-terapéuticos se convirtió en una práctica común durante muchos años siendo una alternativa importante para permitir un adecuado curso en la productividad de animales criados en condiciones cada vez más intensivas. La creciente presión para prohibir el uso de *antibióticos como promotores de crecimiento (APC)* en la alimentación animal se basa en la posibilidad de inducción de resistencia cruzada a bacterias patógenas para los seres humanos y a reacciones alérgicas debido a la presencia de residuos en carne, leche y huevos.

Muchos antibióticos promotores del crecimiento han sido prohibidos en la alimentación animal y la búsqueda de alternativas naturales para mejorar los parámetros productivos en los modernos sistemas de producción se está convirtiendo en un reto importante. Dentro de este contexto, se comenzó a formar un nuevo concepto de aditivo dentro de la comunidad científica internacional, que podría sustituir a los APC sin alterar la flora intestinal normal

y sin dejar residuos en la carne y otros productos animales. Entre las alternativas de reemplazo a los APC tenemos la adición de altos niveles de minerales a la dieta, el empleo de ácidos orgánicos e inorgánicos, enzimas, probióticos, prebióticos y extractos de plantas, entre otros.

Los suplementos probióticos son aditivos alimenticios a base de microorganismos vivos que afectan positivamente la salud del animal hospedador, promoviendo el equilibrio de la microflora intestinal. Una de las principales ventajas del uso de los probióticos en comparación a los antibióticos es la ausencia de la resistencia bacteriana, representando esto un factor importante en relación con los riesgos de salud pública y la seguridad de los productos finales.

Por este motivo se tomo a bien realizar el presente trabajo teniendo como objetivo la revisión de la literatura sobre el empleo de probióticos como alternativa al uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC) en cerdos con la finalidad de tener un mayor conocimiento del mismo.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. MICROBIOTA BACTERIANA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL (TGI)

El tracto gastrointestinal de los vertebrados es el hogar de una vasta colección microbiana, la mayoría de ellas especies bacterianas, las cuales son denominadas “microbiota intestinal” (Walters, 2008). Esta microbiota se caracteriza por su alta densidad y diversidad. El colon y ciego humano contiene por lo menos 400 especies bacterianas diferentes, con un número tan alto como 10^{10} o 10^{11} bacterias cultivables/g de heces. En el cerdo y otros animales se han reportado valores similares. Más de 50 géneros y al menos 500 a 1000 especies bacterianas diferentes, están distribuidas a lo largo del tracto gastrointestinal del cerdo. Estas bacterias están en constante interacción unas con otras y con el hospedador, comprendiendo un ecosistema muy complejo de los que comparativamente se sabe poco. (Savage, 1977; Mackie y White, 1997).

Bajo condiciones fisiológicas normales, la colonización del tracto gastrointestinal de los monogástricos comienza en el íleon inferior; aquí las bacterias viven de nutrientes residuales y células muertas desprendidas del epitelio intestinal, formando productos de fermentación inocuos. En el estado de *eubiosis* o equilibrio ecológico, más del 90% de la flora intestinal del cerdo está representada por bacterias ácido lácticas anaerobias facultativas homofermentativas o anaerobias estrictas heterofermentativas del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y de bacilos anaerobios productores

exclusivamente de ácido butírico y otros formadores de ácidos grasos volátiles del género *Bacteroides*, *Fusobacterium* y *Eubacterium* (Hoyos, 1990).

El otro 10% de la población bacteriana del tracto gastrointestinal del cerdo está constituida por otras especies bacterianas tales como *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, etc., que en condiciones de estrés son capaces de proliferar pudiendo causar enfermedades (Allison *et al.*, 1979).

Hace ya varias décadas se vienen usando métodos convencionales de tipificación bacteriana basados principalmente en el cultivo para caracterizar la microbiota intestinal del cerdo. Recientemente, las nuevas técnicas en biología molecular están permitiendo la detección de especies microbianas que son difíciles o imposibles aún de cultivar por métodos biológicos convencionales (Vaughan *et al.*, 2000; Tannock, 2001).

2.1.1. Desarrollo de la microbiota bacteriana del Tracto Gastrointestinal (TGI)

En el animal sano, las superficies externas e internas están recubiertas por microorganismos que constituyen su microbiota natural. Se considera que el TGI del neonato durante la vida intrauterina permanece estéril (Berg, 1996), comenzando la colonización del tubo digestivo a las pocas horas del nacimiento a partir de la microbiota de la vagina, del intestino y la piel de la madre, así como del ambiente en general (Rotimi y Duerden, 1981; Delbecque, 1991; Salminen *et al.*, 1999).

La colonización es un proceso complejo de selección natural y sucesión ecológica. Esta va a depender de diversos factores, algunos de los cuales son originarios del hospedador, tales como el genoma y la fisiología del animal, mientras que otros son de origen microbiano (interacciones entre especies bacterianas) (Konstantinov *et al.*, 2004). Durante las primeras semanas de vida, la sucesión microbiana en el TGI de los cerdos es notablemente similar

con otras especies (Moughan *et al.*, 1992), aunque las especies animales generalmente son expuestas a un mayor número de bacterias fecales de las fuentes y el medio ambiente, en comparación con los seres humanos.

El TGI del neonato es rápidamente colonizado por bacterias aerobias y bacterias anaerobias facultativas. Estudios en humanos han indicado que, en general, los seres humanos son inicialmente colonizados por especies con un alto potencial de reducción (por ejemplo, *Enterobacter*). Estas bacterias metabolizan oxígeno, fomentando indirectamente el crecimiento de bacterias anaerobias incluyendo los lactobacilos y bífidobacterias, bacteroides y clostridios (Mackie *et al.*, 1999; Teitelbaum y Walker, 2002).

En el caso de los mamíferos, bacterias aerobias y anaerobias facultativas incluyendo *Escherichia coli*, lactobacilos y estreptococos, empiezan a colonizar el TGI inmediatamente después del nacimiento, en números bajos de entre 10^2 y 10^5 UFC (unidades formadoras de colonia) por ml de ingesta y se incrementan rápidamente. Luego, entre 5 a 6 horas después del nacimiento las heces de los animales ya presentan una población de 10^9 a 10^{10} UFC por gramo de heces (Tannock, 1995). Pedersen y Tannock (1989) reportaron que el número de lactobacilos en el esófago, estómago, duodeno, yeyuno e íleon de lechones se incrementaba 10 veces entre el día 1 y 10 después del nacimiento.

Una vez establecida, la microbiota del TGI normal está compuesta por dos grupos: la microbiota autóctona y la microbiota transitoria. La microbiota autóctona de una determinada especie animal constituida por microorganismos que habitan en todos los integrantes de esa comunidad. La microbiota transitoria está formada por microorganismos no siempre presentes en todos los individuos de la comunidad. En general la microbiota transitoria proviene del agua, los alimentos y de otras partes del cuerpo, pero utiliza el TGI sólo en forma temporal (Tannock, 1995; Berg, 1996).

2.1.2. Localización de la microflora intestinal

Distintas comunidades de microorganismos pueblan el lumen, el epitelio, o las criptas de Lieberkühn en cualquier parte del TGI según las diferentes especies animales (Savage, 1977; Lee, 1985). Algunos otros microorganismos se hallan en el epitelio columnar del intestino delgado (Koopman *et al.*, 1987).

El lumen puede colonizarse únicamente cuando la velocidad de paso de los alimentos no exceda del tiempo necesario para la multiplicación de los microorganismos. Por el contrario, la superficie epitelial es asiento de esa multiplicación, independientemente del flujo intestinal, ya que los gérmenes se adhieren a las estructuras del epitelio o bien se encuentran suspendidos en las secreciones producidas por las células epiteliales (Savage, 1979). Así, la microflora de un determinado segmento del tracto digestivo puede ser diferente según se considere la flora intestinal o la flora epitelial, incluso la flora que coloniza ciertos nichos ecológicos, como por ejemplo las criptas de la mucosa (Savage, 1977).

La adhesión de las bacterias a la superficie intestinal parece proporcionar un buen sistema para las bacterias entéricas, resistiendo las adversas condiciones de un medio en movimiento. Donaldson en 1973 afirmó que los movimientos peristálticos representan uno de los factores más importantes en el control de la adherencia al epitelio y de la multiplicación bacteriana. En condiciones fisiológicas normales, la colonización intestinal es más importante donde existe un período de estasis prolongado (ciego), y más débil donde la motilidad es más activa (duodeno - yeyuno)

Según Mackowiak (1982), la adherencia a la mucosa intestinal se efectúa con la colaboración imprescindible de las denominadas adhesinas, estructuras antigénicas de superficie que se presentan habitualmente en forma de filamentos llamados *fimbrias*, capaces de unirse a receptores específicos de las membranas celulares. Sin embargo, para Ducluzeau y Raibaud (1979), en

muchos casos, las bacterias aparecen simplemente suspendidas en el moco, e incluso no llegan a tener relación especial con la mucosa.

Se puede afirmar que entre el peristaltismo y la flora intestinal existe una relación recíproca, de manera que si bien el peristaltismo intestinal es uno de los factores que controla las poblaciones microbianas, éstas a su vez estimulan la motilidad intestinal. De este modo, es fácil comprender que en el animal axénico, la velocidad de tránsito esté disminuida en todos los tramos del tubo digestivo (Ducluzeau y Raibaud, 1979). Por lo tanto, la colonización intestinal por los microorganismos indígenas es un proceso complejo, afectado por múltiples factores, que requiere profundas investigaciones sobre los mecanismos de adhesión y los determinantes genéticos (Lee, 1985). Pedersen y Tannock (1989) consideran la adhesión epitelial como el factor clave en el éxito de la colonización.

2.1.3. Microbiota de los distintos tramos del TGI

Los alimentos una vez ingeridos, recorren un largo camino desde el estómago al recto a través del duodeno, yeyuno e íleon, llegando al colon ascendente, transversal y descendente del intestino grueso. Para muchos microorganismos este largo recorrido constituye un ambiente hostil, donde factores diversos son capaces de evitar o destruir las bacterias indeseables. Entre estos factores se incluyen: el jugo gástrico, la bilis, los ácidos grasos, los ácidos orgánicos, la lisozima, los antibióticos y el propio peristaltismo intestinal (Mc Donald, 2006)

a. Estómago

En el área gástrica, la mayoría de los microorganismos probablemente tengan carácter transitorio, si bien ciertas clases de gérmenes se consideran indígenas. Así, algunas especies de *Lactobacillus* llegan a alcanzar un alto nivel de población (10^9 UFC/g de mucosa), pudiendo observarse

microscópicamente en el epitelio escamoso de las zonas no secretoras (*pars oesophagea*) del estómago del ratón (Savage, 1979) y del cerdo (Tannock, 1995). Levaduras del género *Torulopsis* se han aislado del epitelio de las porciones secretoras del estómago del cerdo (Savage, 1969).

En resumen, puede indicarse que la microflora gástrica de numerosas especies de animales monogástricos está compuesta principalmente por levaduras y bacterias gram-positivas.

b. Intestino delgado

Del mismo modo que en el estómago, la mayor parte de las bacterias presentes en el intestino delgado son transitorias, especialmente en los dos tercios anteriores donde el peristaltismo es más rápido que la velocidad de multiplicación microbiana (Savage, 1977).

Muchos investigadores indican que el número de bacterias en duodeno y yeyuno no excede, normalmente, de 10^4 a 10^5 UFC/g de contenido intestinal, con predominio de las especies aerobias-anaerobias facultativas, donde predominan los estreptococos (Dickman *et al.*, 1975).

c. Intestino grueso

Las especies bacterianas que predominan en la composición de su flora son las especies anaerobias estrictas. En general, se observan diferencias cuantitativas y cualitativas en función de la localización de la muestra extraída, especialmente cecal o cólica.

El ciego y colon del cerdo (Allison *et al.*, 1979), de los roedores (Savage, 1977) y los ciegos de los pollos (Salanitro *et al.*, 1974) contienen elevadas cantidades de microorganismos ($>10^{11}$ UFC/g). Estas poblaciones están compuestas fundamentalmente por bacterias gram-positivas y gram-negativas, predominando estas últimas en el ciego.

En conclusión, podemos indicar que la flora que coloniza el estómago es muy distinta de la localizada en la parte final del intestino delgado o del intestino grueso. Sin embargo, puede señalarse que en términos cuantitativos existe, en general, una graduación creciente en el sentido oral-anal.

2.1.4 Interacción microbiana-hospedador

La microflora indígena otorga muchos beneficios a la fisiología intestinal del hospedador y, por lo tanto, es un ejemplo de una verdadera relación simbiótica (Hooper y Gordon, 2001). Algunos de estos beneficios incluyen el metabolismo de nutrientes, sustratos orgánicos y contribución al fenómeno de resistencia a la colonización de microorganismos exógenos (Berg, 1996).

