

01689



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1^{2e.}

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFECTO DE LA SUPLEMENTACION DE *Saccharomyces cerevisiae* EMPLEADO COMO PROBIOTICO SOBRE LA MORFOLOGIA DE LA MUCOSA INTESTINAL Y EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO EN CERDOS RECIEN DESTETADOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN PRODUCCION ANIMAL

P R E S E N T A

MARIA DEL CARMEN CAMACHO REA

Director de tesis: Ph D. Fernando Perez-Gil Romo

Codirectores de tesis: M. en C. Alfredo K. Spross Suárez

M. P. A. Marco A. Herradora Lozano

M. en C. Rosa María Viguera Villaseñor

M. Sc. José Luis Pablos Hach



México, D.F.

Noviembre 1998

267756

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción intercambio bibliotecario.



M. V. Z. María del Carmen Camacho Rea

CONTENIDO	Página
ÍNDICE DE APÉNDICES	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
RESUMEN	vii
INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes	1
1.1 Probióticos	1
1.2 Mecanismo de acción de los probióticos	2
1.3 Clasificación de los probióticos	3
1.3.1 Bacterias lácticas	3
1.3.2 Levaduras	4
1.4 Microflora intestinal	6
1.5 Colonización bacteriana	6
1.6 Histología del intestino delgado del cerdo	7
1.6.1. Regiones del intestino delgado	8
1.7 Empleo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> como probiótico en cerdos	9
1.8 Efecto del destete en cerdos	10
1.9 Justificación	12
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	13
2.0 Objetivo general	13
2.1 Objetivos específicos	13
2.1 Hipótesis	14
MATERIAL Y MÉTODOS	15
3.0 Localización geográfica	15

3.1	Animales	15
3.2	Análisis nutricional	15
3.3	Análisis histológicos e histoquímicos	16
3.4	Análisis microbiológicos	16
3.5	Asignación de tratamiento	16
3.6	Variables en estudio	17
3.6.1	Consumo de alimento	17
3.6.2	Ganancia de peso	17
3.6.3	Conversión alimenticia	18
3.6.4	Mortalidad	18
3.6.5	Presencia de diarrea	18
3.7	Toma de muestras de Intestino delgado para estudios histológicos y bacteriológico	19
3.8	Análisis estadístico	19
	RESULTADOS	24
4.0	Conteo de levaduras	24
4.1	Resultados histológicos	24
4.1.1	Altura de vellosidades intestinales	24
4.1.2	Profundidad de la Cripta	24
4.2	Resultados histoquímicos	25
4.2.1	Tipo de mucinas en maternidad	25
4.2.1	Tipo de mucinas en destete	26
4.3	Resultados Bacteriologicos	26
4.3.1	Coliformes totales	26
4.3.2	Lactobacilos totales	27
4.4	Resultados de la presencia de diarrea	27

4. 5 Resultados de los parámetros productivos	28
4. 5. 1 Consumo de alimento maternidad	28
4. 5. 2 Consumo de alimento en destete.	28
4. 5. 3 Ganancia de peso destete	28
4. 5. 4. Conversión alimenticia en destete.	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	35
LITERATURA CITADA	55

ÍNDICE DE APÉNDICES

I Técnicas histológicas	37
II Técnicas histoquímica	37
III Técnicas microbiológicas	38
1 Diluciones	38
2 Cuenta en placa de coliformes	39
3 Determinación de lactobacilos	39
IV Técnica para el conteo de levaduras	40

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1 Dieta correspondiente al grupo testigo la cual no contuvo el cultivo de levaduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	41
Cuadro 2. Dieta de iniciación a la cual se le incluyo 0.15% del cultivo de levaduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	42
Cuadro 3. Dieta de iniciación a la cual se le incluyo 0.25% del cultivo de levaduras de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	43
Cuadro 4. Análisis químico proximal de las diferentes dietas de experimentación	44
Cuadro 5. Largo de vellosidades intestinales y profundidad de la cripta en lechones al inicio del experimento en maternidad	44
Cuadro 6. Efecto del cultivo de llevadoras sobre el largo de la vellosidad y la profundidad de la cripta a los 4 y 11 días posdestete	45
Cuadro 7 Tipo de mucinas presente en lechones a los 5 días de edad, en las diferentes secciones del intestino delgado.	46
Cuadro 8. Efecto del probiótico sobre el tipo de mucinas presentes en duodeno, posdestete.	46
Cuadro 9. Efecto del probiótico sobre el tipo de mucinas presentes en yeyuno, posdestete.	47
Cuadro 10. Efecto del probiótico sobre tipo de mucinas presentes en íleon, posdestete.	47

Cuadro 11. Cuantificación de Coliformes totales con las diferentes inclusiones del probiótico	48
Cuadro 12. Cuantificación de lactobacilos totales con las diferentes inclusiones del probiótico	49
Cuadro 13. Consumo de alimento semanal en maternidad en los diferentes tratamientos	50
Cuadro 14. Consumo de alimento total en maternidad en los diferentes tratamientos.	50
Cuadro. 15. Consumo de alimento semanal en destete con las diferentes inclusiones del probiótico	51
Cuadro 16. Consumo de alimento total en destete	52
Cuadro 17. Ganancia de peso semanal en maternidad con las diferentes inclusiones del probiótico.	52
Cuadro 18. Ganancia de peso total en maternidad con las diferentes inclusiones del probiótico.	52
Cuadro 19. Ganancia de peso semanal en destete con las diferentes inclusiones del probiótico.	53
Cuadro 20. Ganancia de peso en destete con las diferentes inclusiones del probiótico	54

INTRODUCCIÓN

1.0 ANTECEDENTES

La preocupación por el elevado empleo de antimicrobianos como promotores de crecimiento en la alimentación animal, la resistencia de ciertos microorganismos patógenos y la presencia de residuos en productos de origen animal dañinos para el humano, han dado la pauta para la creación de nuevas alternativas que mejoren el crecimiento y desarrollo de los animales sin consecuencias para el hombre. Los antimicrobianos han sido utilizados ampliamente como promotores del crecimiento; sin embargo, existen otros productos que pueden mejorar la eficiencia y salud de los animales, tal es el caso de los probióticos (Bertin y Tournut, 1994).

1.1 Probióticos.

Son suplementos alimenticios (Lilly y Stillwel, 1965) que pueden ser mono o mezcla de microorganismos viables, estabilizados y seleccionados por su capacidad de adhesión y reproducción en el intestino (Necoechea y Márquez, 1987; Havenaar y Huis in't Veld, 1992); tienen como principal objetivo crear una simbiosis entre el huésped y el hospedador, mejorando el rendimiento productivo (Roques, *et al.*, 1994) y manteniendo un balance de la flora intestinal indígena (Parker 1974; Fuller, 1989). En lechones recién destetados la modificación de la microflora intestinal a través del uso de probióticos es importante ya que se establece un tipo de flora capaz de competir con aquellos microorganismos que normalmente se presentan bajo condiciones de estrés (Collington, *et al.*, 1990).

En la Comunidad Económica Europea, la Comisión de Expertos en Nutrición Animal ha establecido lineamientos en los que se establece, que para que un probiótico sea considerado como tal, debe cumplir con los siguientes requisitos: La identificación de la

cepa debe ser confirmada en laboratorios reconocidos en el tratado de Budapest, en donde las características de la cepa se registran y se identifican genéticamente; los microorganismos utilizados como probióticos deben resistir el almacenamiento por un periodo mínimo de 1 año en su presentación comercial y de 2 meses en el alimento procesado; debe ser estable a 80 °C; la dosis debe ser evaluada mediante pruebas de dosis-respuesta durante un periodo definido y la cantidad mínima de inclusión debe ser de 10^6 organismos vivos/g de alimento (Tournut, 1994); no deberá ser patógeno y deberá resistir las barreras de defensa del organismo como: saliva, jugos gástricos, biliares, intestinales y pancreáticos; ser genéticamente estable, y estar disponible en cantidades industriales (Snel y Huis in 't Veld, 1997).

1.2 Mecanismo de acción de los probióticos

Existen varias hipótesis respecto al mecanismo de acción de los probióticos, se cree que producen enzimas y sustancias que actúan como antibióticos; que influyen en el metabolismo de aminoácidos; que favorecen el crecimiento de bacterias anaerobias; que estimulan la inmunidad local (Tomioka y Saito, 1992; Tournut, 1994; Salminen, *et. al.*, 1996) o bien que compiten por nutrientes (Hentges, 1992); que estimulan reacciones enzimáticas; que disminuyen la producción de amonía y fenoles, (Muting, *et. al.*, 1968); que tienen actividad anti-tumoral (Adachi, 1992); que reducen el colesterol sérico (Fernandes, *et. al.*, 1992); que se adhieren a receptores en la mucosa intestinal (Stavric y Kornegay, 1995); que actúan como secuestrantes de oxígeno promoviendo el crecimiento de bacterias anaerobias deseables (Tournut, 1994), y que favorecen una predigestión de factores antinutricionales como: ácido fítico, glucosionalatos, factores inhibidores de tripsina y lecitinas (Havenaar y Huis in 't Veld 1992). Estas teorías no están del todo comprobadas, ya que aún no se ha demostrado que un probiótico produzca sustancias semejantes a antibióticos o a enzimas en cantidades suficientes en el lumen intestinal, que tengan un efecto benéfico significativo. En general los principales reportes sobre los efectos de los probióticos en animales demuestran que influyen en la microflora intestinal

indígena, resultando en una mejor conversión alimenticia, disminuyen los problemas gastrointestinales en animales jóvenes, estimulan el desarrollo de microflora indígena y la resistencia a la colonización en el intestino (Havenaar y Huis in 't Veld, 1992). Sin embargo, éste último punto es aún cuestionable, dada la compleja interrelación de millones de microorganismos presentes en el intestino (Tournut, 1994).

1.3 Clasificación de los Probióticos.

Comercialmente los probióticos se han clasificado en dos grupos, el primero representado por bacterias productoras de ácido láctico y el segundo grupo de clasificación son levaduras, entre las que se encuentra *Saccharomyces cerevisiae* (Necoechea y Márquez, 1987, Hoyos, 1997).

1.3.1 Bacterias lácticas

Dentro de las bacterias que más se han utilizado como probióticos se encuentran:

Lactobacillus acidophilus

Lactobacillus casei

Lactobacillus lactis

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus faecium

Streptococcus

Se ha demostrado que la adición de cultivos bacterianos vivos de *Lactobacillus acidophilus* disminuyen el pH intestinal, creando suficiente sustrato fermentable, produciendo ácido láctico, que permite controlar la actividad bacteriana como consecuencia de la supuesta producción de antibióticos. Aparentemente a ello se debe el aumento en la ganancia de peso, misma que se ha llegado a incrementar hasta en un 10% en lechones destetados (Lessard y Brison, 1987).

1. 3. 2 Levaduras

Las levaduras son hongos que pertenecen a la clase de los Ascomycetos, subclase Hemiascomycetidae. Están divididos en dos ordenes: Taphrinales, la cual incluyen pseudolevaduras que parasitan plantas dañando sus hojas y Endomicetales, que incluyen verdaderas levaduras en tres familias. La clasificación de las levaduras se realiza identificando sus ascosporas, las características de las colonias sirven para distinguirlas en géneros y sus características fisiológicas se determinan dependiendo de la habilidad que tengan para fermentar azúcares, lo cual permite la determinación de la especie (Barnet, *et. al.*, 1983).

Las levaduras son heterotróficas, carecen de clorofila y se caracterizan por su amplia distribución en plantas, flores, en la superficie de la piel y el tracto intestinal de animales de sangre caliente, donde pueden vivir simbióticamente. Se reproducen por fisión o pueden crecer en micelio (Barnet, *et. al.*, 1983).

