



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

**EFFECTO DE *Lactobacillus spp.* y *Enterococcus faecium*
SOBRE LAS VARIABLES DE PRODUCCIÓN
Y PRESENCIA DE DIARREAS EN CERDOS AL DESTETE**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
SERGIO REYES GUZMÁN

ASESORES:

MVZ MPA SERGIO ÁNGELES CAMPOS
MVZ MPA JESÚS MANUEL CORTÉZ SÁNCHEZ
ING MC JOSÉ LUIS PABLOS HACH



MÉXICO, D.F.

2005

0350526



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dedicatoria

A mi madre que además de darme la vida me dio la fortaleza para enfrentarla con valor.

A mi padre por enseñarme a ser un hombre honesto.

Me siento inmensamente orgulloso y feliz de ser su hijo, gracias por concederme el privilegio de tenerlos como padres, gracias por todo.

Mi triunfo es el de ustedes.

Agradecimientos

A Lety por todo el apoyo que incondicionalmente me ha brindado y sobre todo por creer en mí, gracias, te amo.

Agradecimientos

A la UNAM por hacer de mis sueños una realidad.

Agradecimientos

A mis Asesores:

MVZ MPA Sergio Ángeles Campos.

MVZ MPA Jesús Manuel Cortés Sánchez.

ING MC José Luis Pablos Hach.

Por su paciencia, apoyo, dirección y entrega.

A mi jurado:

MVZ Humberto Troncoso Altamirano.

MVZ. Roberto Martínez Gamba.

MVZ. Maria Elena Trujillo Ortega.

MVZ. Francisco Castrejón Pineda.

Por el conocimiento otorgado para enriquecer la presente.

CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. Situación actual de la producción de carne de porcino en México.....	5
2.2. Aditivos para la alimentación animal.....	5
2.3. Prohibición de los antibióticos promotores del crecimiento.....	6
2.4. Probióticos.	
2.4.1. Revisión del término probiótico.....	7
2.4.2. Historia y Desarrollo de los probióticos.....	8
2.4.3. Uso de probióticos en la producción animal.....	10
2.4.4. Características generales de los probióticos.....	11
2.5. <i>Lactobacillus spp.</i> y <i>Enterococcus faecium</i> .	
2.5.1. Clasificación.....	12
2.5.2. Características.....	12
2.5.3. Mecanismos de acción.	
2.5.3.1. Exclusión competitiva.....	13
2.5.3.2. Antagonismo.....	13
2.5.3.3. Estimulación del sistema inmune.....	14
2.5.3.4. Actividades metabólicas benéficas.....	14

	Pag.
2.6. El impacto del destete en el lechón.....	14
2.6.1. Características de la microbiología intestinal de los lechones	15
2.6.2. Efecto del destete sobre la microbiología intestinal de los lechones	17
2.7. Presencia de diarreas en lechones destetados.....	17
2.8. Justificación.....	20
3. HIPOTESIS.....	21
4. OBJETIVOS.....	21
5. MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1. Ubicación y Características Geográficas.....	22
5.2. Plan Experimental.....	22
5.3. Instalaciones.....	23
5.4. Manejo.....	23
5.5. Plan de Análisis.....	24
5.6. Diseño Experimental.....	24
5.7. Modelo Estadístico.....	25
6. RESULTADOS.....	26
7. DISCUSIÓN.....	27
8. CONCLUSIÓN.....	32
9. LITERATURA CITADA.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Estimación de la Balanza de carne de porcino en México del 2004.....	33
Cuadro 2. Categorías de aditivos para la alimentación animal.....	34
Cuadro 3. Microorganismos que comúnmente se utilizan como probióticos catalogados como GRAS por la AAFCO.....	35
Cuadro 4. Requisitos para los productos microbianos según Fox, Gadd y Lyons.....	36
Cuadro 5. Mecanismos de acción de los probióticos.....	37
Cuadro 6. Niveles típicos de acidez en el tracto digestivo de lechones de 3 a 15 kg. de peso vivo.....	38
Cuadro 7. Niveles óptimos de pH en el tracto digestivo de los lechones para el crecimiento de los microorganismos patógenos más comunes.....	38
Cuadro 8. Factores activos o potencialmente activos en la composición de la microbiota intestinal.....	39
Cuadro 9. Bacterias predominantes, aisladas de distintas regiones del tracto gastrointestinal de cerdos recién destetados.....	40
Cuadro 10. Poblaciones microbianas de <i>Lactobacillus spp.</i> y total de anaerobios a diferente edad en lechones destetados a los 24 días.....	41
Cuadro 11. Composición de la dieta de preiniciación para los lechones de las unidades experimentales.....	42
Cuadro 12. Estadística descriptiva de la variable ganancia de peso de la unidad experimental.....	43
Cuadro 13. Estadística descriptiva de la variable eficiencia alimenticia de la unidad experimental.....	44
Cuadro 14. Estadística descriptiva de la variable conversión alimenticia de la unidad experimental.....	45
Cuadro 15. Prueba de <i>ji cuadrada</i> de la presencia de diarreas de los cuatro tratamientos.....	46

ÍNDICE DE GRAFICAS

	Pag.
Grafica 1. Conformación del Consumo Nacional Aparente de carnes en México 2003.....	47
Grafica 2. Producción de carne de porcino en México.	48
Grafica 3. Distribución de tratamientos experimentales.....	48
Grafica 4. Promedio del consumo total de alimento de la unidad experimental por tratamiento.	49
Grafica 5. Promedio del consumo diario de alimento de la unidad experimental por tratamiento	49
Grafica 6. Número de lechones que presentaron diarrea por tratamiento	50
Grafica 7. Promedio de los días de duración de las diarreas por tratamiento.	50

ÍNDICE DE IMÁGENES

	Pag.
Imagen 1. Lechón con diarrea.	51
Imagen 2. Diarrea alcalina y acuosa (diarrea "secretora" por <i>E. coli</i>)	51
Imagen 3. Diarrea ácida y voluminosa (diarrea "osmótica" por rotavirus o <i>E. coli</i> enteropatógena).....	52
Imagen 4. Diarrea con mucus y sangre (disentería porcina)	52
Imagen 5. Diarrea oscura (tras una úlcera gástrica)	53
Imagen 6. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP).	53
Imagen 7. Corraleta con cinco lechones como unidad experimental	54
Imagen 8. Calentadores de gas tipo campana y cortina de lona para regular la temperatura y ventilación.....	54
Imagen 9. Variación en el peso de los lechones de las unidades experimentales	55

RESUMEN

Sergio Reyes Guzmán: Efecto de *Lactobacillus spp.* y *Enterococcus faecium* sobre las variables de producción y presencia de diarreas en cerdos al destete. (Bajo la dirección de MVZ MPA Sergio Ángeles Campos, MVZ MPA Jesús Manuel Cortés Sánchez y el Ing. MC, José Luis Pablos Hach).

El presente estudio evaluó en condiciones de campo la efectividad de un probiótico comercial compuesto por *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, sobre la ganancia de peso promedio, consumo promedio de alimento, conversión y eficiencia alimenticia, además de la presencia de diarreas en lechones destetados a los 21 días, para ello se utilizaron 120 lechones neonatos híbridos de Yorkshire-Landrace, (60 con probiótico y 60 sin probiótico) los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en 4 tratamientos al momento del destete: (T1) Administración del probiótico a las 24 horas de nacidos, a los 10 días y al destete. (T2) Administración del probiótico a las 24 horas de nacidos y a los 10 días de vida. (T3) Administración del probiótico al destete. (T4) Sin administración del probiótico. La administración del probiótico fue por vía oral (con dosificador) según el tratamiento y en todos los casos fue una sola aplicación de 2ml. La composición de la ración base que se ofreció cumple con los requerimientos del NRC para cerdos destetados (20% PC y 3.2 Mcal. de EM/Kg./MS), presentada en forma de harina y administrada poco y frecuente. Los lechones se pesaron individualmente durante el destete y al final del estudio, para cada tratamiento se obtuvo la estadística descriptiva de media, desviación estándar, valores máximos y mínimos, y con la unidad de análisis se obtuvo: ganancia de peso final, consumo promedio de alimento, conversión alimenticia y eficiencia alimenticia, considerando como covariable el peso del lechón al iniciar el estudio. Para medir la presencia de diarreas se utilizó la prueba de independencia entre los factores A y B, mediante la *ji* cuadrada de Pearson. Los resultados mostraron que la aplicación de *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* no incrementaron la ganancia de peso promedio, consumo promedio de alimento, conversión y eficiencia alimenticia en los grupos tratados con el probiótico, al no haber diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre los cuatro tratamientos, con respecto a la presencia de diarreas se obtuvo una respuesta significativa a favor de los tratamientos que recibieron el probiótico, así como en la disminución del promedio de duración de las mismas.

