

22 Zujell.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES-CUAUTITLAN**



**LA BACITRACINA COMO ADITIVO EN LA ALIMENTACION DE POLLOS DE ENGORDA:  
SU EFECTO SOBRE LA MICROFLORA INTESTINAL**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
**P R E S E N T A**  
**JOSE ALBERTO DE LA HIGUERA JIMENEZ**

**ASESORES:**  
**MVZ., Dip, Bact. Ph. D, RICARDO FLORES CASTRO**  
**QFB. LUIS BOJORQUEZ NARVAEZ**

**México, D. F.**

**1980**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	6
MATERIAL Y METODOS	7
RESULTADOS	11
DICUSION	29
CONCLUSIONES	33
APENDICE	34
BIBLIOGRAFIA	39

## R E S U M E N

### LA BACITRACINA COMO ADITIVO EN LA ALIMENTACION DE POLLOS DE ENGORDA: SU EFECTO SOBRE LA MICROFLORA INTESTINAL.

JOSE ALBERTO DE LA HIGUERA JIMENEZ

ASESORES: DR. RICARDO FLORES CASTRO  
QFB. LUIS BOJORQUEZ HARVAEZ

En el departamento de Bacteriología del INIP-SARH, se realizó el presente estudio, con el objeto de observar las alteraciones que sufre la flora microbiana en heces e intestino delgado de pollos de engorda, alimentados con dietas adicionadas de bacitracina de zinc (50 ppm y 300 pp.). Se utilizaron 90 pollos de la línea Sawyer's de 1 semana de edad, distribuidos en bloques al azar en 3 grupos con 3 repeticiones de 10 pollos para cada una, se colectaron muestras de heces a los 0, 7, 14, 21 y 28 días, para aislamiento, identificación y cuenta total de microorganismos. A los 32 días se sacrificaron 3 pollos de cada grupo y se tomaron muestras de las tres porciones de intestino delgado, las cuales se sometieron a los estudios antes mencionados. Finalmente se hicieron pruebas de resistencia a la bacitracina con las bacterias aisladas.

Principales aislamientos: E. coli, cocos entericos, Bacillus spp., Aspergillus spp., levaduras y actinomicetos. La cuenta total de bacterias tendió a bajar después de los 7 días en todos los tratamientos, en tanto que hubo un ligero aumento en la cuenta total de hongos. Enterococos y Bacillus spp., fueron sensibles a la bacitracina in vitro, por lo que destaca el no haber aislado enterococos después del día 14 en heces y en intestino delgado en los animales tratados con el antibiótico en cuestión.

En la literatura se menciona que algunas bacterias gram positivas afectan negativamente el crecimiento de aves. Los resultados indican que la bacitracina proporcionada en forma adecuada como aditivo puede sustituir el uso de otros antibióticos que se usan con este fin y que son empleadas en la terapéutica médica, que se abordan en el tracto digestivo de los animales y/o puedan producir resistencia bacteriana.

## INTRODUCCION:

De todos los problemas que enfrenta el mundo actual el de la alimentación es uno de los mas graves y urgentes de resolver, para que la población - que va en aumento con rapidez pueda disponer de protefmas para su consumo. En México la alimentación desde el punto de vista nutricional no es completa, debido entre otros factores al bajo consumo de protefmas de origen animal.

En los últimos cincuenta años la producción avícola se ha incrementado - notablemente gracias a la información científica y tecnológica (8) y como uno de los avances prácticos en la industria de las aves está el uso de antibióticos como aditivo en la dieta, ya que con esto se logran considerables incrementos en conversión y ganancias de peso (7,20,26,27) - además, es posible disminuir la incidencia de enfermedades de repercusión económica. Respecto a los mecanismos sobre como influyen los antibióticos en la ganancia de peso se considera que actúan sobre diferentes procesos metabólicos del animal, ya que desde el punto de vista nutricional se sabe que pueden reducir los requerimientos de algunos nutrientes en la dieta y además estimular el crecimiento de microorganismos responsables de la síntesis de vitaminas y aminoácidos, como son algunos coliformes (18, 22,27,28). También se ha observado que pueden inhibir la microflora que compete por los nutrientes del alimento (28). Otros mecanismos de acción pueden ser: el mejoramiento en la capacidad de absorción de la glucosa - en el tracto gastrointestinal, o bien actuar como agente preventivo para el control de infecciones causadas por bacterias (11, 38).

Sin embargo, el uso indiscriminado de antibióticos en la dieta de animales representa un peligro para el hombre al ingerir alimentos que contengan niveles residuales de antibióticos. Es por lo tanto importante - que los antimicrobianos usados en el alimento de las aves sean diferentes a aquellos utilizados con frecuencia en la terapéutica médica (17, 26,27).

Además de la serie de riesgos que implica para los humanos ingerir alimentos que contengan antibióticos, se requiere una mayor atención por parte de veterinarios, microbiólogos y técnicos relacionados con el empleo de este procedimiento, ya que entre los aspectos mas importantes - a considerar se pueden mencionar las siguientes limitantes:

- a) El uso indiscriminado de antibióticos puede generar la existencia - de bacterias resistentes.
- b) Inducir la resistencia de tipo cruzada con otros antibióticos ó entre bacterias como: E. coli, Salmonella, Shigella y otras, pudiendo ser una resistencia selectiva al antibiótico transmisible mediante un episoma de resistencia.

Los requisitos que se han establecido en diferentes países, para el uso de antibióticos como aditivo en la alimentación de los animales son (26 27, 32):

No deben actuar sobre germen gram negativos

No deben generar resistencia cruzada

No deben ser absorbibles a través de mucosas

Es importante que sean antibióticos fácilmente degradables

Ser inocuos para el operador

No ser usados en terapéutica médica

La bacitracina es un antibiótico que reúne la mayoría de estos requisitos dado que su uso en terapia médica es poco o nulo y esta restringido a la aplicación tópica en forma de ungüentos y pomadas (17,26,27). No se conoce que existan repercusiones de sensibilidad, y no suele propiciar el desarrollo de resistencia bacteriana, siendo además un compuesto que no se absorbe a nivel intestinal y que actúa únicamente contra germen gram positivos; su actividad en estos microorganismos ocurre a nivel de membrana celular, alterando las funciones de esta afectando como consecuencia la capacidad de sintetizar pared celular y proteínas.

En las bacterias gram positivas bloquea la formación del polímero mucopéptido compuesto por el ácido N-acetilmurámico, N-acetilglucosamina, glicina, ácido D-glutámico, L-lisina, D-alanina y L-alanina, siendo los mucopéptidos los que forman el soporte rígido más importante de la célula, el cual protege a la membrana adyacente de los daños producidos por la alta presión osmótica presente, cuando la bacteria está creciendo en un medio de ósmosis normal. Lo que le sucede a la bacteria, es que la cadena principal mucopéptida de N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico continúan formándose pero los eslabones entre los cambios laterales están bloqueados, lo que sucede luego es que los péptidos que normalmente serían utilizados para formar estos eslabones, se acumulan en la célula y como resultado atraen agua en su intento para igualar la presión osmótica. Pero como la pared celular es defectuosa, no puede proporcionar soporte y el agua ingresa a la célula, hasta que finalmente revienta la membrana celular produciéndose la muerte de la bacteria.