Por más de dos décadas *Saccharomyces cerevisiae* ha sido el modelo para investigaciones en genética molecular, debido al mecanismo básico de replicación, recombinación, división celular y metabolismo, el cual generalmente se conserva entre levaduras y eucariontes mayores, incluyendo mamíferos.

La clasificación Taxonómica a la que pertenece *Saccharomyces cerevisiae* es la siguiente:

Reino: *Fungi*
División: *Amastigomicotes*
Subdivisión: *Ascomycotina*
Clase: *Hemiascomycetidas*
Orden: *Endomycetales*
Familia: *Saccharomycetaceae*
Género: *Saccharomyces*
Especie: *cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae son organismos ligeramente alargados presentan núcleo, nucleolo y membrana nuclear bien definida y con poros; mitocondria, citoplasma, membrana citoplasmática y pared celular constituida de carbohidratos.

En condiciones de laboratorio su multiplicación se obtiene a temperaturas de 3 y 40 °C. La esporogénesis se presenta a temperaturas desde 9 a 37 °C; siendo la optima 30 °C en un tiempo de 40 horas. Los cultivos jóvenes son redondos, ovales o uviformes (Barnet, *et. al.*, 1983).

El tipo de fermentación que *Saccharomyces cerevisiae* produce, debe realizarse en un pH neutro o ligeramente alcalino, los azúcares que fermenta son: glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, ligeramente la rafinosa y de manera nula la lactosa (Barnet, *et. al.*, 1983; Campbell, 1991).

Los medios de cultivo para levaduras y hongos son complicados por los requerimientos de cada especie y considerando que se desarrollan mejor en medios de cultivo naturales; sin embargo también, se cultivan en medios sintéticos como: harina de maíz agar (HMA), glucosa peptona agar (GAPA), lactosa peptona agar (LPA), lactosa-extracto de levadura agar (LELA), extracto de malta agar (EMA), malta-sal-agar (MSA), agar papa dextrosa (APD), papa sucrosa agar (PSA), medio rosa de bengala (MRB-2) y agar saburo (Campbell, 1991).

Saccharomyces cerevisiae por su interés científico y comercial ha sido ampliamente estudiado. Se emplea en la fermentación de azúcar de arroz, trigo, cebada y maíz. Otro uso que se le ha otorgado es como suplemento alimenticio, ya que posee 50% de proteína y son fuentes de vitaminas del complejo B, niacina, y ácido fólico (Barnet, *et. al.*, 1983). La suplementación de *Saccharomyces cerevisiae* como fuente de proteína en cerdos después del destete ya ha sido evaluada con anterioridad; sin embargo, la inclusión con fines de probiótico es una técnica que se esta aplicando actualmente.

1.4 Microflora intestinal

En forma genérica la microflora intestinal es llamada indígena y su importancia como barrera natural de resistencia, en contra de microorganismos patógenos fue descubierto por Metchnikoff durante sus investigaciones sobre el colera. La manipulación de la microflora indígena puede realizarse mediante el establecimiento de un grupo de bacterias específicas dentro del tracto gastrointestinal mediante la vía oral, este método puede reducir los cambios en la microflora intestinal ocasionados por microorganismos patógenos que comúnmente se observan bajo situaciones de estrés (Metchnikoff, 1908; Tannock, 1983). Sin embargo, varios estudios han demostrado que el cambio de lactobacilos de una especie a otra no colonizan mutuamente (Tannock, *et. al.*, 1982) y que la normalización de la microbiota intestinal no puede ocurrir por inoculación de complejos mixtos de microflora de otras especies animales a animales libres de microorganismos (Koopman, *et. al.*, 1984).

La composición de la microflora indígena es muy compleja y esta estrictamente determinada por condiciones medioambientales y locales, determinadas por procesos multifactoriales entre el huésped y los microorganismos; por lo tanto, la microflora intestinal es específica de especie. La densidad en la población de microorganismos varía de un sitio a otro; sin embargo, se estima que existen 10^8 bacterias por ml de saliva y 10^{10} por gramo de contenido intestinal en el intestino grueso (Koopman, *et. al.*, 1984).

1.5 Colonización bacteriana

La colonización dentro del tracto gastrointestinal está determinada por las condiciones que encuentran los microorganismos en las criptas intestinales; sin embargo, otros los encuentran en el epitelio de las vellosidades intestinales (Lee, 1985; Havenaar y Huis in 't Veld, 1992). La resistencia a la colonización creada por microflora indígena está basada sobre la ocupación de nichos disponibles y factores de regulación autógenos

(síntesis de ácidos grasos, peróxido de hidrogeno, bacterocinas) otro factor es la estimulación inespecífica del sistema inmune (Havenaar y Huis in't Veld, 1992).

Los impedimentos para la colonización temprana o maduración de la microflora indígena se ve influenciada por varios factores tales como: edad, exposición del neonato a su madre, cambios abruptos de alimentación y factores externos como el ambiente, tipo de alimento, privación de agua, prácticas rutinarias de manejo, estrés y antibióticos, (Miller, *et al.*, 1986; Havenaar y Huis in't Veld, 1992).

1. 6 Histología del intestino delgado del cerdo.

El intestino delgado es una continuación del tracto digestivo, se encuentra modificado para secretar y absorber materiales; debido a esto presenta pliegues, vellosidades y microvellosidades que aumentan la superficie de secreción y absorción (Banks, 1986; Junqueira y Carneiro, 1987).

En la unión gastroduodenal existe un cambio en la membrana de la mucosa. Las fosas gástricas son remplazadas por proyecciones digitiformes llamadas vellosidades intestinales, las cuales son más altas en el duodeno y menos en el íleon. Estas vellosidades tiene un revestimiento epitelial formado en su mayoría por enterocitos. En la base de las vellosidades estan las aberturas de las criptas intestinales (Copenhaver y Wood, 1978).

Histologicamente el intestino delgado esta formado de la luz intestinal hacia fuera por una mucosa, submucosa, muscular y una serosa.

La mucosa consta de una lámina epitelial formada por tres tipos de células: células de revestimiento o enterocitos, caliciformes y enterocromafines.

Los enterocitos son las células que revisten las vellosidades intestinales constituyen un epitelio cilíndrico simple, el borde apical tiene microvellosidades dispuestas como borde estriado. El citoplasma es finamente acidófilo, granular, presentan un núcleo alargado y desplazado de manera basal. Estas células tiene participación activa en el proceso de absorción (Banks, 1986).

Las células caliciformes están dispersas entre el epitelio de las vellosidades y se incrementan a través del intestino delgado presentándose en mayor número en el íleon. (Banks, 1986). Se caracterizan por secretar mucinas, las cuales son glucoproteínas que al hidratarse forman una sustancia denominada moco. Su naturaleza puede ser ácida, neutra o mezcla de ambas. Las mucinas del tipo ácidas presentan en su cadena carbonada un residuo de ácido sialico y esteres sulfatados (Rhodes, 1989). Se conoce poco sobre su acción y distribución en el intestino delgado, se sabe que tiene efecto bacteriostático (Vigueras, *et. al.*, 1991), contribuyen en la acidificación del pH intestinal, sirven como nicho o nutriente para la microflora intestinal y en algunos casos evitan la adherencia bacteriana (Parson, *et. al.*, 1989).

Las criptas intestinales son invaginaciones tubulares simples o ramificadas y se abren en la base de las vellosidades. Su epitelio tiene células de revestimiento cilíndricas, células caliciformes y argentafines. Las células de revestimiento son menos diferenciadas que las de las vellosidades y existen diversas células en mitosis. Estas células van migrando a la punta de la vellosidad para formar parte del epitelio de revestimiento y finalmente son remplazadas por otras en un lapso de tres días (Banks, 1986).

La mucosa presenta una lamina propia de tejido conjuntivo retículo areolar, y dentro de esta lamina se encuentran criptas intestinales y nódulos linfoides. Las criptas intestinales pueden ocupar casi toda la mucosa.

Los ganglios linfáticos se incrementan en forma caudal del intestino y pueden ocupar la lamina propia así como parte de la submucosa (Banks, 1986).

La submucosa presenta glándulas intestinales simples y ramificadas las cuales abren en las criptas, en el cerdo son del tipo serosas y se encuentran en el duodeno (Banks, 1986).

1. 6. 1 Regiones del intestino delgado

El duodeno es la porción fija del intestino delgado presenta una mucosa con abundantes pliegues circulares. Las vellosidades intestinales son variables y tienden a ser regulares, anchas y obtusas. Las criptas intestinales son notorias; existe gran cantidad de

glándulas intestinales en la submucosa y los ganglios linfáticos en esta zona son escasos (Banks, 1986).

El yeyuno es la región mesentérica del intestino delgado, es parecida al duodeno. Las glándulas intestinales se limitan a la porción inicial, las vellosidades son más angostas y pequeñas y están en menor cantidad. Los nódulos linfoides se presentan en la mucosa y submucosa (Banks, 1986).

En el íleon existe un aumento en las células calciformes y el tejido linfático es muy notorio, formando las placas de Peyer. Los nódulos linfáticos pueden ser tan prominentes que pueden llegar a obliterar la vellosidad intestinal. Las criptas intestinales reciben el nombre de cráteres linfáticos, siendo muy prominentes en el cerdo (Banks, 1986).

1.7 Uso de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico en cerdos

Para que los cultivos de levaduras sirvan como probiótico, deben ser seleccionados para la nutrición animal y conservar su capacidad fermentativa (Lyons, 1987); deben ser suplementados a una dosis mínima de 10^6 ufc/g de alimento, para así, obtener una completa saturación de la pared intestinal (Bertin y Tournut, 1994).

En la actualidad la importancia que tiene *Saccharomyces cerevisiae* es en el campo de la nutrición animal, en donde se ha demostrado que mejora los parámetros productivos en animales en crecimiento (Bertin y Tournut, 1994). El empleo de *Saccharomyces* en las dietas de las cerdas quince días antes del parto y durante la lactancia ha tenido efectos benéficos en los lechones, resultando en un mayor peso corporal al destete (Tournut, 1994).

Bertin y Tournut (1994) incluyeron dos niveles de *Saccharomyces cerevisiae* 10^6 ufc/g y 2.5×10^6 ufc/g de alimento, encontraron que la ganancia de peso fue mayor en 1% para el primer nivel y en 3% para el segundo. El metabolismo energético aumentó en 2% y 3% respectivamente, y no se presentaron diarreas, lo cual se atribuyó a la adición de la

levadura. Los cerdos que recibieron la mayor inclusión de levadura en el alimento tuvieron un incremento en la producción de bacterias hetero y homofermentativas, siendo significativo para las últimas. Las bacterias grampositivas anaerobias se incrementaron significativamente con la inclusión de 10^6 ufc/g de alimento, presentando también un aumento en el número de bacterias productoras de ácido láctico.

1.8 Efecto del destete en cerdos

Dentro de los beneficios observados con el empleo de probióticos se menciona que existe una disminución en la mortalidad, reducción de problemas digestivos, menor índice de conversión alimenticia y mayor velocidad de crecimiento corporal (Fuller, 1989); sin embargo, no se ha estudiado con profundidad la influencia que pueden tener en la integridad de la mucosa intestinal, en el periodo inmediato al destete de los cerdos (Nousiainen, 1991). Este periodo es un momento de particular vulnerabilidad, en el que se presentan diversos trastornos digestivos. Se ha observado que el intestino delgado de lechones recién destetados sufre cambios en la arquitectura de la mucosa intestinal (Kelly, *et. al.*, 1991a), observándose un aumento en la velocidad de división celular de las criptas intestinales, lo que origina una hiperplasia y una atrofia de vellosidades intestinales (Vega y Stokes, 1994). El resultado de estos cambios está asociado a una reducción en la actividad específica de la enzima disacaridasa (Miller, *et. al.*, 1986; Kelly, 1990; Pulske, *et. al.*, 1996c) y una reducción en la capacidad del intestino para absorber xilosa (Miller, *et. al.*, 1984; Hampson y Kidder, 1986; Hampson y Smith, 1986) alanina (Smith, 1984; Miller, *et. al.*, 1986) y electrolitos (Nabuurs y Hoogendoorn, 1993). Lo anterior puede explicar la disminución en el consumo de alimento frecuentemente observada en el destete (Hampson, 1983). Gay, *et. al.*, (1976) descubrieron que también existe una aparente disminución de la actividad enzimática de la lactasa y sacarasa, atribuible al destete, lo cual fue confirmado por Miller, *et. al.*, (1986) y refutado posteriormente por Kelly, *et. al.*, (1991 ab).