ABSTRACT

Sergio Reyes Guzmán: Effect of *Lactobacillus* spp. and *Enterococcus faecium* on the production variables and presence of diarrheas in pigs to the weaning. (Supervised by MVZ MPA Sergio Ángeles Campos, MVZ MPA Jesús Manuel Cortés Sánchez and Ing. MC José Luis Pablos Hach).

This investigation evaluated under field conditions the effectiveness of a commercial probiotic composed by *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, the study considered the gain over the weigh average, the consumption of food average, nutritious conversion and the nutritious efficiency, also the presence of diarrheas in pigs weaned at 21 days after born. Used 120 hybrid neonates pigs of Yorkshire-Landrace, (60 with probiotic and 60 without probiotic) which were distributed aleatorily just in the weaning moment in 4 different treatments: (T1) Administration of probiotic to pigs at 24 hours after born, to pigs at 10 days after born and to pigs in the weaning moment. (T2) Administration of probiotic to pigs at 24 hours after born and to pigs at 10 days after born. (T3) Administration of probiotic to pigs in the weaning moment. (T4) Without administration of probiotic. The probiotic was supplied via oral with a dropper according to the treatment and unique doses with 2ml in all cases. The composition of the base portion corresponded to the requirements of NRC for weaned pigs (20% PC and 3.2 Mcal. of EM/Kg./MS), and was presented as a pulverized form and supplied by little portions and frequently. The pigs were weighed individually in the weaning moment and at the end of the study. For each treatment was obtained the descriptive statistic of the average, the standard deviation and the maximum and minimum values, with the analysis unit obtained the gain over the final weigh, consumption of food average, nutritious conversion and nutritious efficiency, considering as covariable the weight of the pig since the beginning of the study. To measure the occurrence of diarrheas used the Independence Analysis by comparing the factors "A" and "B", as a result of the square *ji* of Pearson. The results showed that the application of *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* didn't increase the gain of the weigh average, neither the consumption of food average, nutritious conversion neither nutritious efficiency in the groups tried with the probiotic, because didn't produce significant statistic differences ($p > 0.05$) among the four treatments, regarding to the existence of diarrheas a significant answer was obtained in support of the treatments with probiótico, as well as in the decrease of the average of during of the diarrheas.

1. INTRODUCCIÓN

México tiene relación comercial con 42 países, incluidos los 11 con los que tiene tratados de libre comercio (TLC), desde 1995 Japón es el país que más demanda carne de cerdo mexicana, mejorando aún más con el Acuerdo de Asociación Económica firmado en el 2004, sin embargo países como Estados Unidos de América (EUA) o los miembros de la Unión Europea crean un mercado que no ha sido aprovechado por México por factores como: leyes de etiquetado, aplicación de subsidios, programas de investigación, promoción, capacitación, información, infraestructura, acceso a créditos, mecanismos de regulación de importaciones y otras medidas proteccionistas que existen en estos países proporcionándoles menores costos de producción y mayor competitividad en el mercado nacional e internacional.

Para que México pueda acceder al mercado internacional, entre otras cosas tiene que desarrollar una cultura de certificación, así como reducir sus costos de producción, a pesar de esto la porcicultura mexicana ha alcanzado un desarrollo significativo en los últimos años, ocupando el tercer lugar en consumo nacional aparente de carnes, después del consumo de carne de pollo y bovino (*Grafica 1*).¹

Si bien su aportación al producto interno bruto es mínima, su importancia reside en proporcionar un conjunto de productos de valor nutricional y generar una amplia y compleja cadena productiva que incluye la producción de granos, oleaginosas, alimentos balanceados, fármacos, productos biológicos, establecimientos de sacrificio, despiezado e industrialización de la carne, además de incidir negativamente en la balanza comercial a causa de la demanda de insumos importados.^{2,3}

La porcicultura moderna es una industria de transformación que convierte materia prima en productos con valor agregado, por tanto, la actividad debe medirse en función de la eficiencia que logre en la generación de su producto (la carne) y la rentabilidad que obtenga,⁴ es aquí donde la alimentación actúa como un factor limitante, ya que incide y por ende encarece los costos de producción, por lo que la mejora de su eficiencia es uno de los aspectos más importantes, requiriéndose sustancias que potencialicen el aprovechamiento de la ración alimenticia,⁵ como los aditivos.

Entre los aditivos usados en la alimentación animal se encuentran los microorganismos mejoradores de la flora intestinal, también conocidos como probióticos, estos se agregan a las raciones de los animales con la finalidad de competir con bacterias patógenas, frenar su desarrollo, prevenir enfermedades de tipo infeccioso y mejorar la digestibilidad de la dieta.⁶ Cuando estas bacterias se aíslan y se suministran por vía oral, no necesariamente tienen valor nutricional, sino que con mejores condiciones sanitarias y de manejo, permiten que los animales expresen su potencial genético al restablecer el equilibrio bacteriano en el intestino,⁷ se menciona que en los lechones ayudan a disminuir los efectos asociados con algunas situaciones de estrés,⁸ previniendo o incluso remediando la aparición de infecciones de origen microbiano, disminuyendo la presencia de diarreas.^{9,10}

Los probióticos han tenido una amplia aceptación entre los productores de cerdos como alternativa al uso de antibióticos como promotores de crecimiento, mientras estos controlan las poblaciones microbianas inhibiendo su crecimiento o destruyéndolas, los probióticos favorecen la proliferación de bacterias benéficas dando como resultado una mejora en las variables de producción,¹¹ sin embargo, no tienen la efectividad de respuesta que se logra con los antibióticos, en gran medida porque los mecanismos de acción no se conocen o no han podido ser controlados efectivamente, ocasionando inconsistencia en los resultados, por lo que este trabajo se orientó a la evaluación en condiciones de campo, de la efectividad de un producto probiótico compuesto por *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, usado comúnmente para incrementar la productividad y disminuir la presencia de diarreas en cerdos.

* Probios® de Chr. Hansen Inc. Milwaukee, Wisconsin EUA, producto comercial, importado por synBios SA de CV. Querétaro Qro. México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Situación actual de la producción de carne de porcino en México.

Durante el año 2003 se mantuvieron condiciones de inestabilidad económica a nivel mundial, las que se reflejaron en México con un bajo desempeño en la economía, por lo que la producción de carne de cerdo se situó en 1, 036,700 toneladas, 3.1% inferior al 2002 (*Grafica 2*), situación influenciada por los bajos precios y altos niveles de las importaciones de productos porcícolas,¹ a esto se sumó, el encarecimiento de granos forrajeros y pastas oleaginosas, circunstancia que provoco un aumento en los costos de producción a \$12.12 por Kg. en sistema tecnificado y \$16.87 en semitecnificado, minimizando el impacto favorable de la recuperación de los precios del ganado para abasto, manteniendo la utilidad en niveles mínimos, sin embargo la disponibilidad per cápita ascendió a 14.7 kilogramos, 2.7% mayor a la de 2002.¹

En el 2004 se establece la balanza de carne de porcino en 1, 575,100 toneladas, (*Cuadro 1*) con lo que la disponibilidad *per cápita* de carne y productos porcícolas se ubicaron en 15 kilogramos al año, 1.8% más que en el 2003, logrando principalmente la expansión de empresas y consorcios de poricultores, así como algunas organizaciones de productores.¹

2.2. Aditivos para la alimentación animal.

Los aditivos se definen como cualquier sustancia permitida que, sin tener propiedades nutritivas, se incluyan en la formulación de alimentos y que actúen como estabilizantes, conservadores o modificadores de sus características organolépticas, para favorecer ya sea la estabilidad, conservación, apariencia o aceptabilidad.¹²

Otras definiciones incluyen a los microorganismos además de preparados distintos de materias primas, en general los aditivos tienen tres fines fundamentales: mejorar el sabor u otras características de las materias primas, alimentos o productos animales, prevenir ciertas enfermedades, y aumentar la eficiencia de producción animal.^{13,14}

Los aditivos alimenticios se vienen utilizando desde tiempos remotos, existen datos que prueban el uso de la sal y el ahumado desde tiempos prehistóricos, también los egipcios empleaban los colorantes naturales y los romanos el salitre y los derivados de azufre como conservantes,¹⁵ actualmente, se clasifican a los aditivos de acuerdo a su actividad específica como se muestra en la *Cuadro 2*.