En lo referente a bacterias gram negativas es bien sabido que la mayoría de estas son resistentes a la acción de la bacitracina, debido fundamentalmente a lo complejo de su pared celular en comparación con las gram positivas y existiendo la posibilidad de que el antibiótico no pueda atravesar la pared celular (9,15).

La bacitracina es uno de los antimicrobianos más frecuentemente usado como aditivo alimenticio. Este antibiótico es producido por el Bacillus licheniformis (similar a Bacillus subtilis) y puede encontrarse en dos formas, la A y la F, siendo mas activa la A, la cual se puede encontrar formando complejos con iones metálicos tales como el  $Zn^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ , etc. lo cual le brinda mayor estabilidad (fig. 1).

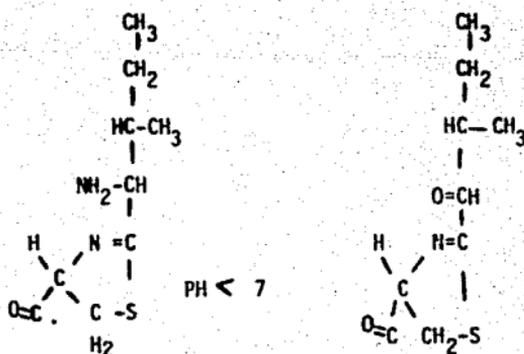
Bacitracina A

fig.1

Bacitracina F

El desarrollo de resistencia a la bacitracina in vitro, por pases sería dos de la bacteria, en presencia de concentraciones subinhibitorias de esta droga, fue estudiada con Staphylococcus aureus por Stone en (1949) y con Streptococcus haemolyticus por Gezan y Col. en (1950) estos investigadores encontraron que después de 40 pases puede ocurrir cierto grado de resistencia, siendo esta de caracter reversible, tan pronto como se elimina la droga de los cultivos, sin embargo raramente se encuentran bacterias resistentes en infecciones clínicas.

Estudios realizados por Lowbury, (1960), demostraron que en cientos de casos de pacientes con quemaduras en la piel, complicadas con infecciones por Staphylococcus spp., los cuales fueron tratados con bacitracina los microorganismos fueron siempre sensibles a esta droga.

**OBJETIVOS:**

El uso de la bacitracina como aditivo en la dieta de pollos se esta generalizando cada día mas, debido a que propicia aumentos en conversión y ganancias de peso, sin embargo no se conoce aún el mecanismo que origina esto. El primer objetivo de esta tesis es conocer las modificaciones que ocurren en la microflora intestinal de aves alimentadas con niveles variados de este antibiótico, en un intento de dilucidar si dichos cambios pudieran participar en la mejor conversión alimenticia.

Un segundo objetivo es estudiar el posible desarrollo de cepas resistentes a la bacitracina, puesto que es probable que el uso indiscriminado de los antibióticos propicie la existencia de microorganismos resistentes a los mismos, lo que en un momento dado podría tener repercusión en salud pública como en Sanidad Animal (1,10,16,17).

## MATERIAL Y METODOS:

**Animales:** Se utilizó para este experimento 90 pollos de la línea Sawer's de una semana de edad, empleandose un diseño de bloques al azar (27), - distribuidos en 3 grupos con 3 repeticiones de 10 pollos para cada una. Las aves fueron colocadas en jaulas convencionales para pollos de engorda.

**Tratamientos:** Los tratamientos utilizados fueron los siguientes:

Trat. 1.- Sorgo más soya (testigo)

Trat. 2.- Sorgo más soya con 50 ppm de bacitracina de zinc

Trat. 3.- Sorgo más soya con 300 ppm de bacitracina de zinc

### Muestras examinadas:

a).- **Alimento:** Al inicio del experimento se determinó el número de bacterias y hongos por gramo de alimento y se procedió a la identificación de dichos microorganismos usando para esto las técnicas comúnmente empleadas en los laboratorios de microbiología (5,6,10,19,21,30,3,25).

b).- **Heces:** Se colectaron muestras fecales para el análisis microbiológico, a los 0, 7, 14, 21 y 28 días de iniciado el experimento. Para la toma de la materia fecal de cada grupo y de cada repetición, se limpiaban las charolas un día antes, se les ponía papel aluminio y al día siguiente se colectaba la muestra en forma parcelaria (30).

c).- **Muestras de intestino:** A los 32 días de iniciado el estudio se sacrificaron 3 pollos de cada repetición y se colectaron muestras de contenido intestinal (duodeno, yeyuno e ileon).

Exámenes Bacteriológicos y Micológicos: El conteo del número de bacterias y hongos por gramo de alimento, heces e intestino delgado (23), - así como la identificación de los microorganismos aislados, se efectuó de la siguiente manera:

a) Conteo de bacterias: Se pesó 1 gramo del material en estudio, en forma aséptica y se colocó en botellas de dilución con tapón de rosca conteniendo 9 ml de solución salina fisiológica estéril. Se hicieron diluciones décuples hasta  $1 \times 10^{-8}$ ; de las diluciones  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-7}$  y  $1 \times 10^{-8}$ , se tomó 0.10 ml y se colocó en 6 cajas de Petri -- conteniendo medio de agar base, adicionado con 10% de sangre desfibrinada de bovino. Tres cajas se incubaron en aerobiosis a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, las otras 3 cajas se incubaron en anerobiosis a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas.

b) Identificación bacteriana: Para el aislamiento e identificación bacteriana, se hicieron cultivos a partir de la dilución  $1 \times 10^{-1}$ , para todas las muestras, durante todo el experimento; se inoculó 0.1 ml de cada caja de Petri, usandose 3 cajas para cada muestra: Una caja conteniendo medio de agar base con 10% de sangre desfibrinada de bovino y otra con agar Mac Conkey fueron incubadas en aerobiosis a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, la tercera conteniendo también agar sangre fue incubada en anaerobiosis a  $37^{\circ}\text{C}$ , durante 48 horas. Una vez purificadas las colonias bacterianas se les hizo tinción de gram y todas las pruebas bioquímicas requeridas para su identificación (5,6,10,19,21).

c) Conteo de hongos: Para el estudio micológico se pesó 1 gramo del material en estudio y se agregaron 9 ml de solución salina fisiológica es

téril y se procedió a realizar diluciones décuples. Las diluciones ---  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-8}$ , fueron sembradas por duplicado en cajas de Petri conteniendo medio de Sabouraud dextrosa agar y Sabouraud maltosa agar, utilizando 0.10 ml de cada dilución e incubandolas a 28°C durante 5 - 7 días; una vez obtenido el crecimiento se hizo el conteo de hongos y actinomicetos (3,25,29).