Existen teorías que tratan de explicar el origen de los cambios morfológicos que ocurren en la mucosa intestinal después del destete, entre las que se encuentran: incremento

de la flora intestinal; nivel de consumo y tipo de alimento; antígenos dietarios (Miller, *et al.*, 1986); reacciones inflamatorias en respuesta a metabolitos (Kenworthy, 1976); irritación de la mucosa intestinal; el retiro de algún “factor intrínseco” como la IgA (Hampson, 1986; Kelly, *et al.*, 1991a; Kelly, *et al.*, 1991b); y la combinación de factores nutricionales y ambientales. Asimismo, Hampson (1986) demostró que el trauma asociado con el cambio físico de la dieta y el pobre e irregular consumo de alimento, no influyen en los cambios observados en la estructura de la mucosa intestinal del cerdo recién destetado; sin embargo, Kelly (1990) demostró que el pobre consumo de alimento después del destete por sí sólo, tiene un efecto sobre la integridad de las criptas y vellosidades intestinales. Pulske, *et al.*, (1996a) encontraron que una dieta líquida a base de leche de vaca suplementada o con L-Glutamina evita la reducción en la altura de las vellosidades intestinales y el aumento en la profundidad de las criptas, en comparación con lechones alimentados con dietas secas de iniciación. Así sugieren que existe una asociación entre el largo de la vellosidad intestinal, nivel de consumo y tipo de alimento, con la ganancia de peso después del destete.

Nabuurs y Hoogendoorn (1993) realizaron un estudio proporcionando un sustituto lácteo desde la primera semana de vida y hasta una semana antes del destete, encontrando que la adición de éste evitó los cambios histológicos que se observan comúnmente en la mucosa intestinal, en lechones recién destetados. En varios estudios se ha observado una posible contribución del consumo y tipo de alimento sobre estos cambios, ya que tienen un papel importante en la integridad de la mucosa intestinal, pero se le ha dado muy poco valor o no es considerado como una etiología importante (Pulske, *et al.*, 1996b), y se espera que los antimicrobianos usados como aditivos para prevenir enfermedades y estimular el crecimiento de los animales dejen de ser utilizados en el futuro, ya que el empleo de probióticos podría tomar ese papel (López y Márquez, 1994).

Kornegay, *et al.*, (1995) suplementaron con 0.75% de inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* dietas de iniciación para cerdos con y sin suero de leche deshidratado y diferentes niveles de fibra; los resultados obtenidos demostraron que *Saccharomyces*

cerevisiae no tuvo ningún efecto sobre el comportamiento productivo de los cerdos y en la digestibilidad de la dieta; sin embargo, existió un incremento en la absorción de fósforo.

La suplementación con levaduras teóricamente mejora el consumo de alimento, el índice de crecimiento y la eficiencia alimenticia; sin embargo estos resultados no han sido constantes (Kornegay, *et. al.*, 1995).

1. 9 Justificación

Se sabe que los probióticos favorecen el rendimiento productivo de los animales, pero los efectos que posiblemente tengan sobre la mucosa intestinal aún no se han estudiado por completo. Por consiguiente, el propósito de éste trabajo consistió en evaluar el efecto de un cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* empleado como probiótico, sobre la integridad de las vellosidades y criptas intestinales, ya que de ello depende una mayor absorción y digestión de nutrimentos, así como, la distribución de mucinas ácidas que disminuyen el pH intestinal, favoreciendo la digestibilidad de nutrimentos.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.0 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión del cultivo de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* empleado como probiótico en dietas de iniciación, sobre la integridad de la mucosa intestinal, el tipo de mucina presente, la población bacteriana y la eficiencia productiva en cerdos recién destetados.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la posible influencia del cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* empleado como probiótico, sobre la integridad de vellosidades y criptas intestinales así como la distribución de mucinas en el intestino en cerdos recién destetados con la finalidad de determinar un posible mecanismo de acción del probiótico.

Evaluar la influencia de la inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la población de coliformes y lactobacilos totales en cerdos recién destetados así como evaluar la presencia de diarreas y la mortalidad.

Evaluar el nivel de inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico sobre los parámetros productivos: ganancia diaria de peso, conversión alimenticia y consumo de alimento en cerdos recién destetados.

2.2 HIPÓTESIS

La inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico disminuye las alteraciones morfológicas comúnmente observadas en vellosidades y criptas intestinales del cerdo recién destetado.

La inclusión de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico en lechones mejorará los parámetros productivos (consumo de alimento, ganancia diaria de peso y conversión alimenticia) en la etapa de destete.

La inclusión del probiótico disminuye la presencia de diarreas.

MATERIAL Y MÉTODOS

3.0 Localización geográfica

El trabajo de investigación se realizó en una granja porcina de ciclo completo ubicada en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (C.E.I.E.P.P.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia de la U.N.A.M. localizado en Jilotepec Edo. de México. El sistema de producción tiene un manejo de instalaciones todo dentro-todo fuera, salas de destete con ambiente controlado por ventilación natural y calentadores de gas, equipadas con comederos de tolva y bebederos de chupón.

3.1 Animales

Se utilizaron 96 cerdos de 5 días de edad con un peso promedio de 2.5 kg producto del cruzamiento terminal de las razas Landrace-Yorkshire, los cuales correspondían a 12 camadas completas, que fueron asignadas aleatoriamente a uno de tres tratamientos durante la fase de lactancia, misma que duró 21 días. La permanencia en la fase de destete fue de 5 semanas.

3.2 Análisis nutricional

Los análisis de la calidad nutritiva de las dietas (Químico Proximal) utilizadas en la presente investigación fueron determinadas en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" (Subdirección de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos) (AOAC, 1990).

3.3 Análisis histológicos e histoquímicos

Los estudios morfométricos de las vellosidades y criptas intestinales; así como, la determinación de mucinas se realizaron en el laboratorio de Histomorfología del Instituto Nacional de Pediatría (INP) (apéndices I, II).

3.4 Análisis microbiológicos

La cuantificación de bacterias lácticas y de coliformes totales se realizaron en el Centro de Control Total de Calidades, S.A. de C. V. (apéndice III).

3.5 Asignación de tratamientos

Noventa y seis cerdos que correspondientes a 12 camadas, fueron asignados aleatoriamente a uno de tres tratamientos con 4 repeticiones cada uno y con diferentes niveles de inclusión de un cultivo de levaduras empleado como probiótico Yea-Sacc cepa 1026 de Alltech, Inc.

El primer tratamiento fue un grupo testigo (T1) el cual no tuvo probiótico, el segundo tratamiento (T2) correspondió a una dieta suplementada con 0.15% de inclusión del cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, y al tercer tratamiento (T3) se le adiciono 0.25% del probiótico.

Se excluyo del experimento una camada del grupo testigo debido a que la hembra presentó problemas de agalactea y los lechones se encontraban en condiciones desfavorables para ser considerados dentro dela prueba.

Los animales recibieron todas las medidas biosanitarias y de manejo que se realizan rutinariamente en la granja, como la aplicación de hierro, castración y vacunación.

Los lechones recibieron las diferentes dietas a los cinco días de edad con la finalidad de que se adaptaran al alimento y se observara el efecto del probiótico al momento del

destete. Se llevaron registros de las variables en estudio: consumo de alimento diario, ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, mortalidad y presencia de diarrea.

3. 6 Variables en estudio

3. 6. 1 Consumo de alimento

El alimento se proporciono en la mañana iniciando con 50 g en la etapa de lactancia y se incremento según el consumo de los lechones, se movía varias veces al día con la finalidad de estimular el consumo y se sustituía diariamente por alimento fresco. El desperdicio de alimento se evaluó mediante charolas que se colocaron debajo de cada comedero con la finalidad de que el alimento desperdiciado por los lechones cayera en las mismas.

En la fase de destete el consumo de alimento fue a libre acceso y el desperdicio fue recolectado de una charola de concreto que estaba debajo del comedero. El consumo de alimento en las dos fases se evaluó por tratamiento y replica diariamente y acumulándose semanalmente. El cálculo de alimento se realizó por la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecido por la mañana y la cantidad de alimento rechazado al día siguiente, considerando el desperdicio de alimento recolectado de las charolas.

3. 6. 2 Ganancia de peso

Se pesaron los animales cada semana, desde el inicio del experimento hasta finalizar la fase de destete. Se utilizó una báscula de reloj con capacidad de 20 kg realizándose por la mañana y a la misma hora, esto fue antes de que se les proporcionara nuevamente alimento.

3. 6. 3. Conversión alimenticia

Se calculó por repetición y tratamiento, después de haber evaluado el consumo de alimento y la ganancia de peso.

3. 6. 4. Mortalidad

Se llevaron registros diarios de mortalidad, en el cual se incluyó la identificación del animal y el tratamiento al que correspondía.

3. 6. 5. Presencia de diarrea

Cada lote se evaluó diariamente tres veces al día, con la finalidad de detectar la presencia de diarreas, se identificaron y se registro a que tratamiento correspondían los animales afectados.

Se excluyó del experimento, todos aquellos animales que presentaron cualquier cuadro clínico diferente a uno entérico (respiratorio, locomotor etc.).

Durante todo el experimento el consumo de agua y alimento fue a libre acceso empleándose dietas isoproteicas e isoenergéticas, que cubrían los requerimientos nutricionales indicados, por el National Research Council (NRC) (1988) para la etapa de iniciación.

Los cerdos no recibieron ningún tipo de medicación antes y durante el desarrollo del experimento.

3. 7 Toma de muestras de intestino delgado

Al inicio del experimento se seleccionaron aleatoriamente sin considerar a que tratamiento pertenecían, tres lechones, los cuales fueron transportados al laboratorio de Histomorfología del Instituto Nacional de Pediatría donde se efectuó el sacrificio con CO_2 (apéndice 1). Se tomo una segunda muestra de 10 cm de longitud de duodeno, yeyuno e íleon se transportaron al Centro de Control Total de Calidades, S.A. de C. V. para el análisis bacteriológico (conteo total de coliformes y lactobacilos), siguiendo las técnicas descrita en el apartado de microbiología (apéndice III).

Cuatro días después del destete (24 días de edad) momento en el que se observa el daño de la mucosa intestinal; y a los 32 días de edad tiempo en el que la mucosa intestinal recobra parte de su integridad, se seleccionaron al azar 3 cerdos de cada tratamiento los cuales nuevamente se remitieron al INP para su sacrificio y toma de muestras.

3. 8 Análisis estadístico

El análisis estadístico del presente trabajo se estudio por separado para las diferentes variables de respuesta y se propusieron los siguientes modelos experimentales.

Para las variables de respuesta:

Altura de las vellosidades intestinales

Profundidad de criptas intestinales

Coliformes totales

Lactobacilos totales

Se utilizó el diseño de Parcelas subdivididas con 4 repeticiones en donde la parcela grande estuvo representada por las diferentes dietas, la parcela mediana será el tiempo de muestreo y la parcela chica correspondió a las diferentes porciones de intestino delgado. La unidad experimental, observacional y de análisis fue el cerdo.