2.3. Prohibición de los antibióticos promotores del crecimiento.

La Unión Europea, en el marco de la nueva política de seguridad alimentaria y de creación de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), establece una prohibición generalizada para los antibióticos que se emplean como aditivos en la alimentación animal, estableciendo un período de uso restringido para 4 de ellos hasta el 1/1/2006, por tener un principio activo no utilizado en humanos (avilamicina, flavofosfolipol, monensina sódica y salinomocina sódica),¹⁴ estas medidas, aunque esperadas, no por ello dejan de producir una problemática de urgente y difícil solución en la práctica, debido a que el empleo de muchos aditivos, entre ellos los antibióticos, se les justifica por razones económicas inmediatas y en muchos casos por mejorar la eficacia de los procesos metabólicos y salud de los animales.¹⁶

La prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento tendrá importantes implicaciones económicas en el sector zootécnico, ya que conllevará un aumento en los costos de producción, estimando que en nuestro país, la prohibición puede provocar un aumento global de los costos de producción entre el 3,5 y el 5 %, según el tipo de producción,^{13,16} de forma general, pueden considerarse dos alternativas al uso de antibióticos promotores del crecimiento: la implantación de nuevas estrategias de manejo y la utilización de otras sustancias que tengan efectos similares sobre los niveles productivos.^{13,17}

2.4. Probióticos.

2.4.1. Revisión del término probiótico.

El concepto de probiótico tiene más de un siglo de antigüedad, el término procede de dos raíces griegas que significan "para la vida", la introducción del término se atribuye a Parker en 1974,¹⁸ sin embargo la literatura menciona que fue utilizado por primera vez por Lilly y Stillwell en 1965,¹⁹ a lo largo del tiempo se han visto múltiples definiciones del término probiótico, más o menos completas, entre ellas:

Lilly y Stillwell (1965): "Sustancias producidas por microorganismos que promueven el crecimiento de otros microorganismos".¹⁹

Sperti (1971): "Extractos del tejido que estimulan crecimiento microbiano".²⁰

Parker (1974): "Son los organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal".¹⁸

Fuller (1989): "Los probióticos son microbios vivos suplementados en el alimento que afectan benéficamente al animal, mejorando su equilibrio microbiano intestinal".²¹

Havenaar y Huis In't Veld (1992): "Son cultivos simples o mezclados de microorganismos vivos, que aplicados a los animales o al hombre, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microbiota intestinal indígena".²²

Salminen (1996): " Es una cultura microbiana viva o el producto del cultivo de la leche que beneficiosamente influyen en la salud y nutrición del hospedador".²³

Schaafsma (1996): "Microorganismos vivientes que en la ingestión en ciertos números, ejercen beneficios de salud más allá de la nutrición básica inherente".²⁴

Naidu *et al.* (1999): "Un adyuvante dietético microbiano que beneficiosamente afecta la fisiología del hospedador, modulando la mucosa y la inmunidad sistémica, así como mejorando el equilibrio nutritivo y microbiano en el tracto intestinal".²⁵

FAO (2001): "Microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio de salud en el hospedador".²⁶

Cromwell (2001): "Se refiere a culturas microbianas viables que aumentan la población gastrointestinal de microbios beneficiosos mientras excluyen bacterias patógenas competitivamente".²⁷

DGMyTS (2003): "Aquellos microorganismos viables que son capaces de sobrevivir al paso a través del tracto gastrointestinal (TGI) y colonizar el intestino, con lo que provoca efectos benéficos en la salud de hospedador".¹²

Tal vez la definición más adecuada sea la propuesta por Havenaar y Huis In't Veld (1992), la cual define a los probióticos como cultivos simples o mezclados de microorganismos vivos que, aplicados a los animales o al hombre, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microbiota intestinal indígena,^{22,28} siendo mejorada por Van Eys y Den Hartog (2003) al añadir que deben estar en una dosis suficiente para modificar (por implantación o colonización) la microbiota de algún compartimiento del aparato digestivo del hospedador.²⁹

Sin embargo, en la clasificación actual de los aditivos para la alimentación, la Comisión Europea ha decidido no utilizar el término probiótico por ser demasiado general, en su lugar menciona a los microorganismos en la categoría de aditivos zootécnicos en el grupo de estabilizadores de la flora intestinal con efectos positivos¹⁴ (Cuadro 2), también en EUA la American Feed Industry Association así como la Food and Drug Administration exige a los fabricantes utilizar el término de Productos Microbianos para Alimentación Directa (MAD), definiéndolos como "una fuente de microorganismos vivos (viables) naturalmente presentes",³⁰ no obstante el término probiótico por ser demasiado general, su empleo está muy extendido y es favorablemente acogido por su significado positivo en alimentación animal.

2.4.2. Historia y desarrollo de los probióticos.

Existen diversos antecedentes donde se involucran microorganismos vivientes, como las bacterias ácido-lácticas; en una versión del Viejo Testamento Pérsico (Génesis 18:8) declara que "Abraham debió su longevidad al consumo de leche agria". En el año 76 AC el historiador romano Plinius recomendó la administración de productos fermentados de leche para tratar la gastroenteritis,^{31,32} a la llegada de la era microbiológica, algunos investigadores como Metchnikoff,³³ Tissier³⁴ y Carre³⁵ atribuyeron los beneficios de salud a los cambios en el equilibrio microbiano intestinal.³¹

En el año 1907 Metchnikoff científico del Instituto Pasteur en París mencionó que al consumir yogurt se reduce el número de bacterias productoras de toxinas en el intestino, mejorando el estado de salud de los individuos y aumentando su longevidad, así mismo menciona las bases para comprender los mecanismos de acción al afirmar que, en nuestro intestino se producen las sustancias causantes de la autointoxicación debidas a las bacterias de putrefacción presentes en el TGI,³³ en apoyo a esto, citó la observación de los campesinos búlgaros que consumían grandes cantidades de leche agria y vivían hasta una gran edad;

creyendo en la relación causal y los eventos subsecuentes, lo cual confirmaba según el su tesis.³⁶

Metchnikoff aisló lo que llamó "Bacillus Búlgaro" en la leche fermentada y lo uso en ensayos posteriores, este organismo probablemente era lo que se conoció como *Lactobacillus bulgaricus* y que actualmente se conoce como *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, utilizado para la producción de yogurt.^{33,36}

Después de la muerte de Metchnikoff en 1916, las investigaciones se centraron en EU, los investigadores mostraron que los microorganismos del yogurt no pueden colonizar el intestino.³⁶

En 1916 Nissle intenta implantar bacterias ácido lácticas para "luchar contra las bacterias patógenas" como *Escherichia coli*.³⁷

Rettger en 1921 y Kopeloff en 1926, mostraron que *L. acidophilus* podía sobrevivir en el intestino humano a diferencia del "Bacilo Búlgaro",^{36,38,39,40} por lo que se pensó que si el efecto se manifestaba en el intestino del hospedador, era mejor utilizar *L. acidophilus*, usándose en ensayos posteriores con resultados alentadores, sobre todo en problemas de estreñimiento crónico.³⁶

A finales de 1940 el interés en el estudio de la microbiota intestinal fue estimulado por dos desarrollos de investigación:

1. El hallazgo de los antibióticos como promotores de crecimiento en animales con fines zootécnicos, llevó al deseo de descubrir el mecanismo de acción de estos, por lo que el estudio de la microbiota intestinal y como podría ser afectada por los antibióticos era de suma importancia.

2. La disponibilidad de animales libres de patógenos específicos, llevó a probar técnicas experimentales sobre los efectos de la microbiota intestinal en el hospedador.

El papel significativo de la microbiota intestinal para resistencia de enfermedades fue mostrado por Bohnhoff *et al.*,⁴¹ Freter,^{42,43} Collins y Carretero,⁴⁴ lo que aumentó el conocimiento sobre los *Lactobacillus spp.* y una amplia gama de microorganismos diferentes, para posteriormente utilizar las preparaciones de probióticos ya con una base científica, usando generalmente bacterias ácido lácticas.