d).- Identificación de la flora micótica: Una vez aisladas y purificadas las colonias de hongos se procedió a su identificación, lo cual se efectuó tomando como base su morfología macroscópica y microscópica, lo que se logró mediante la preparación de microcultivos siguiendo la técnica de Ridell (3,25,29).

e).- Sensibilidad a la bacitracina:(in vitro): Finalmente, las bacterias aisladas e identificadas de todo el experimento, fueron sometidas a pruebas de sensibilidad al antibiótico en cuestión, utilizando una modificación del método recomendado por la "Food and Drug Administration" de los Estados Unidos, el cuál consiste en sembrar  $1 \times 10^{-4}$  bacterias/ml, de un cultivo fresco, en un medio específico para ensayo de bacitracina\*, con las siguientes concentraciones: 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 U de bacitracina/ml (16,18,23) una vez sembradas las placas se incuban por 24 horas a 37°C determinandose la concentración mínima inhibitoria (MIC) del antibiótico. Usando la técnica de dilución en placa comparandose con una placa testigo sin antibiótico.

Análisis estadístico: Los datos obtenidos en los estudios bacteriológicos y micológicos fueron sometidos a un análisis de varianza (23,30) con el -

\* Bacto Mueller Hinton Medium (B 252) DIFCO

objeto de identificar posibles diferencias significativas, con relación al número de bacterias aerobias, anaerobias y hongos para cada nivel del antibiótico, en los diferentes días de muestreo. De la misma manera se aplicó un análisis de varianza en doble dirección para estimar efectos debido a interacciones entre niveles de antibiótico y día de muestreo.

## RESULTADOS:

### Microorganismos presentes en el alimento:

En el cuadro No. 1 se presentan los resultados obtenidos en relación a los germenos aislados así como la cuenta total de bacterias y hongos - por gramo de alimento. Las muestras de los 3 tratamientos presentaron Micrococcus spp., y actinomicetos; no se aisló ningún germen anaerobio. No se observó diferencia estadísticamente significativa respecto al -- número de microorganismos entre tratamientos (  $P > 0.05$ ).

### Conteo e identificación de bacterias en heces:

Al inicio del experimento la cuenta total de microorganismos gram positivos y gram negativos son iguales en los 3 tratamientos; no siendo así en muestras colectadas a los 7 días donde se nota un detrimento de la cuenta total de gram positivos y gram negativos tanto en el grupo testigo como en los grupos tratados. A los 14, 21 y 28 días el número total de microorganismos fué muy similar. Es importante señalar sin embargo, que después de los 14 días en los tratamientos 2 y 3 (diferentes niveles de bacitracina) no se aislaron bacterias Gram positivas, mientras que en el tratamiento 1 (testigo) se continuó aislando estos germenos hasta el final - del experimento (gráfica No. 1).

Las bacterias aerobias y anaerobias aisladas en heces durante el presente estudio se muestran en el cuadro No. 2. Entre los germenos identificados se observó que los cocos entéricos  $\Delta$  y E. coli presentaron variación estadística para los tres tratamientos a los 21 y 28 días de iniciado -

$\Delta$  Se refiere como cocos entericos a los Staphylococcus spp Streptococcus spp y Micrococcus spp, presentes en el Tracto Gastrointestinal

el experimento, tal y como se observa en los cuadros 3 y 4. En el cuadro 3 se observa diferencia significativa en la cuenta de cocos entéricos -- ( $P < 0.01$ ), estos germenés ya no se aislaron en las muestras de heces -- de los animales tratados con bacitracina (50 ppm y 300 ppm), colectadas a los 21 días. En contraste, la cuenta de E. coli no muestra diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en estas muestras.

En el cuadro 4 se observa variación estadística significativa en la cuenta total así como en la cuenta de E. coli y cocos entéricos ( $P < 0.01$ ). En el grupo testigo se observa un mayor número de microorganismos que en los tratamientos 2 y 3 en los cuales no se aisló cocos entéricos y disminuyó la cuenta de E. coli.

Con lo que respecta al conteo de bacterias anaerobias estas existieron -- en pequeña concentración puesto que no aparecieron en las diluciones consideradas en el estudio de las heces, pero sí estuvieron presentes en -- los cultivos originales; estas se presentan en el cuadro No. 2.

#### Conteo e identificación de hongos en las heces:

En la gráfica No. 2 se observa que la cuenta total de hongos en los 3 -- grupos se comporta muy similar hasta los 14 días, no así a los 21 y 28 días donde se nota un ligero aumento de la flora micótica de los grupos tratados (50 ppm y 300 ppm). En el cuadro No. 5 se presenta la lista de los hongos aislados en heces, durante todo el estudio. No existió diferencia en los tipos de microorganismos aislados en cada tratamiento.

#### Conteo e identificación bacteriana en las 3 porciones de intestino delgado (duodeno, yeyuno e ileon):

El resultado de los cultivos practicados en muestras de intestino colectadas al sacrificar los pollos a los 32 días de iniciado el experimento se presentan en la gráfica No. 3. En esta se observa que no aparecen bacterias gram positivas en ninguna de las 3 porciones de intestino delgado correspondientes a los 2 grupos tratados (50 ppm y 300 ppm de bacitracina), sin embargo en el grupo testigo si se aislaron germen gram positivos que se presentan en el cuadro No. 6.

Conteo e identificación de hongos en las 3 porciones de intestino delgado:

En la gráfica No. 4 se observa que en el grupo testigo la cuenta total de hongos se mantiene muy similar en las 3 porciones, no siendo así en los grupos tratados en lo que se nota un ligero aumento de la flora micótica en las 3 porciones estudiadas, en relación con lo observado en los testigos. En el cuadro No. 7 se enlistan los hongos aislados en las 3 porciones de intestino, para los 3 tratamientos.

Resultados de las pruebas de sensibilidad a la bacitracina (in vitro):

a).- Bacterias aisladas a partir de heces:

Como se puede ver en el cuadro No. 8 se enlistan las bacterias probadas para tal fin; cada género representa todas las bacterias aisladas e identificadas en los diferentes días y de los 3 tratamientos, encontrándose que cocos entéricos tuvo un 100% de inhibición y Bacillus spp. un 80% de inhibición. Para el resto de las bacterias, todas ellas gram negativas, no se observo ningún grado de inhibición.

b).- Bacterias aisladas en muestras de intestino:

En el cuadro No. 9 también se presentan las bacterias aisladas e identificadas en las 3 porciones de intestino delgado, que representan a los 3 grupos en estudio, notándose que así como en la prueba anterior se encontró un 100% de inhibición para cocos entéricos y un 100% para Bacillus - spp, igualmente para el resto de bacterias no se observa ningún porcentaje de inhibición.

#### Estudios estadísticos:

Al comparar las cuentas viables obtenidas en el grupo testigo contra los grupos tratados con 50 ppm y 300 ppm de bacitracina se encontró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) únicamente en las muestras colectadas a los 28 días de haberse iniciado los tratamientos, no así en muestras previas.