Se analizaron los datos en busca de normalidad realizándose transformaciones logarítmicas, para evaluar el conteo de coliformes y lactobacilos totales.

El modelo utilizado fue el siguiente.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \alpha R_{(i)} + \beta_k + (\alpha\beta)_{ik} + (\alpha R\beta)_{(i)jk} + \gamma_l + (\alpha\gamma)_{il} + (\gamma\beta)_{lk} + (\alpha\gamma\beta)_{ilk} + (\alpha\gamma R)_{(il)j} + (\gamma\alpha R\beta)_{ijkl} + E_{ijkl}$$

$$1 \leq i \leq 3$$

$$1 \leq j \leq 4$$

$$1 \leq k \leq 2$$

$$1 \leq l \leq 3$$

Donde:

Y_{ijkl} = Valor de las variables de respuesta.

μ = Efecto de la media general.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* $1 \leq i \leq 3$.

$\alpha R_{i(j)}$ = Efecto del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* en la j-ésima repetición anidada en (i).

β_k = Efecto del k-ésimo día de muestreo $1 \leq k \leq 3$.

$(\alpha\beta)_{ik}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel de *Saccharomyces* en el k-ésimo día de muestreo $1 \leq i \leq 3, 1 \leq k \leq 2$.

$(\alpha R\beta)_{(i)jk}$ = Efecto del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* con la j-ésima repetición en el k-ésimo día de muestreo.

γ_l = Efecto del l-ésimo nivel de intestino.

$(\alpha\gamma)_{il}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* con el l-ésimo nivel de intestino.

$(\gamma\beta)_{lk}$ = Efecto de la interacción del l-ésimo nivel de nivel de intestino con el k-ésimo día de sacrificio.

$(\alpha\gamma\beta)_{ilk}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* con el l-ésimo nivel de intestino y el k-ésimo día de sacrificio.

$(\alpha\gamma R)_{(i)j}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* con el l-ésimo nivel de intestino y la j-esima repetición.

$(\gamma\alpha R\beta)_{ijkl}$ = Efecto de la interacción del l-ésimo nivel de intestino, con el i-ésimo nivel de *Saccharomyces cerevisiae* en la j-esima repetición y en el k-ésimo día de sacrificio.

E_{ijkl} = Efecto del error aleatorio atribuible al experimento

La variables de respuesta:

Conversión alimenticia

Se analizo mediante un Diseño Completamente Aleatorizado.

El modelo experimental fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + E_{(i)j}$$

$$1 \leq i \leq 3$$

$$1 \leq j \leq ni$$

Donde:

Y_{ij} = Valor de la variable de respuesta

μ = Efecto de la media general

α_i = Efecto de la i-ésima nivel de inclusión del probiótico $1 \leq i \leq 3$

$E_{(i)j}$ = Efecto del error aleatorio atribuible al experimento

Las variables de respuesta:

Ganancia diaria de peso

Consumo de alimento

Se analizaron mediante un Diseño Completamente Aleatorizado con Covariable

El modelo experimental fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta(x_{ij} - x_{..}) + E_{(ij)}$$

$$1 \leq i \leq 3$$

$$1 \leq j \leq n_i$$

Donde:

Y_{ij} = Valor de la variable de respuesta.

μ = Efecto de la media general.

α_i = Efecto de la i-ésima nivel de inclusión del probiótico $1 \leq i \leq 3$.

x_{ij} = Valor del peso inicial del cerdo de la j-ésima observación en el i-ésimo tratamiento.

$x_{..}$ = Media general de los pesos iniciales de los cerdos.

β = Coeficiente de regresión del efecto del $x_{ij} - (x_{..})$.

$E_{(ij)}$ = Efecto del error aleatorio atribuible al experimento.

Los datos obtenidos se evaluaron mediante un Análisis de Varianza con un α 0.05 y una prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey (Gill, 1978).

Las variables de respuesta.

Mortalidad

Presencia de diarreas

Se evaluaron mediante un análisis de J'cuadrada.

Las variable de respuesta.

Tipo de mucina

Se estudio mediante un análisis de kruskal-wallis

Los resultados de las variables en estudio fueron evaluados mediante el paquete estadístico SAS (SAS, 1988).y el paquete estadístico Sigma stat (1990).

RESULTADOS

4.0 Conteo de levaduras

El cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* utilizado en la presente investigación fue Yea-Sacc, Alltech, Inc. cepa 1026. El certificado del análisis del producto reporto 5.2×10^9 ufc/g, con la finalidad de corroborar la concentración del probiótico se realizó el cultivo y conteo de las ufc/g del producto comercial empleando la técnica de Colon y Morales (1993). Los resultados obtenidos mostraron que el producto comercial contenía 5.4×10^9 ufc/g (apéndice IV).

4.1 Histología

4.1.1 Altura de vellosidades intestinales

El sacrificio de animales a los cinco días de edad, permitió conocer las condiciones histológicas al inicio del experimento, mostrando características similares (Cuadro 5).

La suplementación del probiótico no tuvo efecto significativo ($P > 0.05$) sobre la morfología de la mucosa intestinal, presentándose la disminución en la altura de las vellosidades intestinales y el incremento en la profundidad de la cripta que comúnmente se observan después del destete (cuadro 6).

4.1.2 Profundidad de la Cripta

La profundidad de la cripta tampoco se vio modificada por la inclusión del probiótico; sin embargo existió un incremento significativo ($P < 0.004$) en la profundidad de la cripta por efecto de la edad (cuadro 6).

En el duodeno, los animales del grupo control presentaron un incremento en la profundidad de la cripta midiendo 189 μ en el muestreo realizado a los 4 días posdestete y 264 μ a los 11 días posdestete; los animales que recibieron el tratamiento con 0.15% del probiótico mostraron una profundidad de 265 μ y 341 μ respectivamente y los animales que recibieron la mayor inclusión del probiótico se observaron 192 y 222 μ , respectivamente existiendo diferencias ($P < 0.004$) (Cuadro 6).

En el yeyuno, los animales del grupo testigo presentaron una profundidad en la cripta de 159 μ a los 4 días posdestete y de 234 μ a los 11 días posdestete ($P < 0.004$). Los animales que recibieron 0.15% de inclusión del cultivo de levaduras a los 4 días posdestete tuvieron una profundidad de la cripta de 192 μ la cual continuo incrementándose hasta los 11 días posdestete en donde se observo 255 μ ($P < 0.004$); mientras que los animales que recibieron la mayor inclusión del probiótico mostraron una profundidad de la cripta menor 166 μ a los cuatro días posdestete y de 247 μ a los 11 días posdestete ($P < 0.004$) (cuadro 6).

Sin embargo en el íleon no se observaron diferencias significativas a través del tiempo ($P > 0.05$) (cuadro 6). En conjunto se presentó una mayor profundidad en las criptas intestinales a los 32 días de edad.

4. 2 Resultados histoquímicos

4. 2. 1 Tipo de mucinas en cerdos lactantes

La suplementación del probiótico no favoreció la presencia de mucinas ácidas y no se presentaron diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, las diferentes inclusiones del probiótico tuvieron un efecto sobre el tipo de mucinas presente en las secciones de intestino delgado.

En los cerdos lactantes el tipo de mucinas que predominó fueron las neutras, mostrando diferencias ($P < 0.01$) en el yeyuno e íleon (cuadro 7).

4. 2. 2 Tipo de mucinas en destete

Entre tratamientos no existieron diferencias ($P>0.05$). Los animales del grupo testigo no mostraron diferencias ($P>0.05$) en el tipo de mucinas presentes en el duodeno; sin embargo, los animales que recibieron las diferentes inclusiones del probiótico, predominaron las neutras y mixtas ($P<0.001$) (cuadro 8).

En el yeyuno de los animales que recibieron 0.15% del producto, presentaron mayor cantidad de mucinas del tipo neutras y mixtas ($P<0.007$); sin embargo, entre los animales del grupo que recibió la inclusión del 0.25% y los animales del grupo testigo no tuvieron diferencias en el tipo de mucinas ($P>0.05$) (cuadro 9).

En el íleon los animales que recibieron 0.25% de inclusión del probiótico presentaron diferencias ($P<0.005$) entre el tipo de mucinas, predominando las neutras y mixtas en comparación con los animales que recibieron el 0.15% de inclusión, así como el grupo testigo los cuales no mostraron diferencias en el tipo de mucinas ($P>0.05$) (cuadro 10).

4. 3 Bacteriología

4. 3. 1 Coliformes totales

La población de coliformes no se modificó con la suplementación del probiótico ($P<0.05$) (cuadro 11).

En conjunto se observaron diferencias ($P<0.007$) en la población de coliformes totales en el íleon 638 ufc/g de tejido; el duodeno mostró 5.20 ufc/g de tejido y el yeyuno 5.32 ufc/g de tejido sin ser significativo ($P>0.05$).

La transformación logaritmo¹⁰ del conteo total de coliformes obtenidos de las diferentes secciones del intestino mostraron rangos de 3.9 a 7.2 ufc/g de tejido. Los animales sacrificados al inicio del experimento presentaron en el duodeno 4.8 ufc/g, 4.0 ufc/g de tejido en yeyuno y 3.95 ufc/g de tejido en íleon (cuadro 11).

4.3.2 Lactobacilos totales

La suplementación del probiótico tampoco tuvo efecto significativo sobre el incremento de lactobacilos totales ($P>0.05$). La transformación logaritmo¹⁰ del conteo total de lactobacilos presentó un rango de 5.18 ufc a 7.22 ufc/g de tejido. La población de lactobacilos presente en el duodeno en los lechones a los cinco días de edad fue de 4.4 ufc/g de tejido mientras que en el yeyuno existieron 5.6 ufc y en el íleon existieron 5.82 ufc/g de tejido (cuadro 12).

4.4 Presencia de diarreas

La presencia de diarreas durante el tiempo que duró el experimento fue del 42% ($P<0.05$) para los animales del grupo testigo; mientras que, los animales que recibieron la inclusión de 0.25% del probiótico presentaron 29% de diarreas, siendo este resultado semejante al de los animales que recibieron 0.15% de inclusión del probiótico, los cuales presentaron 28%.

4. 5 Parámetros productivos

4. 5. 1 Consumo de alimento maternidad

El consumo de alimento por lechón se comporto de manera lineal en los tres tratamiento; sin embargo, no fue significativo ($P>0.05$). El consumo de alimento diario observado en este trabajo se encuentra por debajo de los parámetros estimados por el NRC (1988) para lechones en maternidad (cuadro 13 y 14).

4. 5. 1 2 Consumo de alimento en destete

El consumo de alimento diario, no se modifico por la inclusión del probiótico ($P>0.05$) (cuadro 15).

En conjunto los animales que consumieron mayor cantidad de alimento en destete fueron los que recibieron la mayor inclusión del probiótico, seguidos del grupo del testigo y los que recibieron 0.15% de inclusión; sin embargo, estas diferencias no fueron significativos ($P>0.05$) (cuadro 16).

4. 5. 3 Ganancia de peso en destete

La ganancia de peso disminuyó durante la primer semana posdestete, los animales del grupo control ganaron 58.5 g por día por cerdo; mientras la ganancia que para los animales del T2 fue de 98.7 g y los animales que recibieron la mayor inclusión del probiótico mostraron una ganancia de 29.3 g/día, siendo esta diferencia significativa ($P<0.0009$).

En la segunda semana el grupo testigo continuó presentando una ganancia diaria de 57.1 g, mientras que los animales que recibieron el probiótico en 0.15% y 0.25 % de inclusión, tuvieron una ganancia de 71.7 g y de 54.1 g respectivamente estas diferencias no resultaron ser diferentes ($P>0.05$).