2.4.3. Uso de probióticos en la producción animal.

Los probióticos se utilizaron en animales de granja a partir de 1970, estos estaban originalmente incorporados en el alimento para promover el crecimiento del animal, el efecto del probiótico en el TGI de los cerdos ocasionaba una disminución en la incidencia de diarreas, aumentando el consumo de alimento y mejorando la ganancia de peso.⁴⁵

La primera autorización de un probiótico en la Unión Europea fue hasta 1994, pero con la aparición de los antibióticos como promotores del crecimiento, el uso de probióticos declinó al igual que las investigaciones por lo que para 1999 el uso de antibióticos era uno de los aditivos más utilizados en la alimentación animal,⁴⁵ sin embargo el uso de antibióticos como promotores de crecimiento preocupaban a la comunidad, ya que el uso inadecuado podría desarrollar resistencia en algunas bacterias patógenas y resistencia cruzada con algunos antibióticos utilizados en medicina humana,^{8,9,13,14,17} aunando a la baja selectividad al atacar a microorganismos benéficos de la flora microbiana, lo que causó que declinara su uso hasta en un 50%.⁷

Actualmente, en la opinión pública existe una tendencia generalizada al rechazo de todo lo que no sea "natural", con el criterio de que la seguridad de los alimentos de origen animal empieza por la seguridad de los alimentos para los animales, incluidos los aditivos,^{13,17} por lo que el reto actual para el sector ganadero y la industria de alimentos balanceados, es conseguir hacer rentables los sistemas de producción, sin ser necesario el uso de los antiguos aditivos que podrían suponer un riesgo para la salud del consumidor o para el medio ambiente, consiguiendo efectos semejantes con el uso de productos naturales, nuevos y sin riesgo.¹⁶

Los microorganismos que comúnmente se utilizan como probióticos no producen efectos tóxicos, residuos químicos o drogas aún administrados en grandes cantidades, siendo estos totalmente seguros para los animales, el consumidor y el medio ambiente,^{46,47,48} por esta razón el uso de probióticos en animales de granja está aumentando. Actualmente existen más de veinte preparaciones probióticas autorizadas por la Unión Europea¹⁴ y su número va en aumento, así como las investigaciones al respecto, sin embargo presentan dos inconvenientes: la falta de consistencia de su actividad y que su precio es entre un 20 y un 30% superior al de los antibióticos como promotores de crecimiento,^{13,16} a pesar de esto se han obtenido resultados positivos donde las respuestas son más consistentes bajo condiciones de producción comercial, porque el estrés y las enfermedades son más elevadas, permitiendo una distinción de los efectos profilácticos de los probióticos,⁴⁹ lo que considera a los probióticos como una opción a usarse como alternativa a otros promotores de crecimiento.⁴⁵

2.4.4. Características generales de los probióticos.

En general, el efecto que se espera al adicionar productos microbianos, es manipular la composición de la flora bacteriana del TGI para obtener de esta forma una relación simbiótica entre el huésped y el hospedador,^{50,51} logrando un beneficio de salud, por lo que se debe seleccionar un microorganismo efectivo, obtenido originalmente del TGI de un animal saludable; los géneros y especies que se utilizan más comúnmente y catalogados como Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS) por la Association of American Feed Control Officials (AAFCO)⁴⁸ se muestran en el *Cuadro 3*.

Sin embargo existe inconsistencia en los resultados de los productos que utilizan estos microorganismos, gran parte de esta variación se debe a las concentraciones de la variedad, actividad, estabilidad y consistencia microbiana, además de la forma como se fabrican, estabilizan, envasan o se selecciona el microorganismo, también hay que tomar en cuenta el nivel de estrés, edad, temperatura ambiente y composición del alimento de los cerdos, por lo que un buen producto debe cumplir con las características mostradas en el *Cuadro 4*.

Estas variedades y combinaciones de microorganismos benefician el rendimiento y la salud de los animales mediante modificaciones en la población microbiana de su tracto digestivo,⁹ cuando por ejemplo los lechones son sometidos a situaciones de estrés ya sean naturales (nacimiento, destete, clima, enfermedades clínicas, subclínicas o patógenos oportunistas y jerarquización) o por prácticas de manejo (transporte, vacunación, desparasitación, muesqueo, descolmillado, corte de cola, terapia antimicrobiana, cambios de alimento), la cantidad de mucina, fuente de energía para las bacterias anaeróbicas, disminuye al aumentar la secreción de corticosteroides endógenos, llevando a una disminución en el número de bacterias anaeróbicas que utilizan mucina, aumentando el número de bacterias coliformes que podrían ocasionar enfermedad, la severidad varía desde una pérdida de apetito simple y transitoria con una caída de pocos gramos en la ganancia diaria, hasta la muerte;⁶ La manera en que logran reestablecer el equilibrio bacteriano no está bien esclarecida sin embargo se conocen varios mecanismos de acción (*Cuadro 5*), aparentemente, una combinación de estos mecanismos contribuyen al equilibrio de la microflora intestinal.

Algunos autores como Kung (1999), cuestionan la necesidad de los probióticos de colonizar la pared intestinal para efectuar sus efectos benéficos, argumentando que las bacterias del probiótico pueden producir sus componentes activos sin la colonización de la pared intestinal manteniendo sus efectos benéficos en el hospedador,⁵² así como Cuarón (2004), menciona que la exclusión competitiva de las bacterias, particularmente *E. coli* entero-tóxica, *Salmonella spp.* y algunos *Clostridium spp.*, está bien documentada in vitro, pero es difícil ligar directa y objetivamente los efectos in vivo con cambios en el potencial patogénico de los microbios.⁵³

2.5. *Lactobacillus* spp. y *Enterococcus faecium*.

2.5.1. Clasificación.

Se clasifican como bacterias Gram+, unicelulares no esporuladas, forma bacilar o esférica, inmóviles, microaerófilas fermentativas o anaeróbicas facultativas que producen abundantes cantidades de ácidos orgánicos resultado de su metabolismo, obtienen la energía mediante fermentación (sin citocromos, catalasa negativa) de carbohidratos, producen ácido láctico por la fermentación homoláctica o fermentación heteroláctica, son habitantes naturales del intestino y consideradas como microbiota natural, manteniendo la función digestiva normal y en general son benéficas para el hospedador.^{54,55,56}

Taxonomía

Phylum BXIII: Firmicutes

Clase III. Bacilli

Orden II. Lactobacillales

Fam I. *Lactobacillaceae*

Gen. *Lactobacillus* (bacilos regulares). *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. salivarius*

Fam. IV. *Enterococcaceae*

Gen. *Enterococcus* (*E. faecium*)

2.5.2. Características.

E. faecium y *L. acidophilus*, muestran acción antagonista frente a bacterias patógenas entéricas como: *E. coli*, *Streptococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* y *Yersinia enterocolitica*, su capacidad inhibitoria no es afectada por la presencia de catalasa o por neutralización, resisten pH bajo (3,0) y sales biliares.^{57,58}

L. acidophilus produce varios tipos de antibióticos como la acidofilina, lactocidina y acidolina,⁸ se menciona que *L. plantarum* puede aumentar la producción de anticuerpos contra *E. coli*.⁵⁹ Además de usarse en la construcción de cepas recombinantes con la capacidad de secretar celulasa extracelular y producir lactolina, no es un anaerobio estricto por lo que es capaz de crecer aeróbicamente.^{8,60}

E. faecium se caracteriza por presentar resistencia intrínseca a un gran número de antibióticos (b -lactámicos, lincosaminas, aminoglucósidos y trimetoprim-sulfametoxazol) y por su capacidad para adquirir nuevas resistencias,⁶¹ además

tiene la habilidad de producir enteriocinas (bacteriocinas producidas por *E. faecium*), existiendo varios tipos: Enterocina A, B, P, I, M y CCM4231, que tienen actividad inhibitoria contra bacterias como *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.*⁶²

Collington (1995), sugiere que la mezcla de *E. faecium* y *Lactobacillus spp.* incrementa la actividad de la dipeptidasa y lactasa en el intestino delgado y aumenta las enzimas carbohidrasas en la mucosa intestinal de los cerdos.⁶³

Rowan (1991), plantea que algunas cepas de *Enterococcus spp.* y *Lactobacillus spp.* participan en la hidrólisis de algunos agentes antinutricionales como los glucosinolatos presentes en la harina de colza o canóla, mejorando la digestibilidad de la dieta.⁶⁴

2.5.3. Mecanismos de acción.

2.5.3.1. Exclusión competitiva.

La manipulación de la población microbiana o exclusión competitiva, es la competencia de las bacterias por los receptores que permiten la adhesión y colonización de la mucosa intestinal desplazando gérmenes indeseables; los *Lactobacillus spp.* se asocian con las microvellosidades intestinales, este bloqueo de sitios en la pared intestinal por un organismo deseable evita que se adhieran agentes patógenos, además *Lactobacillus spp.* puede competir exitosamente por nutrientes con otras bacterias en el intestino, dominando así la colonización en el TGI, sin embargo para que este principio se cumpla, dos poblaciones que no estén genéticamente cruzadas entre sí deben ocupar el mismo nicho ecológico, estar en el mismo espacio y que la población "A" se reproduzca más rápido que la población "B" desplazándola.^{9,10,22,46,47,51,65,66,67, 68}

2.5.3.2. Antagonismo.

Los *Lactobacillus spp.* inhiben bacterias patógenas mediante la producción de H_2O_2 ,^{8,22,25} bacteriocinas,^{25,69,70} antibióticos, ácidos grasos volátiles y otros ácidos orgánicos como el láctico y acético,^{71,72,73,74} los cuales han sido reportados como inhibidores de *E. coli*^{72,73,74,75} y otros patógenos intestinales mediante la disminución del pH a nivel intestinal.^{47,50}