Tampoco se encontró significancia al comparar las cuentas viables obtenidas entre ambos grupos que recibieron bacitracina en la dieta. Al compararse los resultados de las cuentas viables realizadas a los 0,7,14,-21, y28 días para cada uno de los tratamientos, se encontró que las diferencias fueron significativas para cada muestreo en los grupos que recibieron bacitracina, mas no en el grupo testigo.

El análisis de las cuentas totales obtenidas en las muestras de intestino delgado a los 32 días, cuando se sacrificaron los pollos, no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre el grupo testigo contra los tratados, lo mismo sucedió al comparar el número de bacterias aisladas de muestras de duodeno, yeyuno e ileon.

Con lo que respecta a hongos no hubo diferencia estadística significativa a los 14 y 28 días comparando el grupo testigo contra los tratados -

( $P > 0.05$ ), ocurriendo lo mismo para los demas días; tampoco hubo significancia al comparar los grupos entre si en todos los muestreos.

La diferencia en la cuenta total de hongos en las 3 porciones de intestino delgado, no fué estadísticamente significativo al comparar el grupo - testigo contra los grupos tratados ( $P > 0.05$ ), lo mismo se encontró al comparar cada tratamiento entre si.

## CUADRO 1

## MICROORGANISMOS PRESENTES EN ALIMENTOS

TRATAMIENTO	BACTERIAS	HONGOS (No./g.)
	Aerobias (No./g)	
	1)	1)
1	<u>Micrococcus</u> spp (7) <u>Enterobacter</u> spp (6.8)	<u>Penicillium</u> spp (5) <u>Aspergillus</u> spp (6) Actinomicetos (6)
2	<u>Micrococcus</u> spp (7.5) <u>Acinetobacter</u> spp (6.7)	<u>Actinomicetos</u> (7)
3	<u>Micrococcus</u> spp (7.6)	<u>Actinomicetos</u> (7)

1) Expresado en logaritmo base 10.

## CUADRO 2

BACTERIAS AISLADAS EN HECES DE LOS 3  
GRUPOS DE AVES

AEROBIOSIS	ANAEROBIOSIS
<p> <sup>1</sup> <u>cocos entericos</u> <sup>1/</sup>  <sup>2</sup> <u>E. coli</u>  <sup>2</sup> <u>Bacillus</u> spp.  <u>Klebsiella</u> spp.  <u>Proteus</u> spp.  <u>Enterobacter</u> spp.  <u>Plesiomonas</u> spp.  <u>Actinobacillus</u> spp  <u>Hafnia alvei</u>  <u>Moraxella kingii</u> </p>	<p> <u>Bacteroides</u> spp.  <u>Fusobacterium glutinosum</u>  <u>Cardiobacterium hominis</u>  <u>Arachnia</u> spp.  <u>Lactobacillus</u> spp.  <sup>22</sup> Bacterias del grupo  HB-5  VA-B-1  TM-1 </p>

<sup>2</sup> La cuenta total de estos microorganismos presentó variación durante el experimento.

<sup>22</sup> Bacterias Gram negativas de clasificación incierta (Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, 1974).

<sup>1/</sup> cocos entericos se refiere a Staphylococcus spp., Streptococcus spp Micrococcus spp.

CUADRO 3

NÚMERO DE BACTERIAS/G. DE HECE EN MUESTRAS COLECTADAS A LOS 21 DÍAS  
1)

TRATAMIENTO	COCOS ENTERICOS	E. COLI	CUENTA TOTAL
1	6.63 <sup>a</sup> ±±c	6.0	7.0
2	0 ±±c	6.33	6.33
3	0 ±±b	6.57	6.57

a,b,c, Valores con distintas literales son estadísticamente diferentes  
( ± P < 0.05; ±±P < 0.01).

1) Expresado en logaritmo base 10

CUADRO 4

NUMERO DE BACTERIAS/G. DE HECE EN MUESTRAS COLECTADAS A LOS 28 DIAS  
1)

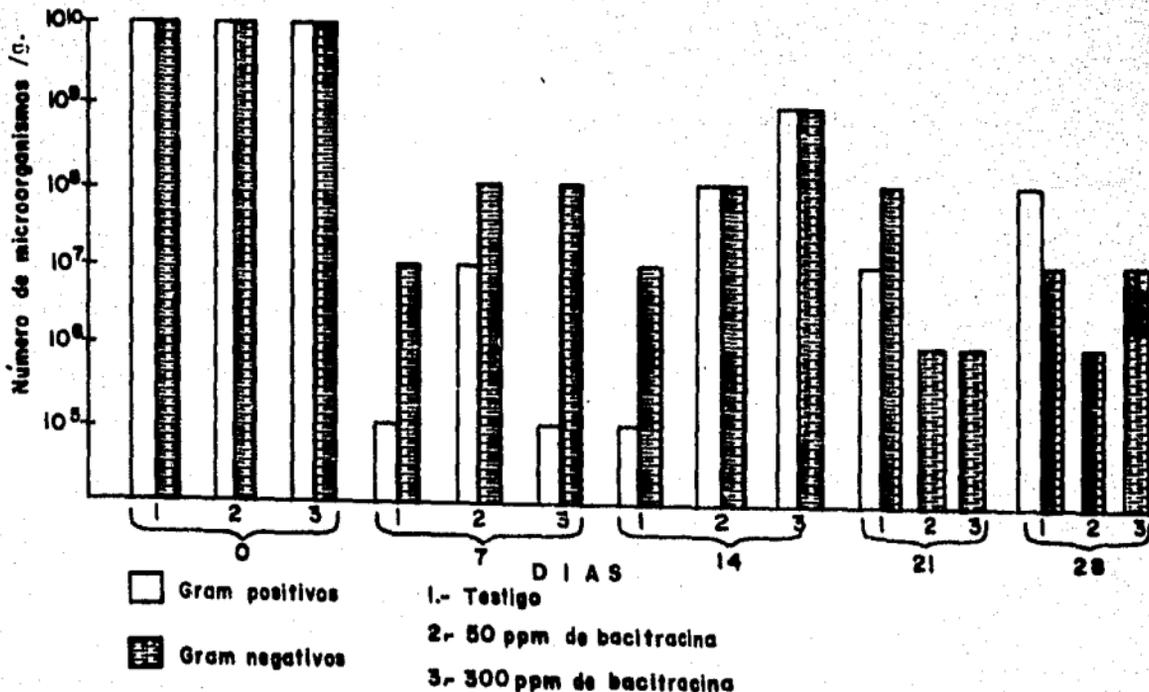
TRATAMIENTOS	COCOS ENTERICOS	E. COLI	BACILLUS	CUENTA TOTAL
1	8.77 <sup>a</sup> ±±c	7.9 <sup>b</sup> ±±c	0 <sup>b</sup>	9.3 ±±c
2	0.00 ±±c	6.0 ±±c	0	6.0 ±±c
3	0.00 ±±b	6.53 ±±c	0	6.87 ±±c

a,b,c, Valores con distintas literales son estadísticamente diferentes  
( ± P 0.05; ±±P 0.01).