Durante la tercer semana existió un incremento general en la ganancia de peso siendo significativo para los animales del grupo testigo 258.4 g ($P<0.04$) en comparación con los animales que recibieron el 0.15% de inclusión fue de 198.0 g y de 199.2 g para los animales que recibieron 0.25% de inclusión.

La penúltima semana la ganancia de peso fue de 366.2 g, 382.4 g y 349.9 g respectivamente sin ser significativa ($P>0.05$).

En la última semana la ganancia de peso para los animales del grupo testigo fue 278.6 g, 388.8 g en los animales que se les incluyo 0.15% del probiótico y de 442.1 g para los animales que recibieron la mayor inclusión del probiótico siendo significativo ($P<0.002$) (cuadro 19).

En conjunto la ganancia de peso por día en la fase de destete fue para los animales del grupo testigo fue 180.3 g/día mientras que los animales que recibieron 0.15 de inclusión del probiótico ganaron 227.0 g/día y para los animales que recibieron la mayor inclusión del probiótico la ganancia de peso diaria fue de 215.0 g. El comportamiento observado no manifestó diferencias estadísticas ($P>0.05$) (cuadro 20).

4.5.4. Conversión alimenticia en destete

Los resultados observados en la conversión alimenticia no mostraron diferencias ($P<0.05$). Los animales del grupo testigo presentaron una conversión alimenticia de 2.13, mientras que los animales del tratamiento que recibieron 0.15% de inclusión del cultivo de levaduras tuvieron una conversión de 1.66 y los que recibieron la mayor inclusión del probiótico presentaron una conversión de 1.8.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demostraron que *Saccharomyces cerevisiae* empleado como probiótico, no tuvo efecto ($P > 0.05$) sobre la integridad de la vellosidad intestinal en cerdos recién destetados, presentándose la disminución en el tamaño de las vellosidades intestinales y aumento en la profundidad de la cripta, fenómenos que comúnmente se observan al destete. Sin embargo, los animales del grupo testigo presentaron vellosidades más cortas en comparación con los cerdos que recibieron las diferentes inclusiones del probiótico, lo que sugiere que *Saccharomyces cerevisiae* tenga un efecto indirecto sobre ellas.

Hall y Byrne (1989) encontraron que la disminución en la altura de la vellosidades intestinales durante los primeros 3 días posdestete, es consecuencia de un deficiente índice mitótico en las criptas intestinales, resultando en una disminución en la vellosidad como en la profundidad de la cripta intestinal. Estos cambios se generan por una reducción en el aporte de nutrimentos hacia la mucosa intestinal, los cuales son utilizados como fuente de energía o como sustrato para la síntesis celular; resultado de una disminución parcial en el consumo de alimento al destete.

Syme (1982) observó que la deficiencia de proteína en la dieta, provoca una reducción en el índice de división celular a nivel de criptas intestinales. Sin embargo, estos datos no concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación debido a que existió una disminución en el tamaño de las vellosidades intestinales y un aumento en la profundidad de las criptas intestinales, lo que coincide con lo observado anteriormente por Hampson, 1986; Miller, 1990, y Pulske, *et. al.* 1996a quienes sugieren que el aumento en la profundidad de las criptas intestinales observado después del destete, es indicativo de división celular.

El aumento en la profundidad de la cripta observado posdestete, es compatible con un incremento en la producción de células, el cual puede ser resultado del cambio de dieta, aunado a la disminución en el consumo de alimento, a un incremento en la flora intestinal, así, como, a la colonización de coliformes, los cuales destruyen la mucosa intestinal.

Kik (1991) observó que la toxina termoestable de *E. coli* causa acortamiento de la vellosidad intestinal y que la irritación constante de la mucosa intestinal provoca un aumento en el índice mitótico en las células de la cripta. La ausencia de alimento en el tracto gastrointestinal genera un desbalance de la microflora indígena principalmente en los coliformes, los cuales aumentan ocasionando daño a la mucosa intestinal y son la causa de diarrea.

El tipo de mucina presente en las diferentes secciones de intestino, fueron del tipo mixtas y neutras, estas mucinas pudieran ser indicador del pH intestinal el cual estar influenciado por el tipo de dieta así como la microflora. Larson, 1989 observó que la población bacteriana y los cambios hormonales afectan la producción de mucinas, las cuales son importantes para la microbiota intestinal, ya que sirven como hábitat y como fuente de nutrientes y evitan la adhesión bacteriana. Se ha observado que animales libres de patógenos poseen un mayor número de células globosas o caliciformes en comparación con animales convencionales.

La disminución de coliformes en la segunda semana posdestete, sugiere ser resultado de una adaptación por parte del animal al destete aunado a un consumo regular y constante de alimento, lo que resulta en una estabilización de la microflora intestinal; sin embargo, no fue significativo ($P > 0.05$). El incremento general en la población de coliformes que se observó en el íleon ($P < 0.007$) es resultado de la modificación en la microflora intestinal, que se presenta de manera natural después del destete, lo que coincide con Stewart, *et. al.*, (1993) quienes observaron que la colonización bacteriana esta determinada por factores que ciertos microorganismos encuentran en la criptas o en el epitelio de las vellosidades intestinales o simplemente están en el lumen intestinal.

Los resultados obtenidos en el presente estudio discrepan con Bertin y Tournut (1994) quienes encontraron que la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae* disminuye la población de coliformes es cerdos recién destetados. Posteriormente Stewart, (1995) observó que en la composición de la pared celular de esta levadura contienen mananos oligosacaridos; son carbohidratos que tiene la habilidad de bloquear ciertas bacterias y de

esta forma previenen la colonización del tracto gastrointestinal evitando que ciertos microorganismos se establezcan.

Parekh (1993) observó que de manera general, los carbohidratos además de ser fuente de energía o elementos estructurales de células, poseen funciones biológicas adicionales como la adhesión y que tienen actividad inmunológica.

Posiblemente el mecanismo de acción de *Saccharomyces cerevisiae* este relacionado con la composición bioquímica de su pared celular ya que aún no se conoce si tiene la capacidad de establecerse en el tracto gastrointestinal; considerando que no es capaz de adherirse al epitelio y no forma parte de la microflora intestinal indígena.

Existen estudios en los que se ha descrito que la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* es estable a la digestión ácida y fracciones de estas pasan a través del estómago al intestino delgado, esta habilidad puede ser causa de los componentes de su pared (Stewart, 1995). De lo anterior se deriva la hipótesis de que *Saccharomyces cerevisiae* tenga un efecto en el intestino delgado, comportándose como un microorganismo “alocto”, los cuales están presentes en determinando hábitat encontrándose en forma latente; pueden ocupar un determinando nicho, cuando es dejado libre por la microflora intestinal. Sin embargo, hasta la fecha no se ha determinado que *Saccharomyces cerevisiae* se comporte como tal.

El incremento en la población de lactobacilos que se observó durante la primera semana posdestete en los tres tratamientos, se presenta de manera natural como resultado del consumo de leche materna en la etapa de lactancia, lo que favorece el desarrollo de bacteria lácticas. Sin embargo, la disminución observada en la siguiente semana y el incremento en la población de coliformes totales concuerda con Fuller (1989) quien observó que de manera natural los lactobacilos aumentan después del nacimiento y otros componentes de la flora intestinal disminuyen. El cambio de dieta posdestete, la

suplementación de nutrientes diferentes a la leche materna y modificaciones en el pH gastrointestinal son factores que resultan en una disminución del número de lactobacilos y aumenta la presencia de microorganismos oportunistas como los coliformes.

El bajo consumo de alimento en la etapa de lactancia no concuerda con lo estimado por el NRC (1988) para lechones de esta edad, en el cual se sugiere un consumo de 200 g/día, lo observado es consecuencia de la preferencia por parte de los lechones, al consumo de leche materna.

La ganancia de peso observada al momento del destete fue similar en los tres tratamientos, siendo la esperada para lechones destetados a 21 días de edad. Sin embargo, estos datos son resultado del consumo de leche materna.

La reducción en el consumo de alimento durante la primer semana posterior al destete fue el resultado del estrés en el que se encontraban los animales por efecto del destete. Esta disminución sugiere estar influenciada por el tipo de dieta empleada, la cual fue basada en sorgo molido, pasta de soya y 16% de inclusión de suero de leche. La inclusión de materias primas de nueva generación como, el plasma porcino, aislado proteico de soya, e hidrolizado de pescado por citar algunos, podrían causar un efecto confundido que cubriera el efecto del probiótico. Mahan (1993) observó que la disminución en el consumo de alimento esta relacionada con la reducción de la capacidad digestiva del cerdo a esta edad para digerir carbohidratos y proteínas complejas diferentes a las de la leche materna, aunado a la gustocidad de la dieta.

El incremento en el consumo de alimento que se presentó en las posteriores semanas sugiere ser resultado de una adaptación del animal al ambiente y al tipo de alimento, siendo los valores observados los recomendado por el NRC (1988) para cerdos con un peso promedio similar al observado en este trabajo los cuales fueron de 7.1 kg a 14.4 kg. Sin

embargo, el empleo del cultivo de levaduras no incremento el consumo de alimento ($P>0.05$) lo cual concuerda con investigaciones realizadas por Jungerns, *et. al.*, 1997.

Durante la etapa posterior al destete la ganancia de peso observada estuvo por debajo de lo esperado para cerdos de edad y origen genético, similares a los empleados en este trabajo. Los resultados obtenidos en la presente investigación no concuerdan con Jungerns, *et. al.*, 1997 quienes observaron que la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae* en dietas de iniciación mejora la ganancia del peso posdestete.

La conversión alimenticia observada en el presente trabajo esta dentro de lo establecido para cerdos en esta etapa de desarrollo; pero no coincide con Havenaar y Huis in 't Veld, (1992) quienes encontraron que el empleo de levaduras resulta en un menor índice de conversión alimenticia y mayor velocidad de crecimiento corporal. Sin embargo, estos resultados no han sido constantes (Kornegay, *et. al.*, 1995).

La presencia de diarrea en los cerdos se redujo significativamente ($P<0.05$) por la suplementación del probiótico lo que sugiere que *Saccharomyces cerevisiae* haya tenido un efecto sobre la microflora intestinal; sin embargo, no les permitió mejorar su rendimiento productivo ya que la ganancia de peso es reflejo de la capacidad del intestino para digerir y absorber nutrimentos lo cual esta estrechamente relacionado con la integridad de mucosa.

A pesar de la disminución en la presencia de diarrea en los animales que recibieron las diferentes inclusiones del probiótico, los parámetros productivos fueron similares a los del grupo testigo, lo que sugiere que la presencia de diarreas fue consecuencia del tipo de dieta empleada y a una modificación de la flora intestinal.

CONCLUSIONES

El empleo del cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* no tuvo efecto sobre la morfología intestinal, la población de coliformes y lactobacilos totales, así como la eficiencia productiva en cerdos recién destetados. Sin embargo existió, efecto significativo ($P < 0.05$) en la presencia de diarreas. Sin embargo, no les permitió mejorar su rendimiento productivo ya que la ganancia de peso es reflejo de la capacidad del intestino para digerir y absorber nutrimentos.

Los datos obtenidos en el presente trabajo sugieren que se debe realizar más estudios en los que se realicen tinciones específicas que permitan determinar el índice mitótico celular en las criptas intestinales en los primeros días posdestete; evaluar y cuantificar poblaciones bacterianas en las diferentes secciones del intestino delgado en animales con y sin suplementación levaduras empleadas como probióticos.

Evaluar la suplementación del cultivo de levaduras a nivel del tracto gastrointestinal, cuantificando la presencia de estas en el intestino para poder determinar si es capaz de reproducirse dentro de él o se comporta como un microorganismo de paso. Sería conveniente determinar cual es la viabilidad de esta levadura en intestino en animales no rumiantes.