Los efectos que la microflora intestinal ejerce sobre el hospedador han sido bastante estudiados principalmente en ratones de laboratorio, comparando animales libres de gérmenes (gnotobióticos) criados en medios ambientes estériles, con animales criados en ambientes convencionales. Dichos estudios demostraron que los cambios anatómicos, fisiológicos y bioquímicos ocurridos en el tejido intestinal son atribuidos a la presencia de la microflora (Gordon y Pesti, 1971).

Muchos resultados señalan que las bacterias de la flora intestinal tienen un rol determinante en el desarrollo morfológico, función y maduración del intestino. Existen importantes cambios morfológicos intestinales en la ausencia de la microbiota: una masa intestinal disminuida, menor longitud y grosor de la pared intestinal, agrandamiento del ciego y una capa mucosa muy delgada. A nivel histológico, la ausencia de microbiota está correlacionada a vellosidades intestinales más finas y criptas más pequeñas (Lesson *et al.*, 1990). Hay evidencia de estudios realizados en animales libres de gérmenes, que demuestran un pobre nivel de producción de IgA, así como también desarrollo tardío de las células linfocíticas y otras células del sistema inmune en la lámina propia intestinal debido a la ausencia de microflora (Gordon y Pesti, 1971; Umesaki *et al.*, 1999).

Kurzak *et al.* (1998) indica que la composición y el metabolismo de la microbiota intestinal afectan el desarrollo de los animales de granja de diferentes formas, en especial los animales jóvenes que están sometidos al estrés ambiental. Este efecto es producido mediante tres mecanismos: la competencia por nichos específicos, los nutrientes y la producción de compuestos bactericidas o bacteriostáticos (Fuller, 1989; Blum *et al.*, 1999).

La microflora bacteriana segrega nutrientes que se encuentran disponibles para el uso y aprovechamiento directo por el hospedero. Estos nutrientes incluyen: ácidos grasos de cadena corta, aminoácidos, vitaminas B y K (Dibner y Richards, 2005)

2. 2. ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO (APC)

Los antibióticos son compuestos químicos que administrados en pequeñas cantidades impiden el crecimiento de las bacterias. Se obtienen a partir de otros microorganismos, por ejemplo hongos, aunque también se pueden sintetizar en el laboratorio (McDonald *et al.*, 2006).

El empleo de antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento de los animales comenzó en 1946, cuando fue observada una sustancial respuesta en el crecimiento de pollos como respuesta a la inclusión de estreptomicina en el alimento (Moore *et al.*, 1946).

En los años 50, fueron realizados estudios en aves y cerdos con dietas suplementadas con antibióticos, en los cuales se confirmó la respuesta significativa en el crecimiento del animal debido al empleo de antibióticos en el alimento (Whitehill *et al.*, 1950). Durante ese período de tiempo, la producción animal cambió rápidamente de sistemas de producción de baja productividad, alta morbilidad y en semilibertad a sistemas intensivos de producción animal más controlados y estabulados. De forma paralela, las demandas de alimento se incrementaron durante el período de la post-guerra, por lo que el descubrimiento de un inesperado acelerador de crecimiento recibió un especial

interés y entusiasmo por la comunidad científica y por el público en general (Jukes, 1972).

Muchos antibióticos son utilizados dentro de los sistemas de producción intensiva con dos principales objetivos; primero con fines terapéuticos para mejorar la salud y el bienestar animal y segundo con un fin profiláctico para mejorar el crecimiento y la eficiencia alimenticia del animal (Jones y Ricke, 2003; Dibner y Richards, 2005). En el Cuadro 1 se mencionan algunos ejemplos de antibióticos utilizados como APC clasificándolos de acuerdo al tipo de sustancia activa y a su mecanismo de acción.

Actualmente, los antibióticos empleados como promotores del crecimiento en alimentos para animales han sido prohibidos dentro de los países pertenecientes a la Unión Europea (UE); sin embargo, el resto de países no pertenecientes a la UE continúa utilizando diversos APC en los alimentos para animales para llevar a cabo esta finalidad.

2.2.1. APC y su relación con la microbiota bacteriana del TGI

La microbiota presente en el tracto digestivo de animales es un conjunto de una gran variedad de microbios de los cuales las bacterias son las predominantes (Savage, 1977).

Los antibióticos utilizados en las dietas para animales aparentemente ejercen su acción en la modificación y reducción de la microbiota intestinal, y de manera significativa, sobre el control de las bacterias gram-positivas que frecuentemente están asociadas con los problemas de salud y baja productividad animal. Debido a este efecto, la respuesta o eficacia de los APC para mejorar la productividad animal puede depender de diversos factores como el tipo de dieta empleada y las condiciones de higiene en las cuales son mantenidos los animales (Rosen, 1995; Bedford, 2000).

Cuadro 1. Antibióticos utilizados para promover el crecimiento en la alimentación animal, clasificados de acuerdo al tipo de sustancias y mecanismo de acción.

GRUPO	SUSTANCIAS		MECANISMO DE ACCION
Glicopéptidos	Avoparcina	Vancomicina	Inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana, al evitar el proceso de transglucosilación bacteriana.
	Ardacina	Teicoplanina	
	Bambermicina	Daptomicina	
Ionóforos	Monensina	Lasolacid	Disgregación de la membrana citoplasmática bacteriana.
	Salinomicina	Narasina	
		Maduramicina	
Macrólidos	Tilosina	Eritromicina	Inhibición de síntesis protéica, por estallido del ribosoma bacteriano.
	Espiramicina	Azitromicina	
	Kitasamicina	Claritromicina	
	Oleandomicina		
Ortosomicinas	Avilamicina	Everninomicina	Inhibición de síntesis proteica, evita la elongación bacteriana.
Fosfo-glicolípidos	Flavomicina		Inhibición de síntesis de la pared celular bacteriana, al evitar el proceso de transglucosilación.
Polipéptidos	Bacitracina		Inhibición de síntesis de la pared celular bacteriana, al evitar el proceso de transglucosilación.
Quinolonas	Olaquinox		Inhibe la síntesis de ADN bacteriano.
	Carbadox	Ciadox	
Estreptograminas	Virginiamicina	Pristamicina Quinupristina- dalfopristina.	Inhibición de síntesis proteica, por estallido del ribosoma bacteriano.

(Modificado de Witte, 1996)

2.2.2. Beneficios obtenidos por la utilización de Antibióticos Promotores del crecimiento (APC) en dietas para animales

El efecto antimicrobiano de los APC suministrados en raciones a los animales puede representar grandes beneficios en su salud y productividad (Page, 2005). En el Cuadro 2 están resumidos algunos de los beneficios de la utilización de diferentes antibióticos promotores del crecimiento en diferentes especies de animales de producción. Como puede observarse, los efectos ejercidos por la utilización de APC no sólo involucran efectos directos sobre la productividad del animal sino adicionalmente ciertos procesos metabólicos pueden verse favorecidos.

Por otro lado, la utilización de APC puede brindar beneficios en términos de una reducción en la liberación de algunos contaminantes al medio ambiente y sobre el control de la presentación de algunas enfermedades como la diarrea post-destete, así como otros procesos metabólicos.

En un estudio realizado por Rosen en 1995 sobre los efectos del uso de antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación de diferentes especies animales, se encontró que el aumento en la ganancia de peso era significativa para todas las especies incluidas en el estudio: broilers, ponedoras, pavos, lechones, cerdos en engorde y en acabado, siendo el mayor porcentaje de ganancia de peso en la especie porcina, llegando a lograr aumento de hasta un 15% en la ganancia de peso en lechones. Igualmente se logró una mejora en el Índice de Conversión alimenticia siendo la especie porcina la más beneficiada por el uso de antibióticos promotores del crecimiento en la dieta, principalmente en la etapa de lechones.

Cuadro 2. Resumen de los beneficios obtenidos en producción animal por el empleo de distintos antibióticos promotores del crecimiento (USDA, 1999)

Beneficio	Antibióticos empleados en alimentación animal								
Medio ambiental (Reducción)									
Emisión de metano (Rumiantes)			Bambemicina	Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina	Tilosina	Virginiamicina
Excreción de nitrógeno	Avilamicina	Bacitracina	Bambemicina	Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina	Tilosina	Virginiamicina
Eliminación de fósforo				Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		Virginiamicina
Productividad (incremento)									
Ganancia de peso	Avilamicina	Bacitracina	Bambemicina	Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina	Tilosina	Virginiamicina
Eficiencia alimenticia	Avilamicina	Bacitracina	Bambemicina	Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina	Tilosina	Virginiamicina
Rendimiento de la canal	Avilamicina		Bambemicina						
Supervivencia y crecimiento de lechones							Salinomicina		Virginiamicina
Producción Láctea (vacas)				Lasolacid	Monensina				Virginiamicina
Enfermedades (control)									
Enteritis necrótica (aves)	Avilamicina	Bacitracina		Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		Virginiamicina
Enteritis por clostridia (cerdos)							Salinomicina		Virginiamicina
Enteropatía ploriferativa (cerdos)	Avilamicina	Bacitracina			Monensina		Salinomicina	Tilosina	Virginiamicina
Disteneria porcina							Salinomicina		Virginiamicina
Neumonía aguda (bovinos)				Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		
Coccidiosis (becerros y cabras)				Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		
Toxoplasmosis (ovejas)					Monensina				
Trastornos metabólicos y fermentativos (prevención)									
Acidosis láctica				Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		Virginiamicina
Laminitis				Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		Virginiamicina
Cetosis					Monensina				
Timpanismo ruminal				Lasolacid	Monensina				
Otros (mejora)									
Tolerancia al calor	Avilamicina			Lasolacid	Monensina	Narasina	Salinomicina		Virginiamicina
Calidad de las camas (pollos de engorde)	Avilamicina								Virginiamicina

Se conoce que las bacterias que colonizan la pared intestinal del tracto digestivo utilizan los componentes de la dieta, reducen la digestión y absorción de nutrientes, particularmente lípidos, al degradar algunas enzimas digestivas y en el caso de los lípidos por desconjugación de los ácidos biliares (Philips y Fuller 1983; Langhout *et al.*, 2000). Como consecuencia, el hospedador incrementa la producción de enzimas digestivas, el peso del páncreas y del intestino para digerir y competir por los nutrientes de la ración (Brenes *et al.*, 1993; Angkanaporn *et al.*, 1994).

En una situación de excesiva proliferación bacteriana en el tracto digestivo del animal, pueden ocurrir diversas situaciones que interfieran con su fisiología digestiva, así se tiene: incremento de la respuesta inmunológica que puede desencadenar inflamación (Taylor, 2001), incremento de la secreción de moco y de la tasa de renovación del epitelio digestivo, por la acción de poliamidas producidas durante el metabolismo bacteriano (Noack *et al.*, 1996), incremento de la velocidad de migración de los enterocitos inmaduros al ápice de la vellosidad intestinal que puede mermar los procesos de digestión y absorción de nutrientes (Silva y Smithard, 1996), e incremento en la producción de calor debido a una mayor fermentación bacteriana de sustratos (Teeter *et al.*, 2003).

De acuerdo a Teeter *et al.* (2003), los gastos en energía del hospedador para transformar o eliminar las sustancias tóxicas del metabolismo bacteriano, podrían ser de 242 Kcal EM/kg. Por lo tanto, el control o reducción de la microbiota del tracto digestivo del huésped por la acción de los APC, podría evitar los efectos nocivos de las bacterias y proporcionar beneficios directos o indirectos al hospedador a distintos niveles (Richards *et al.*, 2005):

- a) *Mejor estado de inmunocompetencia.* La reducción de microorganismos patógenos puede reducir la ocurrencia de enfermedades clínicas, subclínicas o procesos inflamatorios que generarían un gasto inmunológico para el animal.

- b) *Reducción de los metabolitos microbianos que deprimen el crecimiento.*
Se sabe que algunos productos del metabolismo microbiano (como el NH₃ y el ácido láctico) aumentan la tasa de división celular de los enterocitos, lo cual consume energía, altera la barrera intestinal, favorece la translocación bacteriana e inhibe la máxima absorción de nutrientes.
- c) Menor competición por el uso de los nutrientes con los microorganismos.
- d) Favorecer la absorción y utilización de los nutrientes a través de una pared intestinal más delgada.

En estudios realizados para evaluar los efectos globales del empleo de APC en alimentación de pollos y cerdos, mantenidos bajo diversas condiciones o ambientes, se sugiere una mejora en el índice de conversión de aproximadamente +3%, con un rango de 0 a 5% (Rosen, 1995; Thomke y Elwinger, 1998). Incluso, se ha sido sugerido que el efecto de la utilización de APC en la reducción del índice de conversión del alimento y en la mejora de la digestibilidad del pienso puede ser reflejado de forma directa en la reducción de excreciones al medio ambiente (Thomke y Elwinger, 1998).