2.5.3.3. Estimulación del sistema inmune.

Este efecto está relacionado a la capacidad de *E. faecium* y *Lactobacillus spp.* de aumentar la respuesta proliferativa de las células del tejido linfoide (Placas de Peyer) y células del epitelio intestinal, actuando como antígenos desencadenando reacción inmunitaria, mejorando la producción de células B productoras de IgA^{6,65,68,76} y la migración de células T al intestino,^{65,68} además de disminuir la producción de citoquinas inflamatorias⁵¹ aumentando los niveles de IgM e IgG sistémicos.²¹

2.5.3.4. Actividades metabólicas benéficas.

Lactobacillus spp. produce enzimas que catalizan la desconjugación de sales biliares, como la: β -galactosidasa que favorece la asimilación de lactosa, β -glucanasa que favorece la asimilación de β -glucanos de los cereales, y por su metabolismo del nitrógeno, no liberan NH_4^+ o compuestos nitrogenados tóxicos (aminas).⁶⁶

2.6. El impacto del destete en el lechón.

Bajo condiciones naturales los lechones son destetados generalmente entre las 15 y 22 semanas de edad, sin embargo las nuevas tecnologías y la intensificación de la producción ha llevado a destetes más tempranos, si bien por cuestiones económicas o de manejo, la industria busca camadas uniformes de 10 -11 lechones, con destetes de 21 días y con un peso promedio de 6Kg., sin embargo el destete precoz tiende a limitar el contacto con la madre y provee al lechón de una alimentación y condiciones ambientales artificiales, el resultado es un breve periodo de ayuno con ciertas alteraciones del tracto digestivo, tanto en su estructura como en la cantidad y composición de su flora intestinal.^{77,78,79}

El estrés de origen nutricional que acompaña al destete, es causado por el cambio de una dieta láctea altamente digestible y muy bien adaptada a las enzimas presentes en el tubo digestivo, a una dieta sólida a base de cereales no siempre adecuada a las necesidades del aparato digestivo aún inmaduro y con baja capacidad digestiva.⁸⁰

A nivel funcional y estructural en el intestino delgado se observan cambios que suceden dentro de las primeras 24 horas posdestete y generalmente abarcan un decremento en la altura de las vellosidades y un incremento en la profundidad de las criptas, reducciones en la actividad específica de las enzimas digestivas lactasa y sacarasa, y una reducción en la capacidad de absorción.⁸¹

El lechón lactante recibe lactosa de la leche materna, por lo que tiene una alta producción de lactasa, además los lactobacilos producen ácido láctico a partir de la lactosa, lo que ayuda a mantener el pH por debajo de 3,^{82,83} suficiente para activar la pepsina que da inicio a la digestión de las proteínas lácteas, sin embargo, al ser destetados la producción de ácido láctico disminuye notablemente debido a la naturaleza de la dieta, al igual que la producción de ácido clorhídrico (HCl), por lo que el pH alcanza niveles superiores a 5 (*Cuadro 6*) produciendo desactivación del pepsinogeno pudiéndose ocasionar infecciones bacterianas con procesos diarreicos (*Cuadro 7*).

La producción de HCl y la actividad proteolítica del contenido gástrico se desarrollan paralelamente a la ingestión del alimento complementario,⁸⁴ la acidez del estómago no llega a niveles apreciables hasta la tercera o cuarta semana posdestete,⁸⁵ este proceso de adaptación digestiva atenúa los efectos negativos del destete.

La escasez de reservas de hierro, la poca capacidad de termorregulación, un sistema inmunológico inmaduro, la incapacidad de reducir la acidez digestiva, en general el efecto combinado de todos los cambios al momento del destete se traduce en un bajo nivel de consumo voluntario, pobre crecimiento inicial o pérdida de peso y, en algunas instancias, diarrea, morbilidad y muerte, esta disminución del crecimiento se presenta alrededor de los 14 días posdestete, y representa de un 25% a 40% de la reducción del crecimiento, comparado con los cerdos que permanecen con su madre.⁸¹

2.6.1 Características de la microbiología intestinal de los lechones destetados.

El útero de la cerda ofrece condiciones estériles para el feto, sin embargo durante el parto entra en contacto con bacterias vaginales, generalmente *Lactobacillus spp.* estas bacterias se establecen en todo el TGI del recién nacido y proliferan cuando este se encuentra lactando, la microbiología intestinal del recién nacido permanece relativamente estable.^{86,87}

La diversidad de microorganismos que colonizan el TGI de los lechones juega un papel esencial en el bienestar global del animal, la densidad de población de la microbiota en diferentes regiones del TGI depende al mismo tiempo de las condiciones físico-químicas de la región en cuestión bajo las que se encuentren los microorganismos (*Cuadro 8*) y el ritmo de vaciado de la sección en particular.⁸⁸

Bajo condiciones normales, el TGI de los cerdos contiene más de 400 especies bacterianas (*Cuadro 9*), existiendo una relación simbiótica con el hospedador, estos microorganismos ayudan a la digestión, mejoran la inmunidad, produciendo nutrientes como vitaminas, enzimas y sustancias antimicrobianas, ayudan a

mantener el pH, el balance de agua y el desempeño de otras funciones incluyendo la prevención del desarrollo de bacterias que podrían ser potencialmente patógenas como *Clostridium ssp.*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Campilobacter spp.* etc.^{46,47,68}

La condiciones químicas y la distribución de los lugares de unión de las bacterias sobre la superficie de la mucosa intestinal, juegan un papel importante en la determinación de la susceptibilidad del hospedador y el tejido, y en las reacciones del hospedador, tales como la respuesta inmune e inflamatoria, especialmente en animales jóvenes recién destetados, esta asociación puede tomar la forma de adherencia, fijación o colonización.^{89,90}

Se asume que existen interacciones entre la microbiota, la cual se manifiesta por la diferencia en números relativos entre los grupos microbianos cuando se lleva a cabo conteos en heces, estas interacciones pueden ser antagonistas (directas o indirectas) o sinérgicas.⁶

Como ejemplo de antagonismo directo podemos enumerar:

1. Agotamiento de sustratos esenciales para la multiplicación de ciertos microorganismos.
2. Competencia por sitios de adhesión en el epitelio intestinal.
3. La creación de un microorganismo, de un medio fisiológicamente restrictivo inhibitorio para otro microorganismo.
4. Elaboración por un microorganismo, de sustancias inhibitorias de tipo antibiótico para otro.⁶

En el tipo de interacciones sinérgicas, diferentes especies de microbios pueden compartir factores metabólicos, por ejemplo, ciertos organismos aeróbicos pueden disminuir la tensión de oxígeno y el potencial de disminución de oxidación y crear un medio viable para el crecimiento de organismos anaeróbicos.⁹¹

Por otra parte, la actividad microbiana del intestino grueso (ciego-colon) no aumenta hasta pasados los 20 días del destete, mientras que en el intestino delgado (íleon) sólo tarda una semana en alcanzarse la máxima fermentación, transcurrido dicho período de cambios y actividades en la flora microbiana intestinal se debería producir una estabilización de la misma.⁸⁷

2.6.2. Efecto del destete sobre la microbiología intestinal de los lechones.

El destete es una situación estresante para el lechón, el cual debe adaptarse rápidamente a los cambios ambientales y nutricionales,⁹² generalmente, se observa un gran número de bacterias en el estómago e intestino delgado del lechón, que dan lugar a fermentaciones microbianas a nivel de íleon, sitio donde la velocidad del tránsito digestivo se reduce y aumenta el número de bacterias tanto benéficas (*Lactobacillus spp.*) como patógenas (*E. coli*).

En los lechones, se han observado cambios en las poblaciones microbianas después del destete,^{93,94} como se muestra en la *Cuadro 10*, los lactobacilos, previamente dominantes en el intestino delgado por la ingestión de leche materna, reducen su número durante los primeros días post-destete, mientras que el número de bacterias coliformes en especial *E. coli* aumentan su población,^{78,95} sin embargo al adicionar *L. acidophilus* y *E. faecium* se reduce significativamente la concentración de bacterias coliformes tanto en íleon como ciego, provocando un aumento de estos en todo el intestino, evitando diarreas post-destete al mejorar la relación *Lactobacillus spp.* / *E. coli*.⁹⁶

En definitiva, al realizar el destete e incluir el cambio de dieta, se observan distintos efectos sobre la composición y estabilidad de la flora microbiana del TGI, provocando alteraciones inmediatamente posterior al destete, dejando al lechón más susceptible a la proliferación de bacterias patógenas, causantes de enfermedad.⁹⁷

2.7. Presencia de diarreas en lechones destetados.

Las enfermedades digestivas de los lechones recién destetados no son independientes de otras patologías ni de las condiciones medioambientales de la explotación, terminando casi siempre en diarrea (incremento diario de heces evacuadas con aumento de contenido en agua), la diarrea se hace visualmente reconocible cuando el contenido en agua de las heces supera alrededor del 80% (*Imagen 1*) y son asociadas a tres razones principales:

a) Colonización y proliferación de bacterias, virus y parásitos como: *E. coli*, *Clostridium perfringens* tipo C, *Clostridium perfringens* tipo A, *Clostridium difficile*, Coccidiosis por *Isospora suis*, *Cryptosporidium parvum*, Virus del PRRS, Gastroenteritis transmisible, Diarrea epidémica porcina y Rotavirus.