El poder determinar la estabilidad de *Saccharomyces cerevisiae* en el tracto gastrointestinal, así como evaluar de manera más profunda los componentes de su pared celular, podrían ser indicadores para determinar su modo de acción en animales no rumiantes.

Comprendiendo el mecanismo de acción de *Saccharomyces cerevisiae* se podrán seleccionar cepas específicas para nutrición en cerdos, las cuales puedan ser empleadas para manipular la microflora intestinal.

APÉNDICES

I Técnicas histológicas

Se tomaron muestras de duodeno (parte baja de la curvatura duodenal, aproximadamente a 5 cm del píloro), la parte media del yeyuno e íleon en su parte terminal. Las muestras se fijaron por inmersión en una solución amortiguadora de formol al 10%; y se procesaron para su estudio histológico e histoquímico.

Las muestras de tejido fueron retiradas de la solución fijadora y se realizaron subcortes de 1 cm de longitud, se deshidrataron en un histoquinett para su posterior inclusión en parafina. Posteriormente se llevaron a cabo cortes de 5 μ m de cada bloque empleando un microtomo, se obtuvieron dos laminillas de cada bloque, una de ellas se tiñó con Hematoxilina-eosina. Se examinó bajo un microscopio de luz (Zeiss, modelo BH-12) equipado con una lente graduada donde se midió la altura de las 10 vellosidades con mejor integridad y la profundidad de las criptas adyacentes a cada una de ellas, siguiendo el procedimiento descrito por Pekas (1986).

II Técnicas histoquímicas

Para las técnicas histoquímicas se utilizaron las segundas laminillas provenientes de las porciones de duodeno, yeyuno e íleon que se utilizaron en el estudio histológico. Se determinó el tipo y distribución de mucinas en base a la coloración adquirida por las células caliciformes. Se realizó la reacción PAS azul alciano pH 2.5 (Cook, 1976), la cual proporciona una buena separación del color de las mucinas ácidas.

Técnica. Se desparafinaron las muestras y se deshidrataron hasta agua, se tiñeron con la solución azul alciano durante 5 minutos, se lavaron con agua de la llave y agua destilada, se trataron con la solución de ácido peryódico durante 3 minutos, se lavaron con agua

destilada y se trataron con el reactivo de Schiff durante 8 minutos, posteriormente se lavaron con agua de la llave durante 10 min., se deshidrataron, depuraron y se montaron en resina

Con esta técnica las mucinas ácidas adquieren una coloración azul, las neutras color magenta y las mixtas color púrpura.

Se determinó una escala semicuantitativa del 1 al 5 para cada tipo de mucina presente en las diferentes secciones de intestino delgado, en cada grupo de estudio.

Escala de clasificación

- 1 Ausencia
- 2 Escasas
- 3 Pocas
- 4 Moderadas
- 5 Abundantes

III Técnicas microbiológicas

Se tomaron muestras de duodeno, yeyuno e íleon de aproximadamente 10 cm de longitud, ligando ambos extremos de cada porción intestinal; cada muestra se almacenó en bolsas de polietileno y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C con hielo seco durante su transporte al laboratorio de bacteriología del Centro de Control Total de Calidades, en donde se realizaron los siguientes estudios bacteriológicos.

1. Diluciones

En condiciones de esterilidad, se pesaron 5 a 10 g del tejido, se colocaron en 100 ml de una solución de fosfatos pH 7.2 y se homogeneizaron durante 1 minuto. Se transfirió 1 ml a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de solución diluyente, esta alícuota fue la primera dilución y a partir de esta se realizaron diluciones decuples hasta llegar a la dilución 10^8

2. Cuenta en placa de coliformes

Se transfirió en condiciones de esterilidad 1 ml de cada una de las diluciones a un tubo de ensayo que contenía 15 ml de agar bilis rojo violeta fundido (45 ± 1 °C) se homogeneizó durante medio minuto, teniendo cuidado de que no se formara espuma, posteriormente se vació a cajas de Petri realizando cada siembra por duplicado. Se dejó solidificar el agar, se agregó sobre el medio solidificado una sobre capa de 4 ml de agar bilis rojo violeta fundido, extendiéndolo hasta que cubriera toda la superficie, se dejó que solidificaran nuevamente, se invirtieron las cajas y se incubaron a 35 °C durante 24 horas \pm 2 horas.

Se preparó una caja control con 15 ml de medio de cultivo para verificar la esterilidad.

Se seleccionaron las cajas de Petri en las que se desarrollaron entre 15 y 150 unidades formadoras de colonias (ufc). Las colonias típicas fueron de color rojo oscuro, generalmente rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares; el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología de las colonias es semejante a lentes biconvexas con un diámetro de 0.5 a 2 mm.

Se promediaron los dos recuentos duplicados y se multiplicaron por la inversa de la dilución para obtener el número de ufc por gramo de intestino.

El total de colonias contadas se consideró como el total presente en un gramo de la muestra (Colon y Morales, 1993).

3. Determinación de lactobacilos

Se transfirió en condiciones de esterilidad 1 ml de cada una de las diluciones iniciales a tubos de ensayo con 15 ml de agar rugosa fundido (45 ± 1 °C), se homogeneizó durante medio minuto, posteriormente se vació a cajas de Petri realizando cada siembra por duplicado. Se dejaron solidificar las cajas y se les agregó una sobre capa de 4 ml de agar rugosa extendiéndolo hasta que cubriera toda la superficie, se esperó que solidificaran

nuevamente, y se colocaron en jarras de anaerobiosis que tenían 95% de CO_2 , 5% H_2 atmósfera y se incubaron a 37 °C durante 3 días.

Se seleccionaron las cajas de Petri que tuvieron entre 25 y 250 ufc. Se promediaron los dos recuentos y se multiplicaron por la inversa de la dilución para obtener el número de ufc por gramo de intestino (Colon y Morales, 1993).

IV Técnica para el conteo de levaduras del producto comercial

En condiciones de esterilidad se tomó 1 g del cultivo de levaduras se le agregó 9 ml de una solución de fosfatos pH 7.2 a partir de esta dilución se realizaron diluciones decuples, se transfirió 1 ml de cada dilución a cajas de petri por duplicado y se le agregó 15 ml de agar papa dextrosa fundido y acidificado previamente, se homogeneizó y se dejó solidificar. Posteriormente se invirtieron las cajas de petri y se introdujo una serie a una estufa de incubación a 35 °C durante 48 horas y la otra serie a una estufa de incubación a 25 °C durante 5 días.

Se seleccionaron las cajas donde el número de ufc fue más elevado y se pudiera realizar la lectura con la ayuda de un cuenta colonias (Clony counter AQ american Optica®) y el contador manual.

La dilución 10^7 mostró el mayor número de ufc contables observándose 540 ufc, este dato se multiplicó por el inverso de la dilución y de esta forma se obtuvo la cantidad de ufc/g del producto comercial. Los resultados obtenidos mostraron que el producto comercial contenía 5.4×10^9 ufc/g.

Cuadro 1 Dieta correspondiente al grupo testigo la cual no contuvo el cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*.

Dieta de iniciación testigo	
Ingrediente	Peso
Sorgo, grano	262.700
Suero de leche	80.000
Soya, Pasta	59,183
Aceite crudo	27,798
Pescado hidrolizado	25,000
Soya concentrado	25,000
Fósforo. VIMIFOS	7,358
Carbonato de Ca.	4,355
L- Lisina, HCL	2,292
NaCl - Iodada	1,800
Vitaminas	1,250
DL- Metionina	.869
Minerales	.750
L-Treonina	.642
Triptosina 70	.627
Colina, cloruro	.375
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.000
Peso:	500.000
Análisis garantizado	
Energía metabolizable	3.320
Proteína cruda (%)	20.000
Lisina (%)	1.400
Lisina digestible	1.220
Treonina (%)	.910
Treonina digestible (%)	.793
Metionina + Cistina (%)	.840
Metionina (%)	.420
Metionina digestible (%)	.366
Triptofano (%)	.252
Triptofano digestible (%)	.220
Calcio (%)	.800
Fósforo (%)	.700
Lactosa(%)	12.000

Cuadro 2 Dieta de iniciación a la cual se le incluyo 0.15% del cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*.

Dieta de iniciación Tratamiento 2	
ingrediente	Peso
Sorgo, grano	260.964
Suero de leche	80.000
Soya, Pasta	59.529
Aceite crudo	28.439
Pescado hidrolizado	25.000
Soya concentrado	25.000
Fósforo. VIMIFOS	7.371
Carbonato de Ca.	4.348
L- Lisina, HCL	2.288
NaCl - Iodada	1.800
Vitaminas	1.250
DL- Metionina	.871
Minerales	.750
L-Treonina	.641
Triptosina 70	.624
Colina, cloruro	.375
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	.750
Peso:	500 kg
Análisis garantizado	
Energía metabolizable	3.320
Proteína cruda (%)	20.000
Lisina (%)	1.400
Lisina digestible	1.220
Treonina (%)	.910
Treonina digestible (%)	.793
Metionina + Cistina (%)	.840
Metionina (%)	.420
Metionina digestible (%)	.366
Triptofano (%)	.252
Triptofano digestible (%)	.220
Calcio (%)	.800
Fósforo (%)	.700
Lactosa(%)	12.000

Cuadro 3 Dieta de iniciación a la cual se le incluyo 0.25% del cultivo de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*.

Dieta de iniciación Tratamiento 3	
ingrediente	Peso
Sorgo, grano	259.806
Suero de leche	80.000
Soya, Pasta	59.760
Aceite crudo	28.867
Pescado hidrolizado	25.000
Soya concentrado	25.000
Fósforo. VIMIFOS	7.379
Carbonato de Ca.	4.343
L- Lisina, HCL	2.284
NaCl - Iodada	1.800
Vitaminas	1.250
DL- Metionina	.873
Minerales	.750
L-Treonina	.641
Triptosina 70	.622.
Colina, cloruro	.375
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.250
Peso:	500 kg
Análisis garantizado	
Energía metabolizable	3.320
Proteína cruda (%)	20.000
Lisina (%)	1.400
Lisina digestible	1.220
Treonina (%)	.910
Treonina digestible (%)	.793
Metionina + Cistina (%)	.840
Metionina (%)	.420
Metionina digestible (%)	.366
Triptofano (%)	.252
Triptofano digestible (%)	.220
Calcio (%)	.800
Fósforo (%)	.700
Lactosa(%)	12.000

Cuadro 4 Análisis químico proximal de las diferentes dietas de experimentación.

Tratamiento	Humedad (%)	P. C. N x 6.25	E. E (%)	Cenizas (%)	E. M
Tratamiento (0 %).	6.26±0.007	20.17±0.01	7.82±0.03	6.10±0.003	3043
Tratamiento (0.15%)	6.40±0.0.1	20.0±0.002	8.35±0.02	5.58±0.01	3078
Tratamiento (0.25%)	6.19±0.02	20.70±0.02	8.25±0.01	6.58±0.01	3045

Cuadro 5. Largo de vellosidades intestinales y profundidad de la cripta en lechones al inicio del experimento en maternidad.

Variable en estudio	Intestino		
	Duodeno (μ)	Yeyuno (μ)	Íleon (μ)
Largo de vellosidad	637±225	779±101	709±266
Profundidad de la cripta	87±32	45±19	54±44

Cuadro 6. Efecto del cultivo de levaduras sobre el largo de la vellosidad intestinal y la profundidad de la cripta intestinal a los 4 y 11 días postdestete.