2.2.3. La prohibición de los APC en la Unión Europea

Los cambios ocurridos recientemente en los sistemas de producción animal de los países pertenecientes a la Unión Europea (UE) son debidos al temor de la posible relación entre la utilización de APC en la industria pecuaria y la aparición de ciertos microorganismos resistentes a antibióticos empleados en la terapéutica humana. Diversas crisis en seguridad alimentaria sufridas en la industria de la producción animal de estos países, por ejemplo la encefalomiелitis espongiforme bovina (enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en el hombre), contaminación por dioxinas y otros accidentes han tomado parte importante en el establecimiento de estas nuevas medidas (Brufau, 2000).

Actualmente, la sensibilidad del consumidor hacia los productos de origen animal se ha incrementado y la preferencia por productos de mejor calidad y producidos de forma más natural es cada vez más frecuente (Brufau, 2000; Halfhide, 2003). De hecho, la posibilidad de que bacterias resistentes del tracto digestivo de animales puedan servir como reservorio y causar la diseminación de microorganismos resistentes a antibióticos empleados en terapéutica humana continua siendo dudosa (Phillips *et al.*, 2004).

Probablemente, la decisión de la prohibición de los APC dentro de la UE ha sido basada sobre un principio de precaución o del manejo del riesgo, donde no sólo el factor científico ha sido el más determinante, sino además, otros factores como el análisis riesgo-beneficio, sociales, financieros y éticos han sido tomados en cuenta para adoptar estas medidas (Chesson, 2005; Wegener, 2005).

Ya en 1969 surgían las primeras alarmas sobre la preocupación de la presencia de resistencias bacterianas y su relación con el uso de APC en dietas para animales. En ese año se publicó el informe británico de Swann (Swann Committee Report, 1969) en el cual se alertaba sobre el posible riesgo potencial de la selección de bacterias resistentes en animales y que éstas pudieran posteriormente pasar al ser humano. Dichas recomendaciones consideraban que no se utilizarían como APC promotores de crecimiento aquellos que pudieran ser empleados en terapéutica humana o antibióticos que mostraran mecanismos de resistencias cruzadas. Además se especificó que los antibióticos que fueran utilizados en terapéutica humana o animal, entre ellos las tetraciclinas o β -lactámicos, serían retirados de su empleo como APC en el pienso para animales.

En 1970 se publica la directiva 70/524 sobre el uso de aditivos en la alimentación animal dentro de la Comunidad Económica Europea. La directiva estableció que solamente podrían ser empleados como APC aquellas sustancias que tuvieran un efecto demostrado en el crecimiento animal, que fueran activas frente a bacterias gram-positivas y que no se absorbieran a

escala digestiva para prevenir la presencia de residuos en la carne. Hacia mediados de los noventa, en diversos países europeos se aislaron cepas bacterianas de *Enterococcus spp.* resistentes a la vancomicina a partir de muestras de alimentos, aguas residuales, heces de humanos y de animales sanos (Bates *et al.*, 1994; Robredo *et al.*, 2000).

Los aislamientos de *Enterococcus* resistentes representaban un riesgo para la salud humana ya que la vancomicina constituye una alternativa terapéutica viable para el tratamiento de infecciones graves a causa de *Enterococcus* multi-resistentes, microorganismos presentes en la flora microbiana normal del tracto digestivo de humanos y animales, y que frecuentemente se encuentran implicados en infecciones graves en humanos. En contraste, en los Estados Unidos de América (EUA), se aislaban cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina en muestras clínicas humanas y no en muestras medioambientales, alimentarias o en contenidos intestinales (Murray, 2000). Se planteó la posibilidad de que el uso de avoparcina como APC, autorizado en Europa hasta 1997 pero nunca autorizado en los EUA, pudiese haber contribuido a la selección de cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina en animales.

Otro ejemplo relevante fue el emergente aislamiento de bacterias patógenas (*Salmonella* y *Campylobacter*) resistentes a las fluoroquinonas o, en concreto, a la ciprofloxacina, observado en los EUA. No obstante, en otros países donde el uso de fluoroquinonas no había sido aprobado para su uso en alimentos para animales o era desalentada esta aplicación, se presentaban problemas de resistencia con el uso de ciprofloxacina en humanos (Smith *et al.*, 1999).

En 1995, Suecia se une a la UE y mediante el Tratado de Adhesión se le permite prohibir el uso de APC hasta finales de 1998. Durante este período otros estados miembros de la UE (Dinamarca, Alemania y Finlandia), impusieron cláusulas de protección contra ciertos antibióticos como avoparcina, tilosina, espiramicina y virginamicina, que eran autorizados en alimentación

animal como APC. Al finalizar 1998, el Consejo de Ministros de la UE, suspendió la autorización como aditivos del fosfato de tilosina, espiramicina, bacitracina de zinc y virginamicina.

En 1999, el Comité Científico de Dirección (Scientific Steering Committee o SSC por sus siglas en inglés) de la Comisión Europea, publicó su opinión sobre la resistencia hacia los antimicrobianos, considerando 4 componentes ecológicos para la transferencia de resistencia a antimicrobianos: 1) humanos, 2) animales, 3) plantas y 4) mantos freáticos, siendo los factores comunes entre estos los antimicrobianos, bacterias y los genes que codifican la resistencia.

En el 2003, el diario oficial de la UE publicó la regulación No. 183/2003iii sobre los aditivos empleados en nutrición animal, estableciendo que los antibióticos usados para promover el crecimiento en alimentación animal ya no serían permitidos a partir del 1 de enero del 2006.

2.3. ALTERNATIVAS AL USO DE LOS APC

Dentro de las principales prácticas descritas para afrontar las posibles pérdidas en la eficiencia productiva de los animales cuando los APC no sean utilizados en sus dietas, estarían aquellas encaminadas a mejorar las condiciones de bienestar y de salud del animal:

- a) Un mejor manejo de los animales, instalaciones y densidades de población
- b) Mejora de las medidas de bioseguridad e higiene
- c) Cambios en los programas de alimentación, ingredientes y formulación de dietas, y
- d) Aplicación de nuevas vacunas (entre estas vs. *Coccidias* y *Clostridium*).

El empleo en las dietas de nuevos aditivos no-antimicrobianos que puedan ejercer efectos de tipo nutricional en el animal o de mejorar las

condiciones de salud del tracto digestivo (nutracéuticos): enzimas, microorganismos, extractos de plantas, ácidos orgánicos, manano-oligosacáridos e inmuno-estimulantes (polisacáridos), son actualmente y serán empleados en la nutrición moderna como alternativas para mejorar la productividad del animal ante la ausencia de los APC (Bedford, 2000; Kaldhusdal, 2003).

2.4. PROBIÓTICOS

El término probiótico es derivado del significado griego "para la vida" y contrasta con el término antibiótico que significa "contra la vida". Ha tenido diversos significados a través de los años. Primero fue usado por Lilley y Stillwell en 1965 para describir sustancias secretadas por un microorganismo que estimulaba el crecimiento de otro. Sin embargo, no fue hasta 1974 que Parker los definió como organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal.

Con base en los recientes avances en este campo, Salminen *et al* (1999) propusieron una definición más apropiada: los probióticos son preparaciones o componentes de células microbianas que tienen un efecto benéfico en la salud del hospedero; sin embargo, considerando las definiciones anteriores, Schrezenmeier y De Vrese (2001) proponen la definición "preparación de un producto que contiene microorganismos viables en suficiente número, los cuales alteran la microflora (por implantación o colonización) en un compartimiento del hospedador provocando efectos beneficiosos sobre la salud del mismo" como la más acertada para el término probiótico. Una las más recientes y probablemente no la última definición de probióticos es la de "microorganismos vivos, que al ser consumidos en cantidades adecuadas, confiere un beneficio en la salud del hospedero" (Borriello *et al.*, 2003). En conclusión, lo que queda claro de todas estas definiciones es que:

- a) Se restringe la palabra "probiótico" a los productos que contienen microorganismos vivos

- b) se señala la necesidad de proveer una adecuada dosis de bacterias probióticas a fin de obtener los efectos deseados (FAO, 2006).

En contraste con los antibióticos, los probióticos no son productos metabólicos de bacterias u hongos con efectos bactericidas o inhibidores del crecimiento, que reducen el número de bacterias que aparecen en el tracto gastrointestinal de los animales, o que compiten con el organismo hospedador por los nutrientes y sustancias activas, sino, son microorganismos que ayudan a mejorar el desempeño del hospedador, sobre la base de mecanismos de acción completamente diferentes en comparación a los antibióticos (Pichilinge, 1994; Borriello *et al.*, 2003).

- **Probiosis**

La probiosis se encuentra basada en el concepto de exclusión competitiva, designada como la actividad de la flora intestinal normal para limitar la colonización intestinal por varios patógenos entéricos, al colonizar los mismos sitios del intestino que utilizarían los patógenos, mediante la administración de cultivos de microorganismos benéficos para el hospedador (Jordan y Pattison, 1998).

2.4.1. Probióticos y alimentación funcional

La primera observación sobre la acción benéfica de algunas bacterias, es atribuida a Eliaj Metchnikov, ruso ganador del Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1908, por sus descubrimientos relacionados al proceso de fagocitosis; Metchnikov propuso que la microbiota intestinal produce pequeñas cantidades de sustancias tóxicas que causan daño a los sistemas vascular y nervioso y finalmente esto es lo que conlleva al envejecimiento (Walters, 2008).

Un probiótico debe ser capaz de ejercer un efecto benéfico sobre el huésped y no ser patógeno ni tóxico, debe normalmente estar presente en forma viable o por lo menos como células metabólicamente activas, capaces de

sobrevivir en el intestino, además debe permanecer viable y estable por largos períodos de almacenamiento.

Los probióticos deben actuar produciendo compuestos antibacterianos, incluidos ácidos que reducen el pH intestinal, compitiendo por nutrientes o lugares de adhesión, alterando el metabolismo microbiano y/o estimulando el sistema inmune. Para que se establezcan de forma permanente, habría que administrarlos al poco tiempo de nacer. En el animal adulto los efectos tienden a durar tanto como el tratamiento, por eso el mejor método de administración es el continuo. La implantación de probióticos depende de la duración de la fase de crecimiento, la cual puede ser influenciada por la capacidad de asociación a la pared intestinal y de utilización de nutrientes disponibles. Los probióticos se pueden administrar junto con prebióticos, a menudo oligosacáridos, los cuales, se cree, ayudan a su crecimiento y establecimiento en el intestino (Fuller, 1992).

2.4.2. Microorganismos utilizados como probióticos

Las características para que un microorganismo sea utilizado como un probiótico incluyen: que sea habitante normal del tracto gastrointestinal del animal; que muestre resistencia a los ácidos gástricos y biliares; que tenga capacidad de adhesión y colonización del tracto gastrointestinal y activación rápida; que presente un período corto de regeneración y producción rápida de ácido láctico y sustancias antimicrobianas; y que sea lo suficientemente resistente para soportar el largo período desde su fabricación hasta su utilización (Salminen *et al.*, 1999).

El uso más extendido de los probióticos es para el control de las enfermedades causadas por bacterias gastrointestinales en cerdos jóvenes en crecimiento, particularmente salmonelosis y colibacilosis. Las bacterias comúnmente utilizadas como probióticos por este motivo son *Lactobacillus*, *Enterococcus faecium* y *Bifidobacterium sp.* Generalmente la administración de estos probióticos se realiza en el momento del destete cuando el intestino del

cerdo aún está inmaduro y la población bacteriana permanente no ha sido completamente establecida (Friendship, 2002).

Las investigaciones sugieren que la adición de *Lactobacillus sp.* y *Streptococcus sp.* suministrados en solución inmediatamente después del nacimiento o en el alimento de inicio, tendría importantes beneficios en la prevención de colibacilosis (Roselli *et al.*, 2005; Shim, 2005).

Muchos microorganismos lácticos producen antibióticos naturales. *Streptococcus lactis* produce nisina, *Lactobacillus bulgaricus* produce bulgaricano, *Lactobacillus acidophilus* produce acidofilina, acidolina, lactobacilina, lactocidina y lactolina (Bauer *et al.*, 2006). Las cepas de lactobacilos varían en su habilidad para producir estas sustancias; sin embargo, se ha informado de actividad inhibitoria de estas sustancias contra cepas de *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Bacillus* y organismos tipo vibrios (Blue *et al.*, 1999).

Entre las levaduras utilizadas como probióticos destaca *Saccharomyces cerevisiae*. Los principales metabolitos que excreta esta levadura son enzimas como lipasas, glucanasas, proteasas y amilasas; también excretan vitaminas del complejo B, ácidos grasos y minerales quelados tales como zinc, cadmio, cromo, magnesio y manganeso (Agarawal *et al.*, 2000).

Las características especiales por las que esta levadura es la preferida en las formulaciones probióticas incluyen la habilidad para producir ácido glutámico que incrementa la palatabilidad; propiedades de absorción de la célula de levadura que puede actuar como un depósito de nutrientes y como tampón; habilidad de extraer oxígeno, lo que crearía condiciones anaerobias facilitando el crecimiento de bacterias benéficas (Thomas *et al.*, 2002).