b) Desequilibrio nutricional que causa irritación y alteración del TGI, con interrupción de los procesos de absorción y secreción por parte de las células epiteliales.

c) Incremento de la presión osmótica luminal, con desórdenes de la motilidad intestinal.⁹⁸

La diarrea que está causada por la acción de enterotoxinas bacterianas en el intestino delgado es alcalina y acuosa (diarrea "secretora" por *E. coli*) (*Imagen 2*) mientras que aquella asociada con daño y/o pérdida de funcionalidad del epitelio y de su parte más superficial tiende a ser ácida y voluminosa (diarrea "osmótica" por rotavirus o *E. coli* enteropatógena) (*Imagen 3*). Cuando el lugar de la infección se encuentra en el intestino grueso, en las heces aparece frecuentemente mucus, y si hay daño en el tejido entonces puede aparecer sangre (dysentería porcina) (*Imagen 4*). Una hemorragia procedente de un segmento anterior normalmente resulta en heces oscuras como el alquitrán (tras una úlcera gástrica) (*Imagen 5*).⁹⁹

Además esta capacidad reducida de digestión puede provocar la llegada de cantidades importantes de proteína sin digerir al intestino grueso, donde son susceptibles de ser fermentadas liberando aminas biógenas, como la cadaverina y la putrescina que agravan los procesos diarreicos donde la severidad varía desde una pérdida de apetito simple y transitoria con disminución de la ganancia diaria de peso, hasta la muerte.

Ante esta situación, el ganadero siempre ha contado con la utilización de agentes antimicrobianos incluyendo antibióticos y compuestos minerales como el óxido de zinc y el sulfato de cobre para el control y profilaxis de dichas enfermedades, sin embargo, ante el número creciente de bacterias patógenas resistentes a estos antimicrobianos comerciales y el riesgo para la salud humana se opta por productos naturales que no representen peligro para el medio y los consumidores.

Hampson (1994) menciona que dado que las enfermedades entéricas tienen un origen multifactorial, la prevención debería estar enfocada a reducir el número de factores de riesgo presentes,¹⁰⁰ Madec (1998), Bertschinger y Fairbrother (1999), sugieren que principalmente hay tres formas de manipular el desarrollo de la enfermedad entérica que destacan al ser fácilmente puestas en práctica:

1. Optimizar el medio ambiente al destete (social, térmica e higiénicamente).
2. Reducir el impacto del destete sobre el medio ambiente intestinal, optimizando el alimento (composición, forma o aditivos).
3. Manipulando el desarrollo y estabilidad de la microbiota intestinal (probióticos, prebióticos).¹⁰¹

Haciendo hincapié en el aspecto de manipulación y estabilidad de la microbiota intestinal, la administración de aditivos microbiológicos constituidos por cepas de

Lactobacillus spp. y *E. faecium* tras el destete, cuando la flora intestinal es poco estable, pueden reestablecer el equilibrio de la microflora del TGI, disminuyendo la presencia de diarreas en los lechones, sin embargo, cuando se administran los agentes probióticos como tratamiento a una diarrea, se llega demasiado tarde, porque la flora normal ya se ha reemplazado y se ha desarrollado la enfermedad, es decir, la inhibición es un efecto positivo, pero sirve cuando se aplica como preventivo, no para tratar una diarrea establecida.¹⁰²

2.8. Justificación.

El uso de *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* en productos microbianos para la alimentación directa de cerdos recién destetados, esta dirigido a mantener el intestino saludable reestableciendo la flora intestinal alterada por situaciones de estrés, disminuyendo el número de diarreas, promoviendo y mejorando el consumo voluntario del alimento, reflejándose en la eficiencia productiva al mejorar la ganancia de peso y conversión alimenticia, sin embargo los resultados experimentales de su uso no han sido contundentes, autores como: Danielson *et al.*,¹⁰³ Apgar *et al.*,¹⁰⁴ Risley *et al.*,¹⁰⁵ Varley,¹⁰⁶ Phelps,¹⁰⁷ han documentado resultados en los que han mostrado poco o ningún efecto, sin embargo autores como: Hillman,¹⁰⁸ Tortuero *et al.*,¹⁰⁹ Fox,⁸ Easter,⁹⁸ Collington,¹¹⁰ Rosell,¹¹ Pollmann *et al.*,⁵¹ Riopérez y Rodríguez⁹⁶ mencionan un aumento en los parámetros productivos de los cerdos, lo que demuestra una actividad poco consistente, de tal forma que el mismo producto puede producir resultados variables,^{22,103} por lo que surge la necesidad de mayor investigación.

3. HIPÓTESIS

- La aplicación de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*[†] incrementa la ganancia de peso promedio, consumo promedio de alimento, conversión y eficiencia alimenticia en lechones destetados.
- La aplicación de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*[†] disminuye la presencia de diarreas en lechones destetados.

4. OBJETIVOS

- Evaluar si la aplicación de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*[†] mejora la ganancia de peso promedio, consumo promedio de alimento, conversión y eficiencia alimenticia en lechones destetados.
- Evaluar si la aplicación de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*[†] disminuye la presencia de diarreas en lechones destetados.

[†] Probios® de Chr. Hansen Inc. Milwaukee, Wisconsin EUA, producto comercial, importado por synBios SA de CV. Querétaro Qro. México.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Ubicación y Características Geográficas.

La fase experimental se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) (*Imagen 6*), ubicado en el Km. 2 de la carretera Jilotepec-Corrales en Jilotepec, Edo. de México a 99° 31' 45" de longitud oeste del Meridiano de Greenwich, su latitud norte es de 19° 57' 13", a una altura de 2,250 m. sobre el nivel del mar, con clima templado en verano y extremo en invierno, la temperatura media es 18° C y varía entre los 12° C y 24° C, el régimen de lluvias comprende de junio a septiembre y el promedio de precipitación pluvial es de 608 mm., iniciando las primeras heladas en octubre y prolongándose hasta marzo,¹¹¹ el clima según Köppen modificado por García, corresponde a Ci(wi)(w)b(i)g.¹¹²

5.2. Plan Experimental

Se utilizaron 120 lechones neonatos híbridos (Yorkshire-Landrace), distribuidos aleatoriamente a 4 tratamientos al momento del destete (21 días) sin importar el peso ni el sexo.

La evaluación de las variables de respuesta de los efectos del producto se realizaron únicamente en el período denominado destete, que consta de los 21 a los 42 días de edad, momento en el que son trasladados a la siguiente etapa de producción.

Los tratamientos evaluados son:

T1 (con-con): Administración del probiótico[‡] a las 24 horas de nacidos, a los 10 días y al destete.

T2 (con-sin): Administración del probiótico a las 24 horas de nacidos y a los 10 días de vida.

T3 (sin-con): Administración del probiótico al destete.

T4 (sin-sin): Sin administración del probiótico.

[‡] Características del probiótico: Probios® es un producto microbiano para la alimentación directa de los cerdos, formulado por mililitro de producto con *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* en una mezcla de no menos de 5 millones de unidades formadoras de colonias (UFC), presentado en suspensión oral con dosificador de 2ml por aplicación.

El destete se llevó a cabo a los 21 días por lo que con base en la etapa de producción los tratamientos quedaron así:

- T1** Con probiótico en lactancia, con probiótico en destete.
- T2** Con probiótico en lactancia, sin probiótico en destete.
- T3** Sin probiótico en lactancia, con probiótico en destete.
- T4** Sin probiótico en lactancia, sin probiótico en destete.

(Grafica 3).

La administración del probiótico fue una sola aplicación por vía oral (con dosificador) a las 24 horas de nacidos, 10 días y/o al destete según el tratamiento y la dosis fue de 2ml en todos los casos.

5.3. Instalaciones

La unidad experimental (UE) corresponde a la corraleta donde se alojaron 5 lechones (*Imagen 7*), con un total de 6 repeticiones por tratamiento con las siguientes características: dimensión 1.5 m. por 1.5 m. con piso de rejilla metálica, provistas con comederos lineales de acero tipo tolva con 6 bocas y bebederos automáticos tipo chupón, la ración se ofreció poco y frecuente y el agua de bebida a libre acceso.

Para el control de la temperatura se utilizaron calentadores de gas tipo campana y una cortina de lona para regular la ventilación (*Imagen 8*).

5.4. Manejo

La identificación de los animales se llevó a cabo mediante muesqueo en las orejas previamente codificado, indicando la semana del año en que nacieron y el número de camada, se efectuó una adecuada asistencia veterinaria con el plan de vacunación y prácticas de manejo acostumbradas por el CEIEPP.