Tratamiento	Variable en estudio	Cuatro días postdestete (25 días de edad)				Once días postdestete (32 días de edad)			
		Duodeno (μ)	Yeyuno (μ)	Íleon (μ)	Íleon (μ)	Duodeno (μ)	Yeyuno (μ)	Duodeno (μ)	Íleon (μ)
0.0 % de inclusión	Largo de vellosidad	178±11	219±57	209±56	200±46	255±45	204±12		
	Profundidad de la cripta	189±81 ^a	159±25 ^a	184±32 ^a	264±60 ^b	234±34 ^b	215±11a		
0.15 % de inclusión	Largo de vellosidad	263±56	200±11	281±40	238±115	218±79	272±85		
	Profundidad de la cripta	265±84 ^a	192±5 ^a	185±64 ^a	341±103 ^b	255±94 ^b	210±20a		
0.25 % de inclusión	Largo de vellosidad	240±56	269±134	181±75	265±105	227±24	229±25		
	Profundidad de la cripta	192±22 ^a	166±97 ^a	172±81a	222±77 ^b	247±32 ^b	197±32a		
Literales diferentes por renglón (a,b) indican diferencia estadística a través del tiempo (P<0.004).									

Cuadro 7 Tipo de mucinas presente en lechones a los 5 días de edad, en las diferentes secciones del intestino delgado.

Tipo de mucina			
Intestino	Ácidas	Neutras	Mixtas
Duodeno	2 ± 1.7 ^a	4 ± 1.7 ^a	3 ± 1 ^a
Yeyuno	2 ± 0.5 ^a	5 ± 0.0 ^b	3 ± 0.5 ^a
Íleon	2 ± 0.5 ^a	5 ± 0.5 ^b	2 ± 0.5 ^a
Literales diferentes por renglón (a, b) indican diferencia estadística (p<0.01).			

Cuadro 8 Efecto del probiótico sobre el tipo de mucinas presentes posdestete en duodeno.

Tipo de mucina en duodeno			
Tratamiento	Ácida	Neutras	Mixtas
0% de inclusión	1.6 ± 1.2 ^a	2.8 ± 0.7 ^a	2.8 ± 0.4 ^a
0.15 % de inclusión	1.0 ± 0.0 ^b	3.5 ± 0.8 ^a	3.3 ± 0.5 ^a
0.25% de inclusión	1.0 ± 0.0 ^a	2.7 ± 0.8 ^b	3.5 ± 0.8 ^b
Literales diferentes (a, b) por renglón indican diferencia estadística (P<0.001).			

Cuadro 9 Efecto del probiótico sobre el tipo de mucinas presentes posdestete en yeyuno.

Tratamiento	Tipo de mucina en yeyuno		
	Ácidas	Neutras	Mixtas
0.0% de inclusión	1.8±1.3 ^a	2.8±0.4 ^a	3.0±0.0 ^a
0.15 % de inclusión	1.3±0.8 ^a	2.6±0.8 ^b	3.3±0.5 ^b
0.25% de inclusión	1.5±1.2 ^a	2.5±0.54 ^a	2.8±0.75 ^a
Literales diferentes (a, b) por renglón indican diferencia estadística (p<0.007)			

Cuadro 10 Efecto del probiótico sobre tipo de mucinas presentes posdestete en ileon.

Tratamiento	Tipo de mucina en ileon		
	Ácidas	Neutras	Mixtas
0.0% de inclusión	2.3±1.6 ^a	3.5±0.5 ^a	3.5±0.8 ^a
0.15 % de inclusión	2.3±1.6 ^a	3.8±0.9 ^a	4±0.8 ^a
0.25% de inclusión	1.5±0.5 ^a	3.3.±0.8 ^b	3.8±1.1 ^b
Literales diferentes (a,b) por renglón indican diferencia estadística (P<0.005)			

Cuadro 11 Cuantificación de coliformes totales con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamientos									
Edad del cerdo	0.0%			0.15%			0.25%		
	Sección de intestino			Sección de intestino			Sección de intestino		
	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)
5 días de edad	4.88 ^{NS}	4.07 ^{NS}	3.95 ^{NS}	4.82 ^{NS}	4.07 ^{NS}	3.95 ^{NS}	4.88 ^{NS}	4.07 ^{NS}	3.95 ^{NS}
24 días de edad (4 días postestete)	7.11 ^{NS}	5.57 ^{NS}	7.17 ^{NS}	4.99 ^{NS}	6.32 ^{NS}	6.77 ^{NS}	5.20 ^{NS}	6.00 ^{NS}	6.45 ^{NS}
32 días de edad (11 días postestete)	5.43 ^{NS}	5.63 ^{NS}	6.22 ^{NS}	3.88 ^{NS}	4.01 ^{NS}	7.22 ^{NS}	4.99 ^{NS}	5.60 ^{NS}	6.87 ^{NS}

Cuadro 12 Cuantificación de lactobacilos totales con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamientos									
Edad del cerdo	0.0%			0.15%			0.25%		
	Sección de intestino			Sección de intestino			Sección de intestino		
	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)	Duodeno (ufc)	Yeyuno (ufc)	Íleon (ufc)
5 días de edad	4.47 ^{NS}	5.68 ^{NS}	5.82 ^{NS}	4.47 ^{NS}	5.68 ^{NS}	5.82 ^{NS}	4.47 ^{NS}	5.68 ^{NS}	5.82 ^{NS}
24 días de edad (4 días postdestete)	6.95 ^{NS}	6.51 ^{NS}	7.25 ^{NS}	5.25 ^{NS}	5.12 ^{NS}	6.54 ^{NS}	6.52 ^{NS}	7.22 ^{NS}	7.32 ^{NS}
32 día de edad (11 días postdestete)	5.86 ^{NS}	5.87 ^{NS}	7.20 ^{NS}	6.96 ^{NS}	5.18 ^{NS}	7.13 ^{NS}	6.10 ^{NS}	6.18 ^{NS}	6.75 ^{NS}

Cuadro 13 Consumo de alimento semanal en maternidad en los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Primera semana (g)	Segunda semana (g)	Últimos 2 días (g)
0.0% de inclusión	0.54±.36 ^{NS}	1.04±.30 ^{NS}	1.01±.47 ^{NS}
0.15% de inclusión	0.72±28 ^{NS}	1.26±.31 ^{NS}	1.24±.06 ^{NS}
0.25% de inclusión	0.45±29 ^{NS}	1.59±.93 ^{NS}	1.41±1.0 ^{NS}

Cuadro 14 Consumo de alimento total en maternidad en los diferentes tratamientos.

	Consumo diario (g)	Consumo total (g)
0.0% de inclusión	1.14 ± 0.45 ^{NS}	18.25 ± 16.6 ^{NS}
0.15% de inclusión	1.42 ± 0.27 ^{NS}	22.79 ± 9.6 ^{NS}
0.25% de inclusión	1.40 ± 1.1 ^{NS}	24.32 ± 27.7 ^{NS}

Cuadro. 15 Consumo de alimento semanal en destete con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamiento	Primera semana (g)	Segunda semana (g)	Tercera semana (g)	Cuarta semana (g)	Quinta semana (g)
0.0% inclusión	142.61 ± 35.3 ^{NS}	205.15 ± 9.9 ^{NS}	351.68 ± 37.5 ^{NS}	592.39 ± 35.6 ^{NS}	600.77 ± 48.47 ^{NS}
0.15% inclusión	144.43 ± 22.3 ^{NS}	193.35 ± 31.4 ^{NS}	330.80 ± 31.3 ^{NS}	521.68 ± 89.3 ^{NS}	629.52 ± 125.9 ^{NS}
0.25% inclusión	148.85 ± 117.0 ^{NS}	233.82 ± 65.7 ^{NS}	378.27 ± 134 ^{NS}	570.36 ± 176 ^{NS}	721.96 ± 221 ^{NS}

Cuadro 16 Consumo de alimento total en destete con las diferentes inclusiones del probiótico.

	Consumo diario (g)	Consumo total (g)
0.0% de inclusión	378.5±17 ^{NS}	13,248.45±1043 ^{NS}
0.15% de inclusión	363.9±56.2 ^{NS}	12,738.75±196 ^{NS}
0.25% de inclusión	410.6±1.2 ^{NS}	14,373.63±4182 ^{NS}

Cuadro 17 Ganancia de peso semanal en maternidad con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Ganancia de peso diaria		
		Primera semana (g)	Segunda semana (g)	Últimos dos días (g)
0.0% de inclusión	2.5±.481	300.4±101.2 ^a	217.4±165.9 ^a	485.5±288.3 ^a
0.15% de inclusión	2.5±.576	283.4.1±83.6 ^a	247.0 ±73.4 ^a	59.93±280.1 ^b
0.25% de inclusión	2.2±.644	278.6±.69.5 ^a	272.8±96.6 ^a	391.5±500 ^a

Literales diferentes (a,b) en una misma columna indican diferencias estadísticas significativas (P<0.05)

Cuadro 18 Ganancia de peso total en maternidad con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Ganancia de peso total/ día (g)
0.0% de inclusión	2.5±.481	7.1±1.3 ^{NS}	287.25± 71.1 ^{NS}
0.15% de inclusión	2.5±.576	6.4±1.3 ^{NS}	241.9±.58.7 ^{NS}
0.25% de inclusión	2.2±.644	6.8±2.1 ^{NS}	290.2. ± 113 ^{NS}

Cuadro 19 Ganancia de peso semanal en destete con las diferentes inclusiones del probiótico.

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Ganancia de peso diaria				
		Primera semana (g)	Segunda semana (g)	Tercera semana (g)	Cuarta semana (g)	Quinta semana (g)
0.0% inclusión	de 7.1 ± 1.3	58.5 ± 117 ^a	57.1 ± 50 ^a	258.4 ± 48 ^a	366.2 ± 126 ^a	278.6 ± 114 ^a
0.15% inclusión	de 6.4 ± 1.3	98.7 ± 91.7 ^a	71.7 ± 55.3 ^a	198.0 ± 85 ^b	382.4 ± 168 ^a	388.8 ± 124 ^a
0.25% inclusión	de 6.8 ± 2.1	29.38 ± 142 ^b	54.1 ± 78.6 ^a	199.2 ± 84 ^b	349.9 ± 152.8 ^a	442.1 ± 175 ^a
Literales diferentes (a,b) por columna indica diferencia estadística significativa (P<0.05).						

Cuadro 20 Ganancia de peso en destete con las diferentes inclusiones del probiótico

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Ganancia de peso total/día (g)
0.0% de inclusión	7.1± 1.3	13.4±1.3 ^{NS}	180.3±.353.3 ^{NS}
0.15% de inclusión	6.4± 1.3	14.4±3.0 ^{NS}	227.0±76.2 ^{NS}
0.25% de inclusión	6.8± 2.3	14.3±1.5 ^{NS}	215.0±77.7 ^{NS}

LITERATURA CONSULTADA

Adachi, S.: In the lactic acid bacteria in health and disease, Volumnen 1, Edite by B. J. B. Wood. London: Elsevier Applied Science. pp. 233-262. (1992).

Anónimo. NRC.: Nutrient Requirement of Swine (9th De.) Nutritional Academy Press. Washington, D. C. U.S.A. 1988.

Anónimo. SAS.: Institute; SAS user's guide; statistic, Cary, N. C: 1982.

AOAC: Official methods of analysis (15 th Ed.) Association of official analytical chemists, Arlington. V.A. 1990

Banks, W.: Histología veterinaria aplicada. Ed. El manual moderno. pp. 493- 501. (1986).

Barnet, J. A., Payne, R. W., and Yarrow, D.: Yeasts Characteristics and identification. Cambridge University Press. Great Britain, Cambridge, pp. 407. 1983.

Bertin, G. and Tournut, J.: Saccharomyces cerevisiae Y-1079 as growth promotor in piglets results after 3 weeks administration. (I. P. V. S.) Proceedings: The 13 th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok, Thailand. 23-26 june. pp. 298. (1994).