En las granjas comerciales de cerdos, la aplicación de *Saccharomyces cerevisiae* se da en muchos niveles: en el alimento de inicio para mejorar el consumo de alimento y la ganancia de peso vivo; en los cerdos de crecimiento

y acabado para mejorar la eficiencia alimenticia; y en las marranas para reducir la constipación y mejorar el consumo de alimento (Pichilinge, 1994).

2.4.3. Mecanismos de acción de los probióticos

El fundamento del uso de los probióticos es que si una cantidad suficiente de bacterias productoras de ácido láctico pueden ser introducidas en el tracto gastrointestinal en el momento que el balance microbiano está a favor de microorganismos patógenos por condiciones de estrés o enfermedad, o cuando dichas bacterias lácticas no están presentes por un tratamiento antibiótico previo, los problemas digestivos pueden ser minimizados o resueltos (Teitelbaum y Walter, 2002).

Los probióticos pueden afectar de forma benéfica al animal modificando las interacciones metabólicas que tienen lugar en el intestino. Esto puede suceder por medio de la supresión de reacciones generadoras de metabolitos tóxicos. Ejemplo de esto es la presencia de proteína no digerida o con aminoácidos no absorbidos o mal absorbidos en el intestino grueso, resultando en un cambio de la flora intestinal.

Microorganismos como las enterobacterias o *Clostridium sp.* comienzan a dominar y a romper las proteínas generando cadaverina, putrescina, tiramina e histamina. Estos compuestos pueden generar una irritación de la pared intestinal, produciendo un daño en el epitelio llevando a una mala absorción por lo que el valor osmótico del contenido intestinal aumenta, resultando en la atracción de líquidos por el intestino que conduce a diarrea. Adicional a lo anterior, la histamina entra a la corriente sanguínea y actúa como un tipo de veneno ya que dosis elevadas de este compuesto en la sangre causa edemas (Otero y Forero, 1997).

Cuando el probiótico se encuentra en el sistema digestivo controla la presencia de la flora dañina, evitando así la producción de estos metabolitos. Adicionalmente, los microorganismos probióticos puede potenciar reacciones de detoxificación, estimulando la digestión mediante sustitución de deficiencia de

enzimas digestivas o sintetizando vitaminas u otros nutrientes no disponibles en la dieta, mejorando la absorción de los nutrientes, resultando en un aumento de peso, especialmente benéfico en animales de engorde (Fuller, 1992).

Los probióticos pueden actuar benéficamente al alterar el metabolismo bacteriano intestinal directamente a través de sus propias actividades metabólicas o bien de forma indirecta desplazando o influenciando las actividades metabólicas de otros grupos microbianos, así como la propiedad de influenciar en el sistema inmune del animal, ya que el uso de los probióticos es una manera de reforzar la capacidad de defensa natural de la flora bacteriana normal contra los patógenos (Fuller, 1992; Teitelbaum y Walter, 2002).

La revisión realizada por Roselli *et al.* (2005) concluye que la actividad protectora de los probióticos contra los agentes patógenos en cerdos no es solamente debida a la inhibición de la adhesión de las bacterias perjudiciales como se ha considerado por largo tiempo como el principal mecanismo de esta protección; sino también interfiriendo con las vías de señalización de las bacterias patógenas, manteniendo la estructura del citoesqueleto de las células epiteliales y modulando la respuesta inmune del hospedador.

Los probióticos actúan por seis diferentes modos de acción:

1. Adherencia a los sitios de unión del epitelio intestinal (exclusión competitiva)
2. Antagonismo directo a través de la producción de sustancias bactericidas
3. Estimulación del sistema inmune
4. Facilitación de la digestión y absorción de nutrientes
5. Supresión de la producción de amonio
6. Neutralización de enterotoxinas.

2.4.3.1. Exclusión competitiva

Algunas bacterias probióticas se adhieren a la pared intestinal para tener una mayor facilidad para capturar y metabolizar los nutrientes presentes en el lumen evitando que los microorganismos patógenos no adheridos puedan hacerlo. Por consiguiente, la primera población de microorganismos que se sitúa impide el establecimiento de otra población bacteriana. Esta exclusión competitiva se aplica sólo a las bacterias del género *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Streptococcus* (Salgado, 2007).

2.4.3.2. Producción de sustancias antibacterianas y enzimas

Algunos microorganismos probióticos pueden producir bacteriocinas, que son compuestos proteicos con acción inhibitoria o destructiva contra una especie o cepa específica de una bacteria. Las bacteriocinas funcionan como antibióticos propios de las bacterias con acción local sobre el crecimiento de patógenos intestinales. Estas bacteriocinas favorecen a los probióticos por los sitios de fijación en la mucosa intestinal (Ziemer y Gibson; Salgado, 2007).

Otros microorganismos productores de ácido láctico producen microcinas y peróxido de hidrógeno creando un ambiente ácido hostil en especial para *Salmonella* (Schrezenmeier y de Vrese, 2001).

2.4.3.3. Estímulo al sistema inmune

El tracto gastrointestinal de los mamíferos llega a ser colonizado por una comunidad compleja y dinámica de microorganismos. La mayor protección, contra los patógenos potenciales, ocurre vía el sistema inmune de la mucosa que involucra mecanismos de inmunidad innata; así como, de órganos linfáticos secundarios. Sin embargo, la comunidad bacteriana también apoya a su hospedador contra la invasión por estos potenciales patógenos (Bauer, 2006).

La colonización por la microbiota no sólo proporciona resistencia a la colonización por bacterias patógenas, también tiene un papel importante en el desarrollo del sistema inmune intestinal y en la inducción de la tolerancia oral (Teitelbaum y Walker, 2002; Bauer, 2006).

En este contexto, los probióticos también desempeñan una función inmunológica. Los probióticos promueven la activación de los macrófagos y linfocitos, e inducen la producción de anticuerpos y proliferación de células T e interferón cuando se utilizan probióticos a base de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Salgado, 2007), por consiguiente, su uso influye en el desarrollo de la inmunidad de la mucosa intestinal y también de la inmunidad sistémica.

2.4.3.4. Efecto nutricional

Las levaduras, cuando se utilizan como probióticos, producen metabolitos nutritivos en el tracto digestivo que aumentan el desempeño del animal, al producir minerales y vitaminas que mejoran la acción de los microorganismos benéficos. Entre algunas acciones benéficas de estos microorganismos tenemos la producción de enzimas y la desconjugación de las sales biliares, con esto pueden transformar los compuestos poco solubles no digeribles en compuestos altamente solubles y digeribles (Netherwood *et al.*, 1999; Salgado, 2007).

Bacillus subtilis y *Bacillus licheniformis* secretan enzimas proteolíticas y lipolíticas que ayudan al hospedador a digerir algunos sustratos, promoviendo de esta manera una mayor digestibilidad de los nutrientes (Ziemer y Gisbon, 1998; Schrezemeier y de Vrese, 2001; Salgado, 2007).

Otro efecto nutricional indirecto de los probióticos es la proporción de una mayor integridad del epitelio intestinal para que pueda ocurrir una mejor eficiencia digestiva, secreción de enzimas y absorción de nutrientes. Igualmente, la producción de ácido láctico por las bacterias benéficas

promueve la acidificación intestinal, facilita el transporte de ácidos grasos volátiles a través del epitelio intestinal y el pH ácido los disociará para que sean mejor absorbidos que cuando están en la forma no disociada. Los ácidos grasos absorbidos se transformarán en energía, para los enterocitos, contribuyendo a mantener el epitelio en buenas condiciones (Salminen *et al.*, 1999; Salgado, 2007).

2.4.3.5. Supresión de la producción de amonio

El amoniaco es un gas irritante que tiende a producir malestar en los cerdos. En concentraciones de 100 a 200 ppm produce estornudos, salivación y pérdida del apetito; además la exposición prolongada al amoniaco en salas cerradas favorece la susceptibilidad a enfermedades respiratorias (Julca, 2000). El amoniaco proviene esencialmente de la putrefacción, que es un proceso producido debido a la presencia de Clostridios en el intestino grueso, los cuales desdoblan los aminoácidos formando aminas y liberando amonio, ácido sulfhídrico, nitrógeno e hidrógeno, en su mayoría indeseables metabolitos que le dan un olor característico a las heces. Otra vía de producción de amoniaco es la fermentación del estiércol líquido (Shimada 1993; Callen, 1997).

Pauzenga (1991) citado por Julca (2000) sostiene que la reducción de residuos en un punto crítico para la actividad ganadera y que una forma de lograrla es aumentando la digestibilidad de las dietas y/o disminuyendo el contenido de proteínas en la dieta manteniendo los niveles de aminoácidos con el uso de aminoácidos sintéticos, de esta forma se obtendrá una menor cantidad de nitrógeno excretado.

Los probióticos aumentan el aprovechamiento de las proteínas y reducen así la producción intestinal de amonio. Shim (2005) utilizó como probióticos cepas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Aspergillus* comprobando una disminución de la concentración de amonio en cerdos por el mejor aprovechamiento de las proteínas. Igualmente, las bacterias probióticas

como *Bacillus subtilis* pueden suprimir la producción de amonio mejorando la salud y el crecimiento del animal ya que el amonio puede producir daños directos sobre el epitelio intestinal (Netherwood *et al.*, 1999; Salgado, 2007).

2.4.4. Composición y administración de probióticos

Los probióticos pueden contener una o más cepas bacterianas. Se han utilizado *Lactobacillus*, Bifidobacterias, Estreptococos, Enterococos, *Escherichia coli* no patógenos, Pediococos, Propionibacterias, levaduras y especies de *Bacillus* y *Leuconostoc*. Tissier (1906) aisló por primera vez, en el Instituto Pasteur de París, bifidobacterias en las deposiciones de los lactantes alimentados con leche materna y estableció una relación con el hecho de que los lactantes alimentados con leche materna sólo padecían diarrea en raras ocasiones. Por ello recomendó la ingestión oral de bifidobacterias al suponer que éstas eran capaces de eliminar las bacterias responsables de las diarreas.

El estudio de la capacidad probiótica de levaduras ha sido más limitado y en menor proporción (Guslandi *et al.*, 2003), ya que *Lactobacillus sp.* y *Bifidobacterium* son parte predominante de la flora normal del tracto gastrointestinal de humanos y otros vertebrados, lo que ha generado que se realicen amplios estudios sobre estos dos géneros (Borriello *et al.*, 2003).

Saccharomyces cerevisiae ha sido estudiada como un suplemento en la dieta de animales, debido a que mejora la digestibilidad de nutrientes (Agarwal *et al.*, 2000). Newbold *et al.* (1995), observó que diferentes cepas de esta levadura tenían efectos benéficos en terneros actuando en las células de epitelio intestinal, al resistir factores como presencia de lisozimas, enzimas pancreáticas, bajo pH, ácidos orgánicos y sales biliares presentes en estos animales, manteniéndose metabólicamente activas. Mathew *et al.* (1998), observó que la adición de levaduras en la dieta basal de cerdos tendía a generar un aumento de peso en estos animales, comparado con aquellos a los que no se les suministraba.

2.4.5 Obtención y conservación de cepas probióticas

Cuando se realiza un estudio sobre obtención de nuevas cepas con capacidad probiótica, el primer paso es el muestreo, el cual debe realizarse en lugares en los que probablemente se encuentre el microorganismo de acuerdo a su ecología, metabolismo y características de crecimiento. Una vez obtenidas las cepas aisladas del medio donde se encuentran, se procede por un lado a realizar pruebas bioquímicas e incluso moleculares, que permitan caracterizar el microorganismo y por otro, realizar pases en medios adecuados según el tipo de microorganismo, que permitan obtener un cultivo libre de gérmenes contaminantes(Thomas *et al.*, 2002).

Una vez que se ha obtenido el microorganismo, se debe realizar la conservación de la cepa. Los denominados bancos de cepas son un conjunto de alícuotas homogéneas de un cultivo microbiológicamente puro que se almacenan bajo condiciones que garanticen su viabilidad, pureza, actividad y características fenotípicas y genotípicas. La finalidad de estos bancos es mantener un registro detallado y actualizado de la cepa, conservar microorganismos de producción, mantener colecciones para estudios comparativos y disponibilidad para otros laboratorios (Cameotra, 2007).

Existen varios métodos para la conservación de cepas entre los que se encuentran los métodos a corto, mediano y largo plazo. El primer método permite la conservación de la cepa por un lapso máximo de 15 días; se realizan subcultivos o pasajes celulares periódicos en caja, siendo una herramienta que garantiza un acceso inmediato al microorganismo. Sin embargo, se presentan problemas como la variabilidad genética que pueden sufrir los microorganismos y la contaminación, lo que aumenta el riesgo de perder la cepa.

El segundo método permite una conservación por espacio de 3 a 6 meses. Los medios líquidos son preferibles a los sólidos, ya que en microorganismos como las levaduras, evitan la formación de ascosporas, que disminuyen la estabilidad de la cepa. En bacterias y levaduras son

comúnmente usadas la solución salina, agua peptonada, tampón fosfato, entre otros; para hongos filamentosos y actinos, se usa compuestos como avena, arena, agua y aceite mineral (Chang y Elander, 1986).