La composición de la ración base que se ofreció cumplió con los requerimientos del NRC para cerdos destetados (20% PC y 3.2 Mcal. de EM/KgMS),¹¹³ ofrecida en forma de harina (*Cuadro 11*).

El peso vivo de los animales fue medido y registrado individualmente durante el destete (21 días) y al final del estudio (42 días), utilizando una balanza de reloj con capacidad de 20Kg., con una apreciación de 100g.

El alimento fue pesado y ofrecido cuatro veces al día y la determinación del consumo se realizó mediante la diferencia entre el peso del alimento suministrado y el peso del residuo.

5.5. Plan de Análisis

Para cada tratamiento en estudio se obtuvo la estadística descriptiva de media, desviación estándar, valores máximos y mínimos, los cuales se graficaron con la media y desviación estándar.

Con la unidad de análisis se tienen cuatro variables respuesta:

1. Ganancia de peso final de la UE (peso final – peso inicial) (Kg.).
2. Consumo promedio de alimento de la UE (Kg. de alimento consumido / No. de días de estudio).
3. Conversión alimenticia de la UE (Kg. alimento consumido / Kg. de peso ganado).
4. Eficiencia Alimenticia de la UE (Kg. de peso ganado / Kg. de alimento consumido).

5.6. Diseño Experimental

Los cuatro tratamientos, correspondieron a las combinaciones de los factores:

1. **Factor A:** Lactancia, Con probiótico y Sin probiótico.
2. **Factor B:** Destete, Con probiótico y Sin probiótico.

Lo que generó un arreglo factorial 2X2 con seis repeticiones de cada combinación de los dos factores.

Cabe señalar que la unidad experimental es la misma que la unidad de observación: la corraleta con 5 lechones y se considerara como covariable al peso del lechón al iniciar el estudio.

El modelo experimental correspondió a una estructura factorial con una covariable en el diseño, denominado completamente aleatorizado,¹¹⁴ con seis repeticiones por tratamiento.

5.7. Modelo Estadístico

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma (X_{ijk} - \bar{X}...) + \varepsilon_{ijk}$$

$$1 \leq i \leq 2 \quad 1 \leq j \leq 2 \quad 1 \leq k \leq 6.$$

Donde:

μ = Efecto de la media general, valor desconocido.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A, $1 \leq i \leq 2$, valor desconocido.

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B, $1 \leq j \leq 2$, valor desconocido.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto del término de interacción del i-ésimo nivel del factor A y j-ésimo nivel del factor B, valor desconocido.

γ = Efecto de la covariable X, peso inicial, valor desconocido.

X_{ijk} = Valor de la covariable, peso inicial de la k-ésima camada que recibió el i-ésimo nivel del factor A, y el j-ésimo nivel del factor B. $1 \leq i \leq 2$, $1 \leq j \leq 2$ y $1 \leq k \leq 6$.

$\bar{X}...$ = Valor promedio total de la covariable X.

ε_{ijk} = Error experimental variable aleatoria tal que tiene media cero, varianza igual a σ^2 y no correlacionado.

y_{ijk} = Valor de la variable respuesta ganancia de peso, correspondiente a la k-ésima repetición del i-ésimo nivel del factor A y el j-ésimo nivel del factor B. Variable aleatoria, tal que tiene media $\mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \gamma (X_{ijk} - \bar{X}...)$, varianza σ^2 y no correlacionados. $1 \leq i \leq 2$, $1 \leq j \leq 2$ y $1 \leq k \leq 6$.

Para medir la incidencia de diarreas de los lechones se utilizó la prueba de independencia entre los factores A y B, mediante la prueba de Jí – cuadrada, de Pearson.¹¹⁴

6. RESULTADOS

Para las variables ganancia de peso (*Cuadro 12*), eficiencia alimenticia (*Cuadro 13*), conversión alimenticia (*Cuadro 14*), consumo de alimento promedio (*Grafica 4*) y consumo diario de alimento (*Grafica 5*), no se observó diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre los cuatro tratamientos al adicionar por vía oral *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* (mezcla de 5×10^6 ufc/ml).

Para la presencia de diarreas (*Grafica 6*) el uso de *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* (mezcla de 5×10^6 ufc/ml) por vía oral disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la cantidad de diarreas en los grupos tratados con el probiótico (*Cuadro 15*), además de acortar el tiempo de duración de las mismas (*Grafica 7*).

7. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los conseguidos por Pollmann *et al.* (1980), que llevó a cabo un estudio por 30 días con 192 lechones destetados a los que se les suplementó *L. acidophilus* y *E. faecium*, sin encontrar diferencias significativas, sin embargo menciona una tendencia en la mejora de la ganancia de peso de 4.5% y 7.2% en la eficiencia alimenticia en los grupos tratados con el probiótico,⁵¹ Valencia (1990) que evaluó la administración de *L. acidophilus* en 90 cerdos destetados de 10 a 20 Kg. de peso durante 28 días, encontrando diferencias de 13.75% en la ganancia de peso, 5.76% en la eficiencia alimenticia y 5.5% en la conversión alimenticia a favor de los grupos tratados,¹¹⁵ Hale y Newton (1979) que utilizaron *L. acidophilus* en lechones destetados a las 4 y 5 semanas de edad con 7.94 Kg. de peso promedio, en diferentes concentraciones, los resultados no fueron estadísticamente significativos, sin embargo los tratamientos que recibieron mayor cantidad del probiótico requirieron 10% menos alimento por unidad de peso ganado que los tratamientos que no recibieron el probiótico,¹¹⁶ Pollman, Danielson y Poe (1980) que utilizaron 72 lechones de 6 Kg. para estudiar el efecto de *L. acidophilus* (2x10 células vivas por ml.) durante 14 días, sobre la ganancia de peso y conversión alimenticia, el grupo tratado mejoró la ganancia diaria en 11% y la conversión alimenticia en 1.5% no siendo estadísticamente significativo¹¹⁷ y Lessard and Brisson (1990) que utilizaron 48 lechones destetados a las 4 y 5 semanas de edad, para determinar el efecto de *L. acidophilus* en la ganancia de peso y consumo de alimento, usando dos grupos, uno control y otro adicionado con el probiótico (1% en el alimento), el grupo tratado consumió 8.9% más alimento y crecieron 9% más rápido que los controles¹¹⁸ a diferencia de esta investigación que no encontró diferencias estadísticas.

Otros autores como Varley (1987) mencionan que al administrárseles *L. acidophilus* y *E. faecium* a 88 cerdos a los 4, 7, 14 y 21 días de edad por vía oral, no se encontraron diferencias significativas en las variables de producción en los grupos tratados, pero si en cuanto a la necesidad del uso clínico de antibióticos¹⁰⁶ y Phelps (1987) que solo reportó un aumento de 6.3% en el incremento de la sobrevivencia de lechones que recibieron un probiótico a base de *L. acidophilus* sin mencionar diferencias significativas en las variables de producción.¹⁰⁷

Por su parte Easter (1997) realizó dos experimentos con *L. acidophilus* y *E. faecium* adicionados a la dieta de lechones destetados, en el primer experimento notó una mejora significativa en la ganancia de peso y conversión alimenticia en

los grupos tratados, pero en el segundo solamente *L. acidophilus* fue detectado como responsable,⁹⁸ estos resultados difieren de los obtenidos en la presente investigación.

Ahora bien, autores como Nousiainen y Setälä (1993); Stavric y Kornegay (1995), mencionan resultados inconsistentes en el uso de probióticos en cerdos destetados donde en promedio sólo 40% de los estudios muestran una respuesta positiva significativa,¹¹⁹ sin embargo, después de estudios clínicos Cromwell (2001), menciona que las respuestas son más consistentes bajo condiciones de producción comercial y/o en granjas mal manejadas con deficientes medidas sanitarias porque el estrés y las enfermedades son más elevadas, permitiendo una distinción de los efectos profilácticos de los probióticos,⁴⁹ Cuarón (2004), también menciona una tendencia inconsistente en los resultados justificando que aún en condiciones de campo y en presencia de enfermedades la respuesta del animal no se podría notar debido a la gran variabilidad,⁵³ entonces, necesita reconocerse que la mayor parte de las investigaciones están limitadas, en el sentido de que diversos factores se deben controlar para asegurar una correcta evaluación de la efectividad del probiótico, como:

a) La alta variación "normal" en la microflora normal y respuesta de los cerdos al momento del destete, Martínez *et al.* (2002), encontraron que cada individuo tiene una comunidad bacteriana específica, pero en todos están presentes algunas especies bacterianas dominantes.