1) Expresado en logaritmo base 10.

Gráfica 1

Número total de bacterias en heces a los 0,7,14,21,y 28 días para cada uno de los tratamientos.



## CUADRO 5

## HONGOS AISLADOS EN HECES DURANTE EL EXPERIMENTO

---

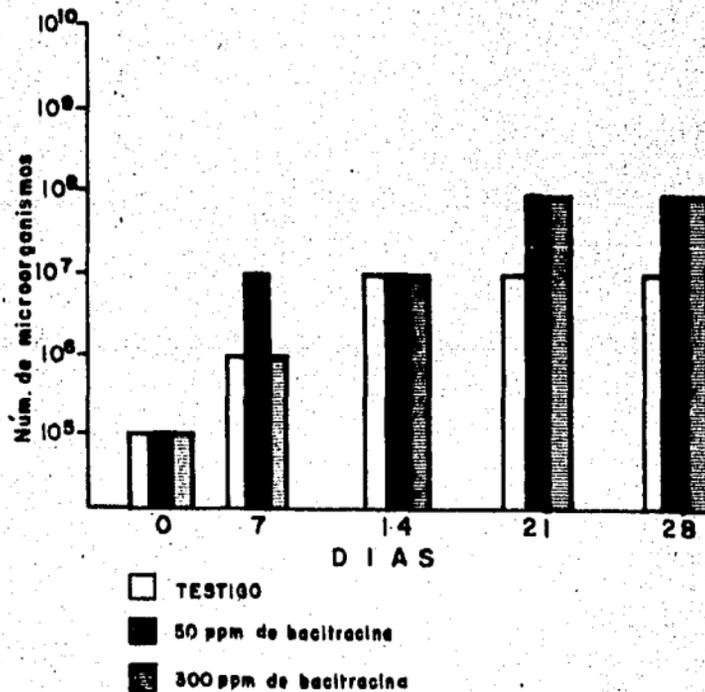
° <u>Aspergillus</u> spp.	<u>Helicomycetes</u> spp.
<u>Fusarium</u> spp	<u>Geotrichum</u> spp.
° <u>Penicillium</u> spp	<u>Botritis</u> spp.
° <u>Actinomicetos</u>	<u>Syncephalastrum</u> spp.
° Levaduras	<u>Helicosporium</u> spp.
<u>Allescheria</u> spp.	<u>Absidia</u> spp.
<u>Alternaria</u> spp.	<u>Oidodendro</u> spp.
<u>Basipetospora</u> spp.	<u>Monilia</u> spp.
<u>Bdellospora</u> spp.	

---

° Se aislaron en forma más abundante.

Gráfica 2

Número total de hongos en heces a los 0,7,14, 21 y 28 días para cada uno de los tratamientos.



CUADRO . 6

BACTERIAS AISLADAS EN INTESTINO DELGADO DEL GRUPO TESTIGO

---

B A C T E R I A S

---

² cocos entéricos .

² E. coli

² Bacillus spp.

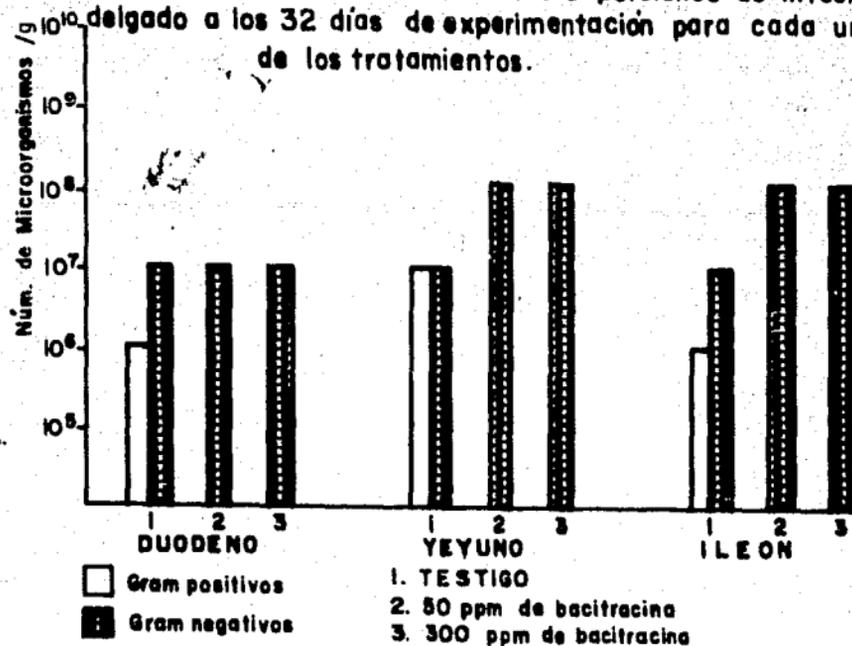
Proteus spp.

Klebsiella spp.

² La cuenta total de estos microorganismos presentó variación durante el experimento.

Gráfica 3

Número total de bacterias en las 3 porciones de intestino delgado a los 32 días de experimentación para cada uno de los tratamientos.



CUADRO 7

HONGOS AISLADOS EN INTESTINO DELGADO

H O N G O S

Aspergillus spp.

Alternaria spp.

Actinomicetos

Paecilomyces spp.

Bdellospora spp.

Allescheria spp.

Geotrichum spp.

Penicillium spp.

Helicomyces spp.

Rodotorula spp.

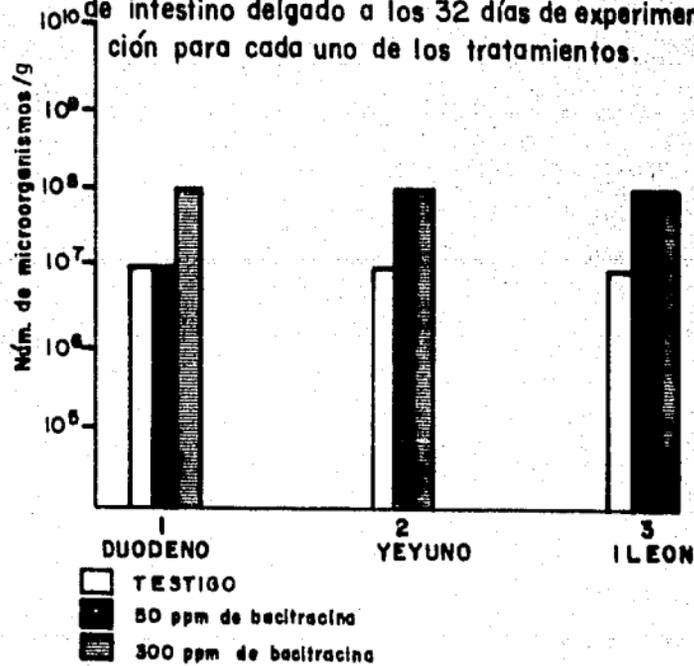
Mucor spp.