Campbell, Y.: Yeast a practical approach. Oxford University Press. England. pp. 20-50. 1991.

Colon, H. M. L. y Morales, L. J.: Manual de microbiología de los alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubiran". México pp. 23-30. 1993.

Collintong, G. K., Parker, D. S. and Armstrong, D. G.: The influence of inclusion of either an antibiotic or a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. Brit. J. Nutr. 64: 59 (1990).

Cook, H.: Mucinas de tejidos humanos. El Manual moderno, México, D. F. (1976).

Copenhaver, W., Wood, R.: Barlesys textbook of histology. Ed. the Williams and Wrikins Company/Baltimore. pp. 489-510. (1978).

Fernandes, C. F., Chandan, R. C. and Shahani, K., M.: In the lactic acid bacteria in health and disease, Volume 1, Edited by B.J. B. Wood. London: Elsevier Applied Science. pp. 279-342. 1992.

Fuller, R.: Probiotic in man and animals. J. Appl. Bact., 66: 365-378. (1989).

Gay, C. C., Barker, I. K. and Moore, P.: Changes in piglet intestinal villous structure and intestinal enzyme activity associate with weaning. Proceedings of the fourth International Pig Veterinary Society Congress, Vol.5 (ed.W. E. Brand, R. D. Glock, D. L. Harris, N. E. Hutton and A. D. Lennon) American Association of Swine Practitioners, College of Veterinary Medicine, Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A. pp.11. (1976).

Gill, J. L.: Design and analysis of experiments in the animal and medical sciences. Ames, Iowa: Iowa State University. Press. Iowa, U.S.A. Vol. 2. (1978).

Hall, G. A. and Byrne, T. F.: Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets. Rese. in Veterinary Science 47: 387-392. (1989).

Havenaar, R., and Huis in't Veld, H. J.: Probiotics: A general view. The lactic acid bacteria in health and disease . Edited by Bran J.B. Wood. Elsevier Applied science. London, pp. 151-163. (1992).

Hampson, D. J: Post-weaning changes in the piglet small intestine in relation to growth-checks and diarrhoea. Ph.D. thesis, University of Bristol. 1983.

Hampson, D. J.: Attempts to modify changes in the piglet small intestine after weaning. Res. Vet. Sci., 40: 323-327 (1986).

Hampson, D. J. and Smith, W. C.: Influence of creep feeding and dietary intake after weaning on malabsortion and occurrence of diarrhoea in the newly weaned pig. Res. Vet. Sci., 41: 63-69 (1986).

Hampson, D. J. and Kidder, D. E.: Influence of creep feeding and weaning on brush border enzyme activities in the piglets small intestine. Res. Vet. Sci., 40: 24-32 (1986).

Hentges, D. J.: In probiotics, Edited by Fuller. London, Chapman and Hall. pp. 87-110. (1992).

Hoyos, G.: Aplicación de la biotecnología en la producción animal: La experiencia mexicana de una década. 1^{er} Simposio Mexicano sobre Probióticos. Ciudad Universitaria. México, D.F. p.132-148 (1997).

Junqueira, L. C., Carniego, J.: Histología básica 2^{da} e. Ed. Salvat. p 324-330 (1987).

Jurgens, M. H. , Rikabi, R. A., and Zimmerman, D. R.: The effect of dietary active dry yeast supplement on their pig. J. Anim. Sci. 75: 593-597. 1997.

Kelly, D.: Effect of creep feeding on structural and functional changes of the gut of early weaned pig. Res. Vet. Sci., 48: 350-356 (1990).

Kelly, D., Smyth, J. A. and MacCracken, K. J.: Digestive development of the early-weaned pig. 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. Brit. J. Nutr., 65: 69-180 (1991a).

Kelly, D., Smyth, J. A. and MacCracken, K. J.: Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of level of food intake on digestive enzyme activity during the immediate post-weaning period. Brit. J. Nutr., 65: 181-188 (1991b).

Kenworthy, R.: Observations on the effect of weaning in the young pig. Clinical histopathological studies of intestinal function and morphology. Res. Vet. Sci., 21: 69 (1976).

Kik, M. S. L.: effect of lecithins in legumen seed on the structure and function of the small intestinal mucosa. Thesis Utrecht. (1991).

Koopman, J. P., Kennis, H. M. Mulling, J. W. M. A. , Prints, R. A., Stadhouders, A. J. and Bore, H.: Reciprocal normalization of intestinal parameters by indigenous intestinal microflora of the rat and the mouse. Zeitschrift für Versuchstierkunde. 26:289-295. (1984).

Kornegay, E. T., Rhein-Welker, D. and Lidemann, M. D.: Performance and nutrient digestibility in weanling pigs as influenced by peanut hull and yeast culture additions to starter diets. J. Anim. Sci. 72 (Suppl. 2): 6 (Abstr.) 1995).

Larson, G.: The normal microflora and glycosphingolipids. The regulatory and protective role of the normal microflora. Wenner-Gren International Symposium Series, Vol. 52 . De. Stockton Press, New York, NY. pp. 129-143. (1989).

Lessard, M. and Brison, G. J.: Effect of *Lactobacillus spp.* fermentation product on growth, immune response and fecal enzyme activity in weaned pigs. Can. J. Anim. Sci., 67: 509-516 (1987).

Lee, A.: Neglecte niches, the microbial ecology of the gastrointestinal trac. Advanced Microbiology and Ecology. 8:115 (1985).

Lilly, D. M., and Stillwel, R. H.: Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. Science., 147:147 (1965).

López, O. C. and Márquez, G. P.: Comparasion of probiotic (Protexin Tm) and antibiotic pigdsers on preweaning performence of piglets. (I. P. V. S.) Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok, Thailand. 23-26 june pp. 297. (1994).

Lyons, T. P.: The role of biological tools in the feed industry. Proceedings of Alltech's Third Annual Symposium. pp 150. (1987).

Mahan, D.: Evaluating two sources of dried whwy and the effects of replacing the corn and dried whey component with corn gluten meal and lactose in the diets of weanling swinw. J. Anim. Sci. 71: 2860-2866. 1993

Metchnikoff, E.: Prolongation of life. New York: G.P. Putnam and Sons. pp 100. (1908).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Miller, B. G., Newby, T. J., Stokes, C. R. and Bourne, F. J.: Influence of diet on post-weaning malabsorption and diarrhoea in the pig. Res.Vet. Sci., 36: 187-193 (1984).

Miller, B. G., Smith, M. W. and Bourne, F. J.: Effect of weaning on the capacity of pig intestinal villi to digest and absorb nutrients. J. Agric. Sci., 107: 579-589 (1986).

Muting, D., Eschrich, W., and Mayer, J. B.: Amer. Jour. of Proctology, 19: 336. (1968).

Nabuurs, M. J. A. and Hoogendoorn, A.: Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in The Netherlands. Res. Vet. Sci., 55: 78-84 (1993).

Necoechea, R. R. y Márquez, M. L.: Manual de aditivos suplementos para la alimentación animal. 2da. ed. Manual Agropecuario. México, D.F. pp. 9-100 1987.

Nousiainen, J.: Comparative observations on selected probiotics and olaquinox as feed additives for piglets around weaning. 2: Effect on villus length and crypt depth in the jejunum, ileum, caecum and colon. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 66: 224-230 (1991).

Parekh, R.: Carbohydrate engineering in modern drug discovery. In: The Biotechnology report. Campden publishing Ltd., London, pp 135. (1993).

Parker, R. B.: Probiotics the other half the antibiotic history. Anim. Nut. and Healt., 29: 4-8. (1974).

Parson, L., Shorom, S. H., Anno, P. M. and Mulholland, G.: "Bladder surface mucin." Invest. Vrol. 16 (3): 196-200. 1978.

Pekas, J.: Morphometry of the intestine of pig. II Circumsection response to feeding schedules. Digest. Disca.Sci., 32:(1), 90-96 (1986).

Pulske, J. R. , Williams, I. H., Aherne, F. X.: Maintenance of villus height and crypt depth in piglets by providing continuous nutrition after weaning. Anim. Sic., 62: 132-144 (1996a).

Pulske, J. R. , Williams, I. H., Aherne, F. X.: Villus height and cryp depthe in piglets in response to increases in the intake of cow's milk after weaning. Anim. Sci., 62: 145-158 (1996b).

Pulske, J. R. , Thompson, M. J., Craig, A., Bird, P. H., Willians, I H. and Hartman, P.: Maintenance of villus height and cryp depth, and enhancement of disaccharide digestion and monosaccharide absorption, in piglets fed on cow's whole milk after weaning. Brit. J. Nut., 76: 409-422 (1996c)

Rhodes, J. M.: Colonic mucus annd mucosal glycoproteins: The key to colitis and cancer?. Gut 30. 1660-1666. 1989.

Roques, C., Dussert, L. And Tournut, J.: Saccharomyces cerevisiae Sc 47 as a growth promotor for the swine: Inportance of dosage in the feedd for optimal effciency. (I. P. V. S.) Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok, Thailand. 23-26 june p. 296. (1994).

Salminen, S., Isolauro, E., Salminen, E.: Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains for future challenges. Antonie v. Leeuwenhoek 70: 347-358. (1996).

Smith, M. W.: Effect of postnatal development and weaning up on the capacity of pig intestinal villi to transport alanine. J. Agri. Sci., 102: 625-633 1984.

Snel J. and Huis in 't Veld, J. H. J.: Probiotics: Present and future. 1er. Simposio Mexicano sobre probióticos. junio 18 al 20 Ciudad Universitaria, D. F. (1997).

Stavric, S., Kornegay, E. T.: Microbial probiotics for pigs and poultry . Biotec. Anim. Feeds. And Anim. Feeds. De. Wallace, R. J. Chesson, A. J. Ontario Canada. pp. 205-232 (1995).

Stewartt, C. S., Hilman, K.; Maxawell, F., Kelly, D. and King, T. P.: Recent advances in probiotics in pigs: Observations on the microbiology of the pig gut. Recent advances in animal nutrition University of Nottingham Scholl of Agriculture. Ed. Nottinham University Press (1993).

Stewart, G. G.: Non traditional uses of yeast and its products: The past fifteen years. In Biotechnology in the fed industry. Proceedings of Alltech's eleventh annual symposium. (Ed.) Lyons and Jacques. Alltech, Nicolasville, Ky, pp. 105-115 (1995).

Syme, G.: The effect of protein-deficien isoenergetic diets on the growth ot rat jejunal mucosa. Br. J. Nutr. 48: 25-36. 1982.

Tannock, G. W., Szylit, O., Raibaud, P.: Colonization of tissue surfaces in the gastrointestinal trac of gnotobiotic animals by lactobacillus strains. Can.Jou. Microbiologia 28: 119-1198. (1982).

Tannock, G. W.: Effect of dietary and environmental stress on the gastrointestinal microbiota. In Human intestinal microflora in health and disease.. London: Academic Press. pp. 517-539. 1983.

Tomioka, H. and Saito, H.: In the lactic acid bacteria in health and Disease, Vol 1., Elsevier Applied science. pp. 263-296 1992.

Tournut, J.: Introduction to probiotics. (I. P. V. S.) Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok, Thailand. 23-26 june p. 291. (1994).

Tournut, J.: Probiotics: guidelines for evaluating efficacy and objectives. (I. P. V. S.) Proceedings: The 13th International Pig Veterinary Society Congress, Bangkok, Thailand. 23-26 june p.292. (1994).

Vega, M. A., y Stokes, C. R.: Desarrollo del sistema inmune porcino. Tec. Pecu. Méx. Vol. 32. No. 1. 30-38 (1994).

Viguerras, R. M. : Características histoquímicas de la mucosa intestinal de la rata durante el primer año de vida. Acta medica, vol. XXVII., Núms. 105-106. pp 15-17. (1991).