El tercer método permite la conservación de la cepa por un intervalo de tiempo más amplio. Es el método más recomendado debido a que detiene el crecimiento de las células microbianas garantizando así al máximo su estabilidad genética. Dentro de éste se encuentran los métodos de congelación o criopreservación, método simple usado para la preservación de las cepas. Debe ser añadido un agente crioprotector (anticongelante biológico) que debe ser adicionado al cultivo y cuya finalidad es reducir la injuria de las células al no ser tóxico, ser altamente permeable, de fácil penetración en la membrana celular y ayudar a disminuir los efectos nocivos de la congelación. Las temperaturas de almacenamiento deben encontrarse debajo de los -20°C . Las células deben ser centrifugadas y posteriormente se les debe adicionar glicerol al 20 ó 30 % (v/v) o Dimetil Sulfoxido (DMSO) al 5% (v/v), para ser dispensadas en viales y refrigeradas; mediante este método la viabilidad de los microorganismos puede mantenerse de 3 a 5 años (Marín, 2003).

Otro método de conservación a largo plazo es la liofilización, que implica la remoción de agua de las células por sublimación bajo presión. Es uno de los métodos más efectivos de preservación y necesita criopreservantes como leche en polvo al 20% (p/v) o sacarosa al 12% (p/v). Las cepas pueden ser preservadas por un período de 10 a 20 años. Este método es muy usado cuando se necesita transportar constantemente los microorganismos (Chang y Elander, 1986).

2.5. USO DE PROBIÓTICOS EN CERDOS

Diversas investigaciones demuestran los efectos positivos de el uso de probióticos en cerdos. Así se tienen efectos positivos sobre el crecimiento, disminución y protección contra bacterias perjudiciales y disminución sobre la diarrea (Roselli *et al.*, 2005; Shim, 2005; Castillo, 2006). La suplementación con probióticos beneficia al animal hospedador, por medio de la estimulación de su

apetito (Nahashon et al.,1994), mejorando el balance de la población intestinal (Fuller, 1989) y la digestión (Collins *et al.*,1999). Más estudios han sugerido también un rol de los probióticos en el desarrollo y estimulación del sistema inmune del hospedador (Rao, 2007)

2.5.1 Microorganismos usados como probióticos en cerdos

Muchos microorganismos como *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus faciminis* y *Saccharomyces cereviciae* han sido autorizados como nuevos aditivos en la alimentación. Todas estas especies han demostrado efectos positivos en diferentes hospederos. Sobre todo en el incremento de los parámetros productivos y una mejor condición sanitaria (Lázaro,2005). Existe abundante documentación sobre trabajos realizados en cerdos con el uso de *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *B. thermophilum*, *B. pseudolongum* y *Bacillus toyoi* entre otros.

Doyle (2001) menciona reportes recientes de trabajos de investigación que demostraron efectos positivos de los probióticos en cerdos incluyendo los siguientes:

- *Lactobacillus* y *Bifidobacteria* incrementaron la ganancia de peso y redujeron la mortalidad en lechones.
- *Lactobacillus casei* mejoró el crecimiento de lechones y disminuyó la diarrea no habiendo diferencias con dosis sub-terapéuticas de antibióticos.
- *Lactobacillus casei* administrado a animales libres de gérmenes, se adhirieron muy bien al mucus intestinal y produjeron ácido láctico, disminuyendo el pH. Posteriormente estos lechones consumieron más leche y ganaron más peso que los animales libres de gérmenes.

El cuadro 3 muestra resultados de otras investigaciones sobre los efectos que diversos microorganismos probióticos ejercen sobre la flora gastrointestinal de los lechones.

Cuadro 3. Resumen de la influencia de bacterias probióticas en la flora gastrointestinal de los cerdos. (Rao, 2007).

Animal	Probióticos	Efectos	Referencias
Neonato (2 d. edad)	<i>L. reuteri</i>	Lactobacilos (↑), E. coli (↓).	Ratcliffe <i>et al.</i> , 1986
Lechones lactantes	<i>B. thermophilum</i> <i>B.pseudolongum</i>	Refuerza la flora intestinal y alivia signos clínicos de la diarrea	Kimura <i>et al.</i> ,1983
Lechones Lactantes	<i>Lactobacillus</i>	Coliformes (↓), lactobacillus (sin efectos)	Newman, 1990
Lactantes/ Destetados	<i>Bifidus bifidum</i>	Menor incidencia de enfermedades	Ervolder et al., 1985
Lechones Destetados	<i>Ent. faecalis</i>	E. coli en heces (↓)	Danek, 1986
Lechones Destetados	<i>Lactobacillus</i> <i>spp.</i>	Diarreas (↓).	Hale et al., 1979
Lechones Destetados	<i>Bacillus cereus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>spp.</i>	No hay influencia en signos clínicos, mortalidad y presencia en heces, de E.coli hemolítica	Cupere <i>et al.</i> ,1992
Lechones destetados	<i>Bifidobacterium</i> <i>Globosum</i>	No hay efectos consistentes en cuanto a diarreas, pH fecal, gastrointestinal y respuesta inmune celular.	Apgar <i>et al.</i> , 1993
Lechones Destetados	<i>Bacillus subtilis</i>	Streptococos y bifidobacteria (↑), Bacteroides (↓)	Ozawa et,1983
Lechon	<i>L. acidophilus</i>	Lactobacillus y E. coli en estómago (↑), sin cambios en otras partes del TGI	Pollman et al.,1980b
Lechon	<i>Streptococci</i> , <i>Ent. Faecum</i> <i>cernelle</i>	E. coli fecal (↓) y E. coli hemolítica (↓)	Deprez et al., 1986
Cerdo en acabado	<i>Bacillus spp.</i>	No hay influencia en la microflora intestinal	Spriet et al., 1987

(↓) y (↑) señalan aumentos o descensos significativos.

2.5.1.1 Bacterias

Entre las diversas bacterias utilizadas como probióticos tenemos principalmente a varias especies de los géneros *Lactobacillus* y *Bacillus*.

- ***Lactobacillus spp.***

Lyon (1990) citado por Pichilingue (1994) postula que en condiciones de estrés las bacterias no deseables son capaces de proliferar; mantener la flora intestinal en buenas condiciones es crítico en tales períodos, por tal motivo, si un número suficiente de bacterias productoras de ácido láctico puede ser introducido en el tracto intestinal, en el momento en que el balance está a favor de los microorganismos patógenos (condiciones de estrés o enfermedad) o cuando las bacterias ácido lácticas no están presentes (al nacimiento o después de un tratamiento con antibióticos), los problemas digestivos pueden ser minimizados o resueltos.

Lactobacilli acidophilus modifica las poblaciones celulares del intestino, lo cual sugiere que tiene la capacidad de controlar el crecimiento y proliferación bacterianas (Rao, 2007).

Recientemente Rao (2007) realizó un estudio sobre el efecto de la utilización de probióticos basados en *Lactobacillus* sobre el crecimiento y salud intestinal de lechones recién destetados. Este trabajo comparó dos grupos de 20 lechones de 21 días de edad alimentados con una dieta de soya sin probióticos y una dieta conteniendo *Lactobacillus* al 0.2%, y no se hallaron diferencias en el peso corporal o la eficiencia alimenticia entre los tratamientos durante un período de 15 días. El análisis de *E. coli*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus spp.* y poblaciones anaerobias en el colon entre los tratamientos tampoco mostró alguna diferencia. Tampoco hubo diferencias en la digestibilidad ileal aparente de los aminoácidos de las dietas. Sin embargo, la altura de las vellosidades fue mayor en el grupo tratado con probióticos en comparación al grupo control. **Ver figuras 1 y 2.**

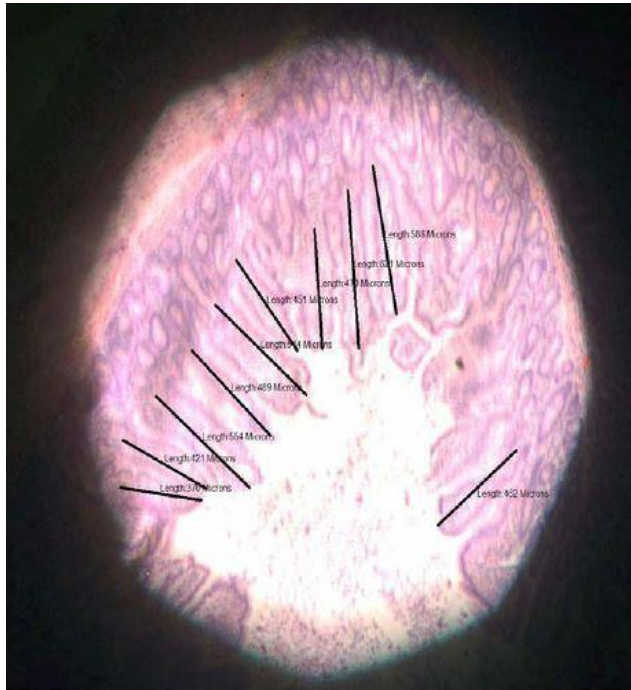


Figura1. Fotomicrografía de una sección histológica de ileon de un cerdo alimentado durante 15 días con una dieta que no incluía *Lactobacillus spp* como probiótico. Se muestra la altura de las vellosidades intestinales (S. Ogik, Texas Tech University 2007).

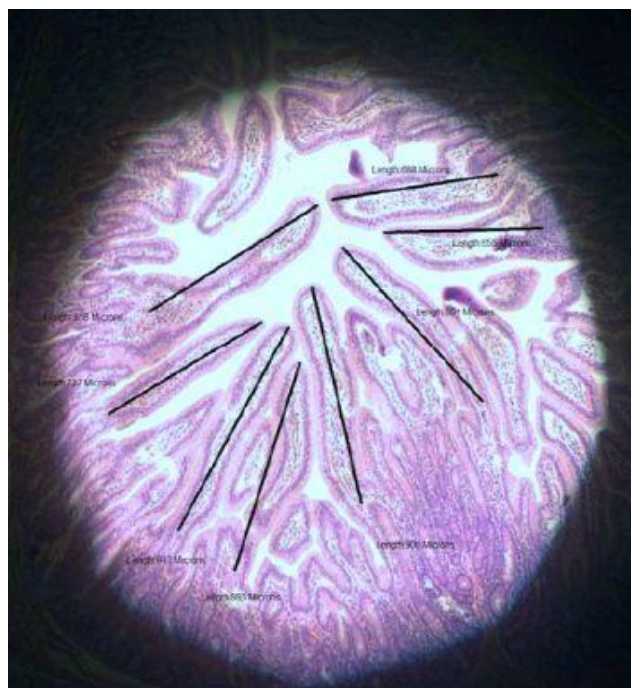


Figura2. Fotomicrografía de una sección histológica de ileon de un cerdo alimentado en base a una dieta que contenía 0.2% de probióticos *Lactobacillus spp* durante 15 días. Se puede apreciar la mayor altura de las vellosidades intestinales comparadas con la Figura1.(S. Ogik, Texas Tech University 2007).

Se ha especulado también que la suplementación con bacterias ácido lácticas tiene efectos inmunomoduladores. La estimulación así como también la supresión de la respuesta inmune mediada por los Linfocitos T helper (Th1) ha sido descrita para varias cepas (Baken *et al.*, 2006 citado por Rao 2007)

- ***Bacillus spp***

Varias especies del género *Bacillus* son usadas como probióticos en humanos y en animales, pero a pesar de su extenso uso, su mecanismo de acción no está totalmente entendido (Wang *et al.*, 2008). Tagg (1976) citado por Lázaro (2005) menciona que las especies del género *Bacillus* producen diversos metabolitos biológicos como antibióticos, proteinasas y bacteriocinas, los cuales hacen a esta bacteria un candidato atractivo para el control biológico contra otras bacterias.

Wang *et al.* (2008) mencionan estudios llevados a cabo por Jonson y Conway en 1992 en los cuales estos postulan que *Bacillus spp* no forman parte de la microbiota nativa del tracto gastrointestinal y que además no colonizan fácilmente el tracto digestivo, pero probablemente los productos a base de *Bacillus spp.* tienen cierta influencia sobre la microbiota nativa presente en el TGI; es posible que compitan por nutrientes. Algo similar menciona Guillot (1998), quien postula que los productos a base de *Bacillus spp* son microorganismos transitorios que no se establecerán en el intestino después de su administración, y por lo tanto requieren de una re-inoculación constante para ejercer su efecto.