Hilicosporium spp.

Levaduras

Gráfica 4

Número total de hongos en las 3 porciones de intestino delgado a los 32 días de experimentación para cada uno de los tratamientos.



## CUADRO 8

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD DE BACTERIAS AISLADAS EN HECES

BACTERIAS AISLADAS <sup>1)</sup>	% INHIBICION
cocos entericos	100
<u>E. coli</u>	0
<u>Klebsiella</u> spp.	0
<u>Proteus</u> spp.	0
<u>Bacillus</u> spp.	80
<u>Enterobacter</u> spp.	0
<u>Plesiomonas</u> spp.	0
<u>Actinobacillus</u> spp.	0
<u>Hafnia alvei</u>	0

1) Bacterias aisladas en todos los tratamientos (1, 2, 3) en los días 0, 7, 14, 21 y 28.

## CUADRO 9

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD DE BACTERIAS AISLADAS EN  
 INTESTINO DELGADO

BACTERIAS AISLADAS <sup>1)</sup>	% DE INHIBICION
cocos entéricos	100
<u>E. coli</u>	0
<u>Bacillus</u> spp	100
<u>Proteus</u> spp	0
<u>Klebsiella</u> spp.	0

1) Bacterias aisladas en todos los tratamientos (1,2,3) en las tres porciones del intestino delgado.

## DISCUSION:

Los microorganismos que predominaron en el alimento fueron micrococcus; son germen considerados como contaminantes del medio ambiente, y las cuentas totales aisladas son consideradas normales, ya que no se aisló ningún agente patógeno de importancia; al mismo tiempo no se aislaron bacterias anaerobias. En lo que respecta a hongos, los que pueden ser de cierta importancia son Aspergillus spp., y Penicillium spp., que se aislaron solo en bajas proporciones.

El detrimento observado en la cuenta total de bacterias en los 3 grupos durante el muestreo de los 7 días, esta reportado en la literatura, en donde se considera como un proceso normal (2,13,22), ya que las aves - al inicio de su vida presentan un tipo de flora microbiana, la cuál - después de los primeros 14 días de vida es modificada gradualmente. -

Las cuentas viables para los 3 grupos a los 14, 21 y 28 días fueron muy similares, sin embargo ocurrió un cambio en las especies aisladas, puesto que en los grupos donde la dieta contenía bacitracina ya no se aislaron germen gram positivos después de los 14 días, mientras en el testigo que no contenía este antibiótico se siguieron presentando estos microorganismos.

A los 14 días del experimento se observó en los 2 grupos tratados un incremento considerable de las bacterias gram positivas, en comparación -- con el control sin tratar, lo cual es contrario a lo esperado, al comparar las gram positivas de los grupos tratados contra el testigo fué significativo ( $P < 0.05$ ). Sin embargo estos datos son difíciles de explicar, pudiendo deberse a que, en esta etapa de vida de las aves, la flora microbiana intestinal sufre cambios en cuanto a especies bacterianas (2,13,21),

bién probablemente se originó a consecuencia de errores técnicos, o que las heces hayan sido contaminadas por el medio ambiente.

Las bacterias aisladas e identificadas en heces fueron muy similares en los 3 grupos, excepto los germen gram positivos que no se aislaron - después de los 14 días, donde se observa que el número de Enterococcus spp., y E. coli presentó variación estadística; es probable que la flora gram positiva fuese substituida por la flora gram negativa (2,12,20).

El consumo de bacitracina en dosis subterapéutica en la dieta, durante 28 días, causó una reducción sobre el número de bacterias vivas por gramo de heces, lo cuál se evidencia por la diferencia estadísticamente -- significativa que se observó al comparar los resultados de las cuentas viables obtenidas con los grupos tratados en relación al testigo.

El hecho de que solamente se lograra el aislamiento de germen anaerobios a partir de la dilución  $10^{-1}$ , pero no en las diluciones empleadas para determinación del número de bacterias anaerobias, por gramo de heces, sugiere que estos agentes se encontraban en escasa proporción ó - bién que las muestras estuvieron expuestas al  $O_2$  durante mucho tiempo. En las cuentas totales de hongos es de notarse que se comportan muy similar en los 3 tratamientos hasta los 14 días, presentandose el cambio en muestreos posteriores, donde se nota que es en esta etapa donde las bacterias empiezan a modificarse en cuanto a las especies bacterianas pues ya no se aislaron germen gram positivos, mientras que la flora micótica sufre un ligero aumento en cuanto a cantidad. En lo que respecta a las especies de hongos aislados, estos no cambian; es importante - señalar que la eliminación de bacterias por efecto del antibiótico propicia la colonización de agentes micóticos en la mucosa intestinal, por

lo que en caso de existir hongos patógenos estos jugarían un papel importante en la salud de los animales.

En lo que concierne a las 3 porciones de intestino delgado se nota que en los 2 grupos que contenía bacitracina en el alimento, no se aisló ningún germen gram positivo, no siendo así en el grupo testigo donde se siguieron aislando hasta el final del experimento.

En la literatura se reporta (1,2,14,22,31) que las bacterias gram positivas están inmiscuidas en el síndrome de mala absorción en aves jóvenes, produciendo ciertos tipos de irritación en la mucosa, que provocan alteraciones de la pared intestinal, propiamente de las vellosidades, las que dificultan la absorción adecuada de nutrientes; además que ciertas bacterias de este tipo producen enfermedades clínicas o subclínicas, como en el caso de la enteritis necrótica (1,14,33), que son de importancia para la avicultura.

La bacitracina es un antibiótico que reúne muchas características para ser usado como aditivo, tales como: casi no es usado en terapéutica médica, no se conoce que existan repercusiones de sensibilidad y de propiciar el desarrollo de cepas resistentes; además, es un compuesto que no se absorbe a nivel intestinal y que actúa únicamente contra gérmenes Gram positivos, lo cual es de tomarse en cuenta para que substituya, como aditivo en la dieta de animales a otros agentes antimicrobianos tales como penicilina, que son frecuentemente usados en la terapia médica.

Respecto a los mecanismos de como actúan los antibióticos, muchos trabajos consideran que su acción la ejercen sobre procesos metabólicos del animal; además pueden reducir los requerimientos de algunos nutrientes en la dieta, y estimular el crecimiento de microorganismos responsables de la síntesis

de vitaminas y aminoácidos (4,7,11,12,14,17,18,20,28).

También se ha observado que pueden inhibir la microflora que compite por los nutrientes del alimento y funcionar como agentes preventivos para el control de infecciones bacterianas.

Es importante mencionar que aquellos antibióticos que se usen como aditivos alimenticios no sean usados en terapéutica médica, ya que pueden inducir resistencia de tipo cruzada con otros antibióticos o con las bacterias y así generar microorganismos resistentes, al mismo tiempo - estos antimicrobianos no deben actuar contra germen Gram negativos, no generar resistencia cruzada, no deben ser absorbibles a través de mucosas, ser fácilmente degradables e inoocuos para el operador.