La respuesta al administrar *Bacillus spp* en cerdos es variable, algunos investigadores han observado mejoras en la tasa de crecimiento y eficiencia alimenticia, disminución de la mortalidad, disminución en la incidencia de diarreas durante el destete y recuento de *E. coli* en heces. Sin embargo otros investigadores no reportaron ninguna influencia en el crecimiento ni en la digestibilidad de los nutrientes en raciones de cerdos suplementadas con *Bacillus spp.*

Los resultados controversiales, hallados en la literatura, respecto al uso de probióticos, son debidos posiblemente a la influencia de varios factores como son: la cantidad de microorganismos suministrados, la forma de fabricación, presentación y manejo del producto, la cepa empleada, condiciones sanitarias de la granja, y condiciones de estrés del animal, entre otros.

En los primeros trabajos realizados en cerdos, la adición de una bacteria probiótica al pienso (*Bacillus cereus*) significó un aumento en el peso de los animales a una edad promedio de 45 días aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas con los grupos control. Sin embargo, el aumento de peso en los cerdos tratados con probióticos se hizo evidente en las primeras semanas del tratamiento. En este experimento el consumo de pienso fue igual para los cerdos alimentados con un probiótico o con un antibiótico que para los cerdos alimentados con un pienso estándar. Se concluyó que la adición de un probiótico (*B. cereus*) a un pienso para cerdos, mejoró sensiblemente el crecimiento y la eficiencia nutritiva en estos animales (Tortuero *et al.*, 1990).

Burnham (2004) realizó un experimento en 192 cerdos en acabado utilizando una dieta con y sin probióticos. Los cerdos alimentados con la dieta conteniendo probióticos tuvieron una mayor tasa de ganancia de peso (19% mayor) durante la fase de crecimiento que los cerdos alimentados con una dieta control, además consumieron menos alimento y por lo tanto fueron más eficientes.

Shim (2005) realizó un ensayo en cerdos destetados de 25 días de edad utilizando tratamientos probióticos por 21 días. Los tratamientos consistieron de un control (dieta de soya sin antibiótico), una dieta M con probióticos (varias cepas probióticas al 0.2%) y una dieta T con probióticos (dos cepas probióticas al 0.2%). Todas las suplementaciones incrementaron significativamente la ganancia de peso corporal comparadas al control. La digestibilidad aparente de materia seca, proteína cruda y ceniza así como la aparente absorción de calcio y fósforo en los grupos de tratamiento con probióticos fueron mayores que el

grupo control. Asimismo, hubo una disminución en la cantidad de coniformes fecales en los animales tratados con probióticos. En relación a las poblaciones microbianas, los probióticos alteraron significativamente su composición, incrementando la cantidad de lactobacilos anaerobios fecales y disminuyendo por lo tanto las concentraciones de amonio fecal. Shim concluyó que la suplementación con probióticos estimula la aparición de bacterias benéficas en el tracto gastrointestinal y el desempeño de crecimiento en cerdos destetados.

Entre los trabajos realizados en la región destaca el estudio de Salgado (2007) en Brasil, el cual evaluó el efecto de la adición de probióticos y prebióticos en la alimentación de marranas desde el día 109 de preñez hasta los 21 días de lactación sobre las características de la camada, intervalo destete-estro, ganancia de peso de los lechones, ingesta de alimento y presentación de diarrea antes del destete. Este trabajo demostró efectos similares de los probióticos y prebióticos utilizados en la dieta de las marranas con relación a los índices de la camada y la ingesta de alimento de las madres. El uso de probióticos y prebióticos aumentó la concentración de proteína láctea a los 21 días de lactación. Sin embargo, el uso de probiótico sólo disminuyó la concentración de *Clostridium perfringens* en heces y aumentó la concentración de *Enterobacteriaceae* en las heces en las marranas a los 14 días de lactación, y el uso de prebiótico solo disminuyó la concentración de *Bifidobacterium* en heces a los 21 días de lactación. No hubo diferencia estadística significativa en el intervalo destete-estro.

Finalmente, este estudio demostró que la combinación de probiótico y prebiótico en el alimento de las marranas disminuyó el porcentaje de diarrea de los lechones desde los 15 a los 21 días de edad y promovió un mejor consto promedio de alimentación de las marranas y un mejor índice de eficiencia económica (Rao, 2007).

2.5.1.2 Levaduras

Las levaduras se han utilizado como en la alimentación humana desde hace miles de años, en particular en la fabricación de pan y bebidas alcohólicas. En la alimentación animal se vienen utilizando desde hace más de 100 años, ya sea en forma de una masa fermentada producida en granja, subproductos de levaduras de cervecería, destilería y otros productos comerciales elaborados a base de levaduras (Caldas 2007).

Las levaduras son microorganismos eucariotas y sus propiedades son completamente diferentes a las de las bacterias. Las levaduras son resistentes a los antibióticos, sulfamidas, y otros agentes antibacteriales. Esta resistencia es genéticamente natural y no es susceptible de ser modificada o transmitida a otros microorganismos (Lázaro 2005).

Caldas (2007) menciona que últimamente se han realizado muchos estudios experimentales respecto a la utilización de levaduras en el alimento de cerdos, con el fin de mejorar el rendimiento productivo de los animales, mediante la mejora de la digestibilidad y palatabilidad del alimento, y evitando a su vez el uso excesivo de antibióticos como promotores del crecimiento.

Las dietas de cerdos, con productos de levadura, se está usando generalmente en la etapa de recría para maximizar el crecimiento y salud intestinal de los lechones post-destete. Actualmente existen varios productos comerciales basados en levaduras y sus sub-productos, que se utilizan en países con gran demanda en el consumo de carne de cerdo y donde no tienen harina de pescado (Caldas, 2007).

Los mecanismos de acción específicos para los aditivos elaborados a partir de levadura y sus fracciones empleadas en dietas de animales no han sido claramente definidas; a pesar de estar extensamente documentados.(Morales, 2007).

Las paredes celulares de levadura contienen en su composición: 1)Nucleótidos, 2) Inositol, 3)Glutamina, 4)Mananos, 5)b-glucanos . Todos estos componentes juegan un papel muy importante en una serie de funciones vitales en el organismo(Caldas,2007).

2.5.2 Uso de Probióticos en Marranas y Lechones

Alexopoulos (2006) junto a otros investigadores, en un experimento realizado en Grecia, administraron Toyocerin (un producto comercial que contiene 1×10^9 esporas/g de *Bacillus toyoi*) a marranas durante la última etapa de gestación y durante la lactación para evaluar el efecto sobre la salud y desempeño de las marranas y además evaluar su efecto sobre los parámetros productivos de sus camadas. Se suministró Toyocerin a razón de 0.5kg/T de alimento al grupo Probiótico, 14 días antes a la fecha de parto y durante toda la etapa de lactación finalizando la suplementación el día del destete; mientras al grupo control no se le suministró el probiótico.

Se demostró que la suplementación con *Bacillus toyoi* disminuyó la pérdida de peso de las marranas durante el período de lactación, además ciertos parámetros como la cantidad de grasa y proteína en leche, como también los valores de colesterol sérico y concentración de lípidos totales en sangre aumentaron significativamente a mediados de la lactación; sin embargo, no hubo diferencia significativa en el consumo total de alimento a pesar de que este fue mayor en el grupo probiótico. También se observó una menor proporción significativa de marranas con disgalactia y síndrome metritis-mastitis-agalactia, comparado con el grupo control. No hubo diferencia alguna entre grupos en lo relacionado al intervalo de días de retorno al estro.

En cuanto a la evaluación de las camadas Alexopoulos *et al* (2006) no encontraron diferencias significativas respecto al número de lechones nacidos por camada ni el número de lechones nacidos vivos entre ambos grupos; sin embargo, se encontró un mayor número de lechones destetados por camada en el grupo probiótico comparados con el grupo control, como resultado de una

menor mortalidad de lechones durante el periodo de lactancia. También se observó que los lechones del grupo probiótico tuvieron mayor ganancia de peso que el control debido a una menor gravedad en la presentación de diarreas.

Debemos mencionar sobre este trabajo que la historia de la granja donde se realizó este experimento tenía antecedentes de diarrea pre y post-destete debido a *E.coli*; así como, también historias de infecciones previas por *Isospora suis* en lechones lactantes, lo cual sugiere un sub-óptimo nivel de bioseguridad y pobre esquema sanitario, lo cual según la literatura es un medio favorable para la acción benéfica de los probióticos.

En nuestro país tenemos varios experimentos llevados sobre el uso de probióticos en diversas especies animales (aves, cuyes, conejos, rumiantes entre otros) resaltando los experimentos llevados a cabo en porcinos por Pichilingue(1994), Julca(2000), Lázaro (2005) y Caldas (2007).

En el trabajo realizado por Pichilingue (1994) se suplementó con un producto comercial a base de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026) la dieta de 65 marranas en los períodos: 30 días antes del parto y lactación, mientras que a los lechones se les proporcionó cultivos de bacterias (Lactobacilos y Estreptococos) en solución al nacimiento y al tercer día de edad, y levaduras más acidificantes en la dieta de inicio.

Los parámetros evaluados por Pichilingue (1994) fueron: ganancia de peso de la marrana y consumo de alimento de la marrana en lactación y en cuanto a los lechones se evaluó el peso total de camada al nacimiento y al destete, número de lechones por camada, número de lechones nacidos muertos por camada, consumo de alimento y presentación de disturbios gastro-entéricos y mortalidad de lechones.

En la fase post-destete se evaluó: consumo de alimento de los gorrinos, presentación de disturbios gastroentéricos, mortalidad, consumo total de alimentos y conversión alimenticia.

No se encontraron diferencias significativas entre ambos tratamientos para los parámetros evaluados a excepción de la ganancia de peso de los lechones desde el nacimiento hasta el destete Ver cuadro 4. Se demostró también que las muertes atribuidas a disturbios gastroentéricos y desnutrición fueron significativamente mayores en el tratamiento control (4.50%) que en el tratado con probióticos (0.93%). Al parecer estos resultados confirmarían el beneficio que en esta etapa se obtendría mediante una mayor producción láctea por parte de la marrana.

Cuadro 4.- Consumo de alimento y ganancia de peso vivo en marranas y lechones en fase de lactación (Pichilingue, 2004)

	Tratamientos		Significancia (p<0.05)
	Probiótico	Control	
Nº de marranas	33	32	
Nº de lechones	319	311	
Días de lactación	21.36	21.56	N.S
Consumo de alimento por la marrana (Kg)	102.95	99.12	0.0751
Peso de los lechones al nacimiento (kg)	1.62	1.59	0.5909
Peso de los lechones al destete (kg)	6.40	6.00	0.0521
Ganancia de peso nacimiento-destete (kg)	4.78	4.40	0.0261
Consumo de alimento por lechón (g)	40.86	49.87	0.6019

En el experimento llevado a cabo por Lázaro (2005) en 50 marranas en el último tercio de gestación, se dividió a las marranas en dos grupos de 25 animales y se les suministro dos tratamientos: probiótico y testigo. El probiótico administrado consistía en un producto seco de la fermentación de *Saccharomyces cerevisiae* (12×10^9 CFU/g), *Bacillus subtilis* (15×10^{10} ufc/g).y *Bacillus coagulans* (15×10^{10} ufc/g).

Las marranas del grupo probiótico recibieron el aditivo tres semanas previas al parto y el grupo testigo no recibió probiótico alguno. Durante esta fase la alimentación estuvo restringida a 2-3kg/día dos veces al día. Luego, durante la etapa de lactación se continuó con el mismo esquema de tratamiento, pero permitiéndoles a las marranas un consumo *ad libitum*.

Lázaro evaluó características de las marranas y sus camadas. En las marranas evaluó el peso antes del parto y al destete y también el consumo de alimento mientras que en los lechones el número y peso al nacimiento y destete así como su mortalidad y morbilidad.

No se encontraron diferencias en el consumo de alimento de las marranas de ambos grupos durante la lactación, tampoco hubo diferencias significativas en cuanto a los pesos una semana antes del parto y al destete.

En cuanto a los lechones, los resultados arrojaron que existió una diferencia estadísticamente significativa en el peso de los lechones al nacimiento, favoreciendo al grupo probiotico También se encontró una menor morbilidad de los lechones y una diferencia marginal en la mortalidad relacionada a problemas gastroentéricos. No hubo diferencia significativa en la ganancia de peso hasta el momento del destete. Los resultados los podemos apreciar en los cuadros 5y 6.

Cuadro 5. Tamaño de camada y peso al nacimiento de lechones provenientes de marranas con y sin suplementación de probióticos durante las tres semanas previas al parto (Lázaro, 2005)

Tratamiento	Lechones		Lechones por camada (n)	Peso camada (Kg.)	Peso por lechón	Significancia	
	Total nacidos	Nacidos vivos				Real	Corregida
Probiótico	288	285	11.5	16.9	1.47	0.0246*	0.0436
Testigo	299	292	12.0	16.2	1.35		

¹ Por tamaño de camada

* (p<0.05)

Cuadro6. Morbilidad de Lechones (Lázaro,2005)

Causas	Probiótico		Testigo		Significancia P<0.05
	No	(%)	No	(%)	
Diarreas	3	1.09	16	5.93	0.002
Traumas	2	0.73	4	1.48	-----
Respiratorios	2	0.73	0	0.00	-----
Morbilidad Total	7	2.55	20	7.41	
Total destetados	275		270		

¹ Por tamaño de camada

* (p<0.05)

2.5.3 Uso de probióticos en gorrinos en crecimiento

La mayoría de trabajos de investigación acerca del uso de probióticos durante la etapa de crecimiento han sido enfocados a evaluar el efecto sobre la digestibilidad de nitrógeno, producción de amoníaco y disminución en la emisión de gases nocivos para los animales y el medio ambiente (Julca 2000; Wang 2008), también se evalúan parámetros productivos como ganancia de peso y consumo de alimento.

El amoníaco en elevadas cantidades produce malestar en los cerdos. Los cerdos sacuden la cabeza tratando de eliminar la irritación ocular. Stombouh (1968) realizó un trabajo de investigación donde se expuso a cerdos de 50 kilos a cuatro concentraciones diferentes de amoníaco. Se observó que los animales expuestos a concentraciones de 10 ppm no fueron afectados; mientras que los animales expuestos a 50 ppm de amoníaco presentaron secreción nasal, ocular, oral, además de una tos leve; los animales expuestos a 100 y 150 ppm tuvieron los mismos síntomas pero más intensos.

Wang (2008) suplementó 64 cerdos en crecimiento de entre 26-27.30 kg con BioPlus 2B, probiótico que contiene 3.2×10^9 esporas viables de *Bacillus subtilis* y *B. licheniformes* por g de producto. Durante 35 días de experimento y los dividió en 4 grupos : Grupo control (dieta basal); Grupo B 0.05 (dieta basal +0.05% BioPlus 2B); Grupo B 0.1 (dieta basal+0.1% BioPlus 2B); Grupo B 0.2 (dieta basal +0.2% BioPlus 2B). Luego se escogió al azar 16 cerdos de los tratamientos anteriores para evaluar desempeño productivo, digestibilidad de nitrógeno, emisiones toxicas de gas amonio y el PH de las excretas.

Se encontró que el promedio de la ganancia de peso diario, tendía a incrementarse en forma lineal con los niveles de probiótico, al igual que el consumo de alimento diario. Se encontró también que las emisiones de amoníaco de los cerdos a los que se les suministró el probiótico fueron significativamente menores a los del tratamiento control. Así mismo los valores de pH de las excretas de los cerdos del tratamiento B0.1 y B0.2 fueron menores a los de pH del tratamiento control durante un período de 120 horas de evaluación. Sin embargo en lo que respecta a la digestibilidad total aparente de materia seca y nitrógeno no se observó ningún efecto significativo

III CONCLUSIONES

En base a la revisión bibliográfica podemos llegar a las siguientes conclusiones:

1. El tracto gastrointestinal del lechón recién nacido se encuentra libre de bacterias, siendo colonizado rápidamente por bacterias aerobias y bacterias anaerobias facultativas. Esta microbiota bacteriana establecida esta compuesta por una microbiota autóctona (indígena) y la microbiota transitoria.
2. La microbiota autóctona del cerdo se adapta al ambiente del tracto gastrointestinal y está en una constante interacción simbiótica, mejorando el metabolismo de nutrientes e interviniendo en la resistencia a la colonización de microorganismos patógenos.
3. Los antibióticos son compuestos químicos que administrados en pequeñas cantidades (dosis no terapéuticas) actúan incrementado los parámetros productivos en lechones, marranas y cerdos.
4. El uso indiscriminado de antibióticos como promotores de crecimiento en la producción porcina puede ocasionar problemas de salud pública (resistencia cruzada).

5. Existen en el mercado compuestos alternativos sustitutorios de los antibióticos (probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y enzimas) que pueden ser usados para mejorar el crecimiento y rendimiento productivo de cerdos en reemplazo de los antibióticos promotores de crecimiento.
6. Se ha observado resultados variables en relación al efecto de los probióticos sobre lechones, marranas y gorrinos, lo que podría deberse a varias condiciones como son: el tipo de manejo de las granjas donde se realizaron los experimentos y la condición sanitaria de las mismas, así como a la dosis, forma, cantidad y tiempo de administración de los probióticos.
7. En el caso de lechones, algunos trabajos muestran resultados controversiales respecto a ganancia de peso y conversión alimenticia con el uso de probióticos, pero en la mayoría de los artículos revisados se encuentra una disminución en la morbilidad y/o mortalidad de lechones debido a problemas gastroentéricos.
8. En el caso de los gorrinos el uso de probióticos si bien no ha demostrado ser completamente efectivo en la totalidad de los trabajos revisados respecto a parámetros como conversión alimenticia o ganancia de peso diario, sí ha demostrado efectividad en la reducción de la producción de amoniaco.

IV. BIBLIOGRAFÍA

1. **Agarwal N, Kamra DM, Chaudhary LC, Sahoo A, Pathak N. 2000.** Selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains for use as a microbial feed additive. Letters in Applied Microbiology 31: 270 - 273.
2. **Alander M, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salema T, Mettala-Shandholm A, Von Wright. 1997.** Recovery of *Lactobacillus rhamnosus* GG from human colonic biopsies. Letters of Applied Microbiology 24: 361 – 364.
3. **Alexopoulos C; Stamati S; Siochu A; Saoulidis K; Kyriakis S. 2006** Probiosis in sows by administration of *Bacillus toyoi* spores during late pregnancy and lactation, effect on their health status/performance and on litter characteristics. Int Journ of Probio and Prebio 1(1):33-40
4. **Allison M, Robinson I, Bucklin J, Booth G. 1979.** Comparison of bacterial populations of the pig cecum and colon based upon enumeration with specific energy sources. Applied and Environmental Microbiology 37: 1142-1151.
5. **Angkanaporn K, Choct M, Bryden WL, Annison EF, Annison G. 1994.** Effects of heat pentosans on endogenous amino acids losses in chickens. J. Sci. Food Agr. 66: 399-404.
6. **Bates EM, Jordens JZ, Griffiths DT. 1994.** Farm animals as a putative reservoir for vancomycin resistant enterococcal infections in man. J. Antimicrob. Chemoth. 34:507-16.

7. **Bauer E, Williams BA, Smidt H, Verstegen MWA, Mosenthin R. 2006.** Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. *Curr. Issues Intestinal Microbiol.* 7: 35-52.
8. **Bedford MR. 2000.** Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: implications and strategies to minimise subsequent problems. *W. Poult. Sci. J.* 56: 347-365.
9. **Begley M, Hill C, Cormac G, Gahan M. 2006.** Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics, *Applied and Environmental Microbiology* 72 (3): 1729 - 1738.
10. **Berg RD. 1996.** The indigenous gastrointestinal microbiota. *Trends in Microbiology* 11: 430-435.
11. **Berg RD, Savage DC. 1972.** Immunological responses and microorganisms indigenous to the gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 1364-1371.
12. **Blum S, Alvarez S, Haller D, Perez O, Schiffrin J. 1999.** Intestinal microbiota and the interaction with immunocompetent cells. *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 199-205.
13. **Borriello S, Hammes W, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V. 2003.** Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clinical Infection Disease* 36: 775 - 780.
14. **Brenes A, Smith M, Guenter W, Marquardt RR. 1993.** Effect of enzymes supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chickens fed wheat and barley based diets. *Poult. Sci.* 72: 1731-1739.
15. **Brufau J. 2000.** The European Union ban of Antibiotics performance enhancer in animal feeding and consequences: Potential alternatives. Pages 93-106 in *Selected Topics in Animal Nutrition, Biochemistry and Physiology*, Winnipeg, Canada.
16. **Burnham L. 2004.** Growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs fed diets containing peanut hulls, with or without added probiotic. PhD Thesis in Animal Science. Texas Tech University. 86 p.

17. **Caldas, Justina 2007.** Evaluacion de tres productos de levadura en lechones durante la etapa de recría” Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Peru
18. **Cameotra SS. 2007.** Preservation of micro-organisms as deposits for patent application, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 353 (4): 849 - 850.
19. **Casal M, Cardos H, Leão C. 1996.** Mechanism regulating transport of acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology* 142: 1385 - 1390.
20. **Castillo MS. 2006.** Development of gut microbiota in the pig: modulation of bacterial communities by different feeding strategies. Tesis PhD Producción Animal Facultad de Veterinaria de Barcelona. 242 p.
21. **Chang LT, Elander RP. 1986.** Long-term preservation of industrially important microorganisms. En: Demain AL, Solomon NA (Ed.). *Manual of industrial microbiology and biotechnology*, Washington: CRC Press, cap.5, p.49-55.
22. **Chang R. 1999.** Química. 6ta Ed. McGraw-Hill, México. P. 244
23. **Chesson A. 2005.** Phasing out antibiotic additives in the EU: worldwide relevance for animal food production. Pg. 20-22 in *Antimicrobial Growth Promoters: Worldwide Ban on the Horizon?* Bastiaanse Communication, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.
24. **Delbecque J. 1991.** Ecología microbiana intestinal, bioregulación y aplicaciones prácticas. *Anales Porcícolas* 102: 32-52.
25. **Dibner JJ, Richards JD. 2005.** Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and mode of Action. *Journal of Poultry Science* 84:634-643.
26. **Dickman M, Chappelka A, Schaedler R. 1975.** The microbial ecology of the upper small bowel. *American Journal of Gastroenterology*, 65: 57-62

27. **Donaldson R. 1973.** The relation of enteric bacterial populations to gastrointestinal function and disease. En: Saunders WB (Ed) Gastrointestinal disease. Saunders Company, pp. 70-82.
28. **Ducluzeau R, Raibaud P. 1979.** Ecologie microbienne du tube digestif. Actualités scientifiques de I.N.R.A. Masson Ed., Paris.
29. **FAO. 2006.** Probiotics in food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. FAO Food and Nutrition Paper 85: 1-50.
30. **Fresney R. 1990.** Cell lines al culture. 3ª edición, EUA, P. Chapter 1, P. 10 – 15.
31. **Friendship B. 2002.** Swine research at guelph: exploring alternatives to antibiotics. London Swine Conference – Conquering the Challenges 77-81.
32. **Fuller R. 1989.** Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology 66(5): 365-378.
33. **Fuller R. 1992.** Probiotics: The scientific basis. Primera edición. Editorial Chapman – Hall. Londres. Pág. 10 – 20, 214 – 222.
34. **García RH. 1995.** Estudio del efecto de dos probióticos comerciales sobre la población intestinal de *Escherichia coli* en un lote de pollos de engorde., Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Tesis de Pregrado. P. 8-24.
35. **Gedek BR. 1999.** Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*. Mycoses 42: 261-264.
36. **Gilliland SE, Walker DK. 1990.** Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. Journal of Dairy Science 73: 905 - 911.
37. **Goldin BR, Gorbach SL, Savelin M, Barakat S, Gualtieri L, Salminen S. 1992.** Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. Digestive Diseases and Sciences 37: 121 - 128.

38. **Gordon HA, Pesti L. 1971.** The gnotobiotic animal as a tool in the study host-microbial relationships. *Bacteriological Reviews* 35: 390-429.
39. **Guslandi M, Giollo P, Testoni P. 2003.** A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 15: 697 – 698.
40. **Halfhide B. 2003.** Role of European probiotic association (EPA). Pages 3-4 in Role of probiotics and their link to the demands of European consumers. 11 February 2003, IDLeIstad report 03/0002713.
41. **Hooper LV, Gordon JI. 2001.** Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 292: 1115–1118.
42. **Jones FT, Ricket C. 2003.** Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poult. Sci.* 82: 613-617.
43. **Jordan FTW, Pattison M. 1998.** Enfermedades de las aves. Tercera Edición, Editorial El Manual Moderno, México, P. 19.
44. **Jukes TH. 1972.** Antibiotics in animal feeds and animal production. *Bioscience* 22: 526–534.
45. **Kaldhusdal M. 2003.** Maintaining gut health in meat-type poultry without antibacterial growth promoters and ionophores. Pages 151-157 in Proceedings of 14th European Symposium on Poultry Nutrition, August 10-14. WPSA, World's Poultry Science Association. Lillehammer, Norway.
46. **Konstantinov SR, Favier CF, Zhu WY, Williams BA, Klüss J, Souffrant WB, De Vos WM, Akkermans ADL, Smidt H. 2004.** Microbial diversity study of the porcine GI tract during the weaning transition. *Anim. Res.* 54, 317–24.
47. **Koopman J, Stadhouders A, Kennis H, Boer H. 1987.** The attachment of filamentous segmented microorganisms to the distal ileum wall of the mouse: a scanning and transmission electron microscopy study. *Laboratory Animals* 21: 48-52.