Estudios hechos in vitro por Szybalski y Bryson en (1952) y por Jawetz (1961) in vivo, mencionan que la resistencia que confiere la bacitracina sobre las bacterias no surge fácilmente en infecciones en las cuáles se emplea esta droga, ni ocurre resistencia cruzada entre este antibiótico y otros antimicrobianos. Los resultados del presente estudio confirman lo anterior, puesto que únicamente una de las cepas gram positivas estudiadas resultó resistente al antibiótico.

## CONCLUSIONES:

- 1.- El uso de bacitracina en la dieta de las aves modifica la flora intestinal, eliminando exclusivamente bacterias Gram positivas.
- 2.- La eliminación de los cocos entéricos parece jugar un papel importante en la mejor conversión del alimento en dietas que contienen bacitracina.
- 3.- Los agentes micóticos aumentan en el tracto intestinal de aves que ingieren alimento con éste antibiótico.
- 4.- Solamente se encontró una cepa de Bacillus spp., resistente a la bacitracina por lo que se recomienda el uso de éste antibiótico en substitución de las penicilinas u otros que son comunmente utilizados en la terapéutica médica, o como aditivos en la dieta de animales.
- 5.- El uso de antibióticos como aditivo alimenticio previene las infecciones clínicas y subclínicas en las explotaciones de los animales domésticos.

## A P E N D I C E

## RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA - BACTERIAS EN HECES EN LOS 3 TRAT.

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm día 0

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{13}$ )	Cuadrados medios ( $10^{10}$ )	F	
Tratm.	2	62612667	31306333500		
Error	6	13456000	2242666667	1.3959	N.S.
Total	8	1408216000	176027000000		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm. VS 300 ppm. día 7

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{14}$ )	Cuadrados medios ( $10^{11}$ )	F	
Tratm.	2	16200	8100000		
Error	6	36640	6106666	1.32641	N.S.
Total	8	52841	6605125		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm. VS 300 ppm. día 14

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{12}$ )	Cuadrados medios ( $10^9$ )	F	
Tratm.	2	4699172	2349586000		
Error	6	12770561	2128426833	1.103	N.S.
Total	8	17469730	2183716250		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm día 21

Fuente	GL	( $10^8$ ) Suma de cuadrados	( $10^6$ ) Cuadrados medios	F	
Tratm.	2	25944820	1297241000	1.284	N.S.
Error	6	60500000	100833333		
Total	8	86549689	1081871113		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm día 28

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^8$ )	( $10^6$ ) Cuadrados medios	F	
Tratm.	2	72320422	3616021100		
Error	6	38260467	637674450	5.67	*
Total	8	1105800890	1382261125		

## ANALISIS VARIANZA - BACTERIAS EN HECES EN LOS 3 TRATAMIENTOS:

ANOVA. Efecto de muestreo a diferentes días. Testigo

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{20}$ )	Cuadrados medios ( $10^{20}$ )	F
Tratm.	4	2103857700	525964425	1.042158 N.S.
Error	1	50468744	50468744	
Total	5	2154326400	430865280	

ANOVA. Efecto de muestreo a diferentes días Trat. 50 ppm.

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{21}$ )	Cuadrados medios ( $10^{20}$ )	F
Tratm	4	139746670	349366675	5.4310297 *
Error	1	64327888	64327888	
Total	5	204074560	408149120	

ANOVA. Efecto de muestreo a diferentes días Trat. 300 ppm.

Fuente	GL	( $10^{21}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{20}$ )	F
Tratm.	4	134273390	335683475	5.1367007 *
Error	1	6535	6535	
Total	5	199623410	399246820	

ANOVA. Efecto de tratamiento considerando todas las observaciones en todos los días de muestreo.

Fuente	GL	( $10^{21}$ ) Suma de cuadrados	( $10^{20}$ ) Cuadrados medios	F
Tratm.	2	67.55499785	337.7749893	0.820140 N.S.
Error	42	61.91306055	14.74120489	
Total	44	5.641937297	1.282258477	

## RESULTADOS. HONGOS EN HECEs EN LOS 3 TRATAMIENTOS

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm a los 0 días

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{21}$ )	Cuadrados medios ( $10^{20}$ )	F	
Tratm.	2	68.247	341.230269		
Error	6	68.247	113.7460897	.72550160	N.S.
Total	8	6.3345932	7.9182415		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm a los 7 días

Fuente	GL	( $10^{15}$ ) Suma de cuadrados	( $10^{14}$ ) Cuadrados medios	F	
Trat.	2	17.4325	87.1625		
Error	6	17.4325	29.054167	.38392230	N.S.
Total	8	1.977802	2.4722525		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm a los 14 días

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{15}$ )	Cuadrados medios ( $10^{14}$ )	F	
Tratm.	2	39.692216	198.46108		
Error	6	39.692216	66.15369333	.5530793	N.S.
Total	8	7.4339161	9.292395125		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm a los 21 días

Fuente	GL	( $10^{17}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{16}$ )	F	
Tratm.	2	2.9594842	14.797421		
Error	6	2.9594842	4.932473667	3.329259	N.S.
Total	8	1.7659853	2.207481625		

ANOVA. Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm a los 28 días

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{15}$ )	Cuadrados medios ( $10^{14}$ )	F	
Tratm.	2	147.7777	738.8885		
Error	6	147.7777	246.2961667	.0603352	N.S.
Total	8	2.91337999	3.641724988		

## BACTERIAS AEROBIAS A LOS 32 DIAS EN INTESTINO DELGADO

Total testigo VS 50 ppm VS 300 ppm

Fuente	GL	( $10^{12}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{11}$ )	F	
Tratm.	2	101.7163889	508.5819445		
Error	24	101.7163839	42.38182871	0.5708261 556	N.S.
Total	26	8.836383889	3.398611111		

DUODENO Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm en bacterias

Fuente	GL	( $10^{11}$ ) Suma de cuadrados	( $10^{10}$ ) Cuadrados medios	F	
Tratm.	2	6.8	34		
Error	6	5.53333	9.222216667	.68674698	N.S.
Total	8	1.2666667	1.583333375		

YEYUNO Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm en bacterias

Fuente	GL	( $10^{13}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{12}$ )	F	
Tratm.	2	8.038222	40.19111		
Error	6	8.038222	13.39703667	.6548449	N.S.
Total	8	1.440222	1.8002775		

ILEON Testigo VS 50 ppm VS 300 ppm en bacterias

Fuente	GL	( $10^{11}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{11}$ )	F	
Tratm.	2	45.4	22.7		
Error	6	45.4	7.566666667	.833022063	N.S.
Total	8	9.86666	1.2333325		