48. **Kumura H, Tanque Y, Tsukara M, Tanaka T, Shimazaki K. 2004.** Screening of dairy yeast strains for probiotic applications, *Journal of Dairy Science* 87: 4050 – 4056.
49. **Kurzak O, Ehrmann MA, Vogel R. 1998.** Diversity of lactic acid bacteria associated with ducks. *Systematic Applied Microbiology* 21: 588-592.
50. **Langhout DJ, Schutte JB, de Jong J, Sloetjes H, Verstegen MWA, Tamminga S. 2000.** Effect of viscosity on digestion of nutrients in conventional and germ-free chicks. *Br. J. Nut.* 83: 533-540.
51. **Lázaro, César. 2005** Efecto de la inclusión de probióticos en el alimento de marranas antes del parto y durante la lactación sobre los parámetros productivos de los lechones lactantes. UNMSM
52. **Lee A. 1985.** Neglected niches. The microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Advanced Microbiology and Ecology* 8: 115.
53. **Lesson T, Lesson C, Paparo A. 1990.** Atlas de Histología. Editorial Interamericana. México D.F., México, P. 422, 446.
54. **Lilley D, Stillwell R. 1965.** Probiotic Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 47: 747 – 748.
55. **Mackie RI, White BA. 1997.** *Gastrointestinal Microbiology.* Chapman and Hall Microbiology Series (New York: Chapman and Hall).
56. **Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. 1999.** Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 1035-1045.
57. **Mackowiak P. 1982.** The normal microbial flora. *N. Eng. J. Med.* 307: 83-93.
58. **Marin J. 2003.** Evaluación de métodos de conservación para cepas de hongos filamentosos con actividad enzimática amilolítica. Tesis de Pregrado. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. P. 46-50.
59. **Mathew A, Chattin S, Robbins C, Golden D. 1998.** Effects of a direct – fed yeast culture on enteric microbial populations, fermentation acids, and performance of weaning pigs., *Journal of Animal Science* 76: 2138 -2145.

60. **Mathews C, Kensal E, Aher KG. 2003.** Bioquímica. 3^o edición. Addison Wesley. Madrid, España, Págs. 100- 102.
61. **McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA. 2006.** Nutrición animal 6ta ed. Editorial Acriba, España. P 600.
62. **Mcfarland L, Suwawicz C, Greenberg R. 1994.** A randomized placebocontrolled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. Journal of American Medical Association 271: 1913 – 1918.
63. **Millar MR, Bacon C, Smith SI, Walker V, Hall MA. 1993.** Enteral feeding of premature infants with *Lactobacillus* GG. Archives of Disease in Childhood 69: 483 - 487.
64. **Morales, René 2007.** Las paredes celulares de levadura de *Saccharomyces cerevisiae*: Un aditivo natural capaz de mejorar la productividad y salud del pollo de engorde. Tesis Barcelona, España.
65. **Moore PR, Evenson A, Luckey TD, McCoy E, Elvehjam CA, Hart EB. 1946.** Use of sulfasuxidine, streptothricin and streptomycin in nutritional studies with the chick. J. Biol. Chem. 65: 437-441.
66. **Moser SA, Savage DC. 2001.** Bile salt hydrolase activity and resistance to toxicity of conjugated bile salts are unrelated properties in lactobacilli. Applied Environmental Microbiology 67: 3476 - 3480.
67. **Moughan PJ, Birtles MJ, Cranwell PJ, Smith WC, Pedraza M. 1992.** The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milkfed human infants. In Nutritional Triggers for Health and in Disease, A.P. Simopoulos, ed. (Basel: Karger), pp. 40–113.
68. **Murray BE. 2000.** Vancomycin-resistant enterococcal infections. N. Engl. J. Med. 342: 710-721.
69. **Netherwood T, Gilbert H, Parker S, O'Donnell G. 1999.** Probiotics shown to change bacterial community structure in the avian gastrointestinal tract, Applied and Environmental Microbiology 5134 - 5138.
70. **Newbold CJ, Wallace RJ, Chen XB, McIntosh FM. 1995.** Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on

- ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *Journal of Animal Science* 73: 1811 - 1818.
71. **Noack J, Kleessen B, Lorenz A, Blaut M. 1996.** The effect of alimentary polyamine depletion on germ-free and conventional rats. *J. Nutr. Biochem.* 7: 560-566.
 72. **Otero G, Forero M. 1997.** Evaluación del uso de dos probióticos comerciales en lechones lactantes. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Tesis de Pregrado, P. 14.
 73. **Page SW. 2005.** Current use of antimicrobial growth promoters in food animals: the benefits. Pg. 11-13 in *Antimicrobial Growth Promoters: Worldwide Ban on the Horizon? Bastiaanse Communication, Noordwijk aan Zee, the Netherlands.*
 74. **Pedersen K, Tannock G. 1989.** Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 279-283.
 75. **Peña MJ. 2000.** Efecto de la adición de microorganismos al agua de bebida y en la camada, como fuentes de probiótico de pollos parrilleros. University of Puerto Rico. Tesis Maestría, Puerto Rico. P. 2-3.
 76. **Perez LS, Talavera M, Lagunas S, Cuarón J, Vázquez J. 2005.** *In vitro* evaluation of the binding capacity of *Saccharomyces cerevisiae* Sc47 to adhere to the wall of *Salmonella* spp. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 47(3-4): 70 – 75
 77. **Phillips I, Casewell M, De Groot B, Friis C, Jones R, Nightingale C, Preston R, Waddell J. 2004.** Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemoth.* 53: 28-52.
 78. **Philips SM, Fuller R. 1983.** The activities of amylase and a trypsin like protease in the gut contents of germ-free and conventional chickens. *Br. Poult. Sci.* 24: 115-121.

79. **Pichilingue, Norma 1994.** Uso de probióticos en la marrana y su camada durante el periodo pre-parto , lactación y post destete. Universidad Nacional Agraria la Molina., Lima. Perú.
80. **Rao SO. 2007.** Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus*-based probiotics on growth and gut environment of nursery pigs. Master Thesis in Animal Science. Texas Tech University. 89 p.
81. **Ré M. 1998.** Microencapsulation in spray drying, En. Institute for Technology Research – Chemistry division, Sao Paulo, Brazil, Pág 1206.
82. **Richards JD, Gon J, de Lange CFM. 2005.** The gastrointestinal microbiota and its role in monogastric nutrition and health with emphasis on pigs: Current understanding, possible modulations, and new technologies for ecological studies. Can. J. Anim. Sci. 85: 421-435.
83. **Robredo B, Singh KV, Baquero F, Murria BE, Torres C. 2000.** Vancomycin resistant enterococci isolated from animals and food. Int. J. Food Microbiol. 54: 197-204.
84. **Rose AH. 1987.** Responses to the chemical environment. En: Rose, A. J., The yeast V2, yeast and the environment. Academic Press. Londres. P. 5.
85. **Roselli M, Finamore A, Britti MS, Bosi P, Oswald I, Mengheri E. 2005.** Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. Anim. Res. 54: 203-218.
86. **Rosen GD. 1995.** Antibacterials in poultry and pig nutrition. En: Wallace RJ y Chesson A (Eds). Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding. VCH Verlagsgesellschaft: 143-472.
87. **Rotini VO, Duerden BI. 1981.** The development of the bacterial microbiota in normal neonates. Journal Medical Microbiology 14: 51-62.

88. **Salanitro P, Blake I, Muirhead P. 1974.** Studies on the cecal Microflora of comercial broilers chickens. *Applies Microbiology* 28: 439-447.
89. **Salgado D. 2007.** Probiótico e prebiótico na ração de matrizes suínas e seu efeito sobre a leitegada e intervalo desmama estro. Tesis Maestría en Ciencia Animal. Universidad Federal de Mato Grosso. 66 p.
90. **Salminen S, Ouwehand A, Benno Y, Lee YK. 1999.** Probiotics: how should they be defined?. *Trends in Food Science and Technology* 10: 107-110.
91. **Sambuy Y, de Angelis I, Ranaldi G, Scarino ML, Stamatii A, Zucco F. 2005.** The Caco-2 cell line as a model of the intestinal barrier: influence of cell and culture- related factors on Caco- cell functional characteristics. *Cell biology and toxicology* 21: 1 -26.
92. **Savage D. 1969.** Microbial interference between indigenous yeast and *Lactobacillus* in rodent stomach. *Journal of Bacteriology* 98: 1278-1283.
93. **Savage D. 1977.** Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbial.* 31: 107-133.
94. **Savage D. 1979.** Introduction a mechanisms of association of indigenous microbes. *American Journal of Clinical Nutrition* 32: 113-118.
95. **Schrezenmeier J, de Vrese M. 2001.** Probiotics, prebiotics and symbiotics - approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73: 361 - 364.
96. **Shim SB. 2005.** Effects of prebiotics, probiotics and synbiotics in the diet of young pigs. Ph.D. Thesis, Animal Nutrition Group, Wageningen Institute of Animal Sciences, Wageningen University and Research Centre, Wageningen, The Netherlands. 179 p.
97. **Silva SSP, Smithard RR. 1996.** Exogenous enzymes in broiler diets: crypt cell proliferation, digesta viscosity, short chain fatty acids and xylanase in the jejunum. *Br. Poult. Sci.* 37 (Suppl): S77-S79.

98. **Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, Leano FT, Bender JB, Wicklund JH, Johnson BP, Moore KA, Osterholm MT. 1999.** Quinolones-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. *N. Engl. J. Med.* 340: 1525-1532.
99. **Spencer JF, Ragout AL. 2001.** Métodos microbiológicos Humana Press Inc. Totowa. New Jersey, P. 173 -181.
100. **Swann Committee Report. 1969.** Report of the Joint Committee of the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine. London: HMSO.
101. **Tannock GW. 2001.** Molecular assessment of intestinal microflora. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 410–414.
102. **Tannock GW. 1995.** Microecology of the gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 5: 1059-1079.
103. **Taylor DJ. 2001.** Effects of antimicrobials and their alternatives. *Br. Poult. Sci.* 42 (Suppl.1): S67-S68.
104. **Teeter RG, McKinney L, Becker A. 2003.** Valor calórico efectivo y energía valores nutricionales en broilers comerciales. Pages 95-104 in XL Symposium Sec. Esp. WPSA, Girona, 1-3/10/03.
105. **Teitelbaum JE, Walker WA. 2002.** Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annu. Rev. Nutr.* 22: 107–138.
106. **Thomas KC, Hynes SH, Ingledew MW. 2002.** Influence of Medium Buffering Capacity on Inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* Growth by Acetic and Lactic Acids. *Environmental Microbiology* 68 (4): 1616 - 1623.
107. **Thomke S, Elwinger K. 1998.** Growth promotants in feeding pigs and poultry. I. Growth and feed efficiency responses to antibiotic growth promotants. *Ann. Zootech.* 47: 85-97.
108. **Tissier H. 1906.** Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin. *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie* 60 : 359 - 361.

109. **Todokiri K, Mukai T, Sato S, Toba T. 2001.** Inhibition of adhesion of foodborne pathogens to Caco-2 cells by *Lactobacillus* strains, *Journal of Applied Microbiology* 91: 154 – 159.
110. **Tortuero F, Riopérez J, Martín L, Viñarás R. 1990.** *Bacillus cereus* y virginiamicina en dietas para lechones. *Arch. Zootec.* 39: 67-75.
111. **Umesaki Y, Setoyama H, Matsumoto S, Imaoka A, Itoh K. 1999.** Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system. *Infect. Immun.* 67: 3504-3511.
112. **Vaughan EE, Schut F, Heilig HG, Zoetendal EG, De Vos M, Akkermans AD. 2000.** A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* 1: 1–12.
113. **Wang Y; Cho J H ; Chen Y.J.; Yoo J.S; Huang Y; Kim H.J; Kim I.H 2008.**The effect of probiotic BioPlus2B® on growth performance, dry matter and nitrogen digestibility and slurry noxious gas emission in growing pigs. *Livest Sci* 120(2009)35-42
114. **Walter J. 2008.** Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. *Applied and Environmental Microbiology* 78 (16): 4985-4996.
115. **Wegener HC. 2005.** Use of antimicrobial growth promoters in food animals: the risks outweigh the benefits. Pg. 14-17 in *Antimicrobial Growth Promoters: Worldwide Ban on the Horizon?* Bastiaanse Communication, Noordwijk aan Zee, the Netherlands
116. **Whitehill AR, Oleson JJ, Hutchings BL. 1950.** Stimulatory effect of aureomycin on the growth of chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74: 11–13.
117. **Willicocks S. 1990.** Growth and characterisation of human faecal Astrovirus in a continuous cell line. *Archives of Virology* 113: 78 - 81.
118. **Witte W. 1996.** Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in human. Pg. 61-70 in *proceedings of: Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread.*

Whiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 207), July 16-18, London.

119. **Ziener CJ, Gibson GR. 1998.** An overview of probiotics, prebiotics and symbiotics in the functional food concepts: perspectives and future strategies. *International Dairy Journal* 8: 473-479.
120. **Zweibaum A, Laburthe M, Grasset E, Louvard D. 1991.** Use of cultured cell lines in studies of intestinal cell differentiation and function. *Handbook of Physiology. The Gastroenterology System* 4: 223 - 225.