## HONGOS EN 3 PORCIONES DE INTESTINO DELGADO

ANOVA. Duodeno testigo VS 50 ppm VS 300 ppm

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $\times 10^{17}$ )	Cuadrados medios ( $10^{16}$ )	F	
Tratm.	2	4.732338883	23.66169442		
Error	6	4.732338883	7.887231472	1.898693	N.S.
Total	8	1.571708217	1.964635271		

ANOVA. Yeyuno testigo VS 50 ppm VS 300 ppm

Fuente	GL	Suma de cuadrados ( $10^{16}$ )	Cuadrados medios ( $10^{15}$ )	F	
Tratm.	2	2.830008	14.15004		
Error	6	2.830008	4.71668	.45432728	N.S.
Total	8	1.704498667	2.130623334		

ANOVA. Ileon testigo VS 50 ppm VS 300 ppm

Fuente	GL	( $10^{15}$ ) Suma de cuadrados	Cuadrados medios ( $10^{14}$ )	F	
Tratm.	2	48.9343755	244.6718775		
Error	6	48.9343755	81.5572925	.4753853	N.S.
Total	8	6.6935555	8.366944375		

Fuente	GL	( $10^{17}$ ) Suma de cuadrados	( $10^{15}$ ) Cuadrados medios	F	
Tratm.	2	4.0982472	204.91236		
Error	24	4.0982472	17.07603	2.7488054	N.S.
Total	26	1.457362	5.605238462		

## BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Barnes, M., Mead, G.C., y Adams, B.W.: The effect of dietary bacitracin on the incidence of Streptococcus faecalis subspecies liquefaciens and related streptococci in the intestines of young chicks. Br. Poult Sci. 19: 713-723 (1978).
- 2.- Barnes, M., Mead, G.C., y Barnum, D.A.: The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. Br. Poult Sci. 13: 311-326 (1972).
- 3.- Barnett, H.L., y Hunter, B.B.: Illustrated genera of imperfect fungi. 3a. ed. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, -- (1960).
- 4.- Begin, J.J.: The effect of antibiotic supplementation on growth and energy utilization of chicks. Br. Poult Sci 1496-1500 (1971).
- 5.- Buchanan, R.E., y Gibbons, M.E., Bergey's Manual of determinative bacteriology, 8a. ed. Williams, and Wilkins Company, Baltimore -- (1974).
- 6.- Cowan, S.T., y Steel, K.S.: Manual for the identification of medical bacteria. 2a. ed. Cambridge University Press, New York (1974).
- 7.- Crampton, E.W., y Harris, L.E. Nutrición animal aplicada, 2a. ed. 182-191 (1974).
- 8.- Cuca G.M.: Semblanzas y perspectivas de la avicultura en México, - IV Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura, SARH (1978).
- 9.- Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.H., Ginsberg, H.S., Barry, W.W.: Microbiology 2a. ed. Harper Row Publishers, Inc. (1973).

- 10.- Edwards, P.R., y Ewing, W.H.: Identification of enterobacteriaceae. 3a. ed. Burgess Publishing Company (1972).
- 11.- Gedek, B. Emploi d'antibiotiques a doses nutritives, prophylactiques et therapeutiques et developpement de resistances chez les bacteries intestinales. Rev. Med. Vet., 30 (2): 255-283 (1979)
- 12.- Hays, V.W., Muir, W.M.: Efficacy and safety of feed additive use of antibacterial drugs in animal production. Can. J. Anim. Sci. 59: 447-456 (1979).
- 13.- Huhtanen, C.N., y Pensack, J.M.: The development of the intestinal flora of the young chick. American Cyanamid Company, New Jersey (1964).
- 14.- Huhtanen, C.N. y Pensack, J.M.: The role of Streptococcus faecalis in the antibiotic growth effect on chickens American Cyanamid Company, New Jersey (1964).
- 15.- Jawetz, E., Melnick, L.J., Adelberg, E.A.: Manual de Microbiología Médica, 8a. ed. El Manual Moderno, S.A., México, D.F. (1977).
- 16.- Kitai, K., y Arakawa, A.: In vitro antibiotic susceptibility of enteric bacteria isolated from comercial broiler chickens. Br. Poult Sci. 57: 392-397 (1978).
- 17.- Lebek, G., Acción de agentes antibacterianos mezclados en el alimento de animales, sobre el desarrollo de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos y a los quimioterápicos; La técnica en Agricultura y Ganadería, 43-47 (1969).
- 18.- Leffries, L., Colema, K., y Bunyan, J.: Antimicrobial Substances and chick growth promotion: Comparative studies on selected compounds in vitro and in vivo. Br. Poult Sci. 18: 295-308 (1977).

- 19.- Lennette, E.H., Spaulding, E.H. y Truant, J.P.: Manual of Clinical - Microbiology. 2a. ed. American Society for Microbiology (1974).
- 20.- Maber, E.C.A.: review of poultry nutrition; Pfizer annual research conference: 9-33 (1971).
- 21.- Mac faddin, J.F.: Biochemical test for identification of medical - bacteria. The Williams and Wilkins Company (1976).
- 22.- Mead, G.C. y Adams, B.W.: Some observations on the caecal microflo - ra of the chick during the first two weeks of life. Br. Poult Sci. - 16: 169-176 (1975).
- 23.- Postgate, J.R.: Viable count and viability in: Methods in microbio - logy I. Morris, J.R. y Ribbons, D.W. 3a. ed. Academic Press. Inc. London and New York p. 616 (1971).
- 24.- Ridell, R.W.: Permanent Stained micological preparations obtained - by slide culture. Mycologia. 42: 265 (1950).
- 25.- Robinson, K.L.: Food additives as growth promoters for livestock in the united kingdom and in the European economic community. Can. J. Anim. Sci. 59: 411-417 (1979).
- 26.- Sharby, T.F.: Some observations on the use of Food additives in - Canadian animal production. Can. J. Anim. Sci. 59: 333-337 (1979).
- 27.- Shimada, A: Empleo de antibióticos en la alimentación de cerdos: Ciencia Veterinaria, Vol. 1, 1a. ed. Universidad Nacional Autono - ma de México, 287-293 (1976).
- 28.- Sigurd Funder: Practical Mycology. Manual for identification of - fungi. 3a. ed. New York (1968).

- 29.- Stell, R.C.D. y Torrie, J.H.: Principles and procedures of Statistics. Mc. Graw Hill book Company Inc. (1960).
- 30.- Untawale, G.G. y McGinnis, J.: Effect of rye and levels of raw and autoclaved beans (Phaseolus vulgaris) on adhesion of microflora to the intestinal mucosa. Br. Poult Sci. 58: 928-933 (1979).
- 31.- Weiberg, E.D.: Antibiotics I.: Mecanism of action, editores, Gottlieb D. y Show, D.P. New York (1967).
- 32.- Wicker, D.L., Isgrigg, M.N., Trammerl, J.H., y Davis, R.B.: The control and prevention of necrotic enteritis in broilers with zinc bacitracin. Br. Poult Sci. 56: 1229-1231 (1971).