b) La composición de la dieta, prácticas de alimentación y el manejo que altere la población residente como los antibióticos aplicados en el momento del destete, Charteris *et al.* (1999), investigó la susceptibilidad de 46 *Lactobacillus spp.* a 44 agentes antibióticos, los resultados indicaron que los 46 tipos de *Lactobacillus spp.* eran susceptibles a las tetraciclinas esto coincide con las investigaciones de Kung.⁵²

c) La inmunidad pasiva que se pierde después del destete y la inmunidad activa que se puede retardar por estrés o enfermedades.

d) En teoría, los microorganismos se deben establecer en el intestino antes de actuar, esto requiere tiempo, lo cual, en la mayoría de los casos, es casi igual a la duración de los experimentos con los cerdos.⁵³

Hillman (1999), menciona que la aplicación de los probióticos produce resultados inconsistentes debido a varias razones de origen bacteriológico como:

a) El origen de las bacterias, las bacterias utilizadas aunque taxonómicamente sean las mismas pueden no estar especializadas para el medio o la función deseada, por ejemplo, *L. acidophilus*, se puede aislar en muchas fuentes como ensilados, productos lácteos, rumen, TGI del cerdo, y aunque la clasificación taxonómica sería la misma en las cuatro fuentes, solo las bacterias aisladas del intestino del cerdo tendría por ejemplo tolerancia a los ácidos biliares, en otros

ambientes las bacterias no tendrían ninguna necesidad de desarrollar esta cualidad, sin embargo el aislamiento de *L. acidophilus* en el intestino del cerdo no significa que cualquier bacteria aislada de esta especie sea capaz de colonizar el intestino de este, sólo la cantidad de las especies que se adaptan a la vida en el intestino, puede asegurar la actividad en ese ambiente.¹²⁰

b) La edad de las bacterias, o con más precisión, el número de generaciones bacterianas entre el aislamiento y la aplicación; las bacterias se reproducen rápidamente y también se adaptan rápidamente al medio en el que se encuentran, por ejemplo, *Lactobacillus spp.* aislado del TGI del cerdo podría inhibir bacterias coliformes pero solo por algún tiempo o en un primer aislamiento, porque podría ser que con el tiempo pierda esa característica. Dentro de la microflora del TGI las bacterias están en constante competencia por los nutrientes con otras especies microbianas, al resistir o crear compuestos inhibitorios les confiere una ventaja de supervivencia, sin embargo cuando son aisladas en medios nutritivos, la producción de sustancias inhibitorias contra un competidor ausente representa un gasto innecesario para la célula bacteriana, como resultado, si algunas células dejan de producir sustancias inhibitorias crecerán un poco más rápido, aumentando la población de células que no producen sustancias inhibitorias, ocasionando que las siguientes generaciones no puedan inhibir bacterias coliformes.¹²⁰

c) La estabilidad de la fermentación del TGI, al aplicar el probiótico, la suma de números grandes de una sola especie puede producir una población que no puede mantenerse con los nutrientes disponibles.

d) Las bacterias del probiótico están sujetas al rechazo por la microflora del TGI residente usando el mismo mecanismo que aplica a bacterias patógenas.

e) La variación de la eficacia de los probióticos puede atribuirse a la diferencia de las poblaciones microbianas entre los animales objetivos, estas poblaciones dependen de muchos factores como la fisiología intestinal y dieta del animal.

f) Como se ha indicado, los probióticos son de especies bacterianas que ya están presentes en el TGI del cerdo, entonces la función de la "nueva bacteria" es inhibir patógenos y reemplazar parcialmente a las "bacterias viejas" que no logran inhibir a los patógenos, sin embargo, si las "bacterias nuevas" son de una especie que se encuentra en cantidades pobres dentro de la microflora normal, entonces tendrá poco alcance y actividad por la limitación propia de ese ambiente.

g) La eficacia de los probióticos como promotores de crecimiento dependen de las condiciones que prevalecen en el TGI, que a su vez dependen de la fisiología intestinal, el alimento y la población microbiana que se encuentre en ese momento, se puede mejorar la eficacia de los preparados probióticos previniendo una dieta o sustancias que favorezcan la actividad de los microorganismos.¹²⁰

Para la presencia de diarreas (*Grafica 6*) el uso del probiótico disminuyó significativamente (*Cuadro 15*) la cantidad de diarreas en los grupos tratados con el probiótico, además de acortar el tiempo de duración de las mismas (*Grafica 7*), estos resultados concuerdan con Riopérez y Rodríguez (2001), que en experimentos realizados con lechones de 4-5 semanas de edad indican que la administración de un aditivo oral en el alimento, constituido con cepas de *L. acidophilus* y *E. faecium* reducen significativamente ($P < 0,01$) la concentración de bacterias coliformes en ileon y ciego, provocando un aumento de lactobacilos en todo el tramo intestinal, evitando las diarreas colibacilares post-destete, al mejorar sensiblemente la relación lactobacilos/*E. coli*⁹⁹ y Hillman *et al.* (1995), Hampson *et al.* (2001) que coinciden en la reducción de coliformes del tracto intestinal con ciertos probióticos a base de *Lactobacillus spp.* disminuyendo la presencia de diarreas en los lechones recién destetados.^{75,94}

Además otros autores como Jasek (1992), informan que los *Lactobacillus spp.* adicionados en el alimento de los cerdos destetados, mejoran el crecimiento, reduciendo la incidencia de *E. coli* en el excremento, acortando los costos en un 17% al mejorar la salud y disminuir la presencia de diarreas en los lechones destetados,¹²¹ resultado que concuerda con el presente estudio y Fedorka-Cray *et al.* (1999) que menciona que el uso de *Lactobacillus spp.* mejorara el estado del TGI y la respuesta inmune, compitiendo y excluyendo bacterias patógenas como *E. Coli*, *S. choleraesuis*, reduciendo la mortalidad y diarreas en lechones destetados precozmente.¹²²

Es necesario señalar que debido a la aceptación universal del efecto de exclusión competitiva, este estudio es un intento para influir en la colonización del tracto intestinal de los lechones, modificándolo positivamente mejorando las variables de producción y disminuyendo la presencia de diarreas, por consiguiente, compromete al probiótico sobre los resultados, sin embargo no se hacen observaciones sobre los posibles cambios en la ecología intestinal, al no incluir estudios de microbiología describiendo las especies presentes en el intestino y un análisis dinámico de estas poblaciones e interacción con el hospedador para entender completamente los efectos de la microbiota y por lo tanto del probiótico, sin embargo en base a la hipótesis planteada la respuesta del probiótico sobre las variables de producción son negativas o no mostraron efecto ($p > 0,05$) a diferencia de los resultados obtenidos para la presencia de diarreas, que son significativos ($p < 0,05$), por lo tanto diversas conjeturas derivaron de esto: si la naturaleza crónica de diferentes fuentes de estrés y retos inmunes repetidos dieron origen a beneficios en la respuesta del lechón proporcionales a la frecuencia de desafíos de salud (sin deducir que el probiótico puede prevenir la enfermedad, pero que si puede mejorar la respuesta del animal en capacidad de recuperación), disminuyendo la cantidad de diarreas presentadas, así como la duración de las mismas, por lo tanto se concluye que hubo una correlación entre los posibles cambios impalpables en la microbiota y los efectos del probiótico sobre la disminución en la frecuencia de diarreas en los animales tratados.

Hale y Newton (1979), mencionan que el peso inicial tiene un gran efecto en la ganancia de peso y conversión alimenticia,¹¹⁶ hecho que en el presente trabajo pudo resultar significativo, sin embargo la unidad experimental que presento el menor peso inicial no fue la que mostró la menor ganancia de peso, además el diseño experimental consideraba como covariable al peso del lechón al iniciar el estudio, de manera que estadísticamente este efecto fue removido, si bien es cierto que al distribuir aleatoriamente a los lechones, las unidades experimentales mostraban una gran variación en el peso (*Imagen 9*), situación que pudo aumentar las condiciones de estrés de algunos lechones que no pudieron expresar todo su potencial productivo, quedando rezagados, también es cierto que este factor afectó a todas las unidades experimentales por lo que se considera que esta variable no pudo afectar los resultados, cabe mencionar que durante el tratamiento no se presentó mortalidad ni la necesidad de medicar a algún lechón enfermo.

8. CONCLUSIÓN

En base a la anterior se concluye:

Que el uso del probiótico compuesto por *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* (mezcla de 5×10^6 ufc/ml), aún no puede garantizar mejoras en las variables de producción en lechones destetados.

El uso del probiótico compuesto por *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* (mezcla de 5×10^6 ufc/ml), es útil como medida preventiva para el control de las diarreas, si esta prevención falla, el uso del probiótico reduce el tiempo de recuperación.

Podría ser una alternativa para sustituir el vacío que deja la prohibición del uso de antibióticos como promotores de crecimiento, sin embargo se necesita mayor investigación no solo en los efectos directos sobre las variables de producción, sino sobre los mecanismos de acción y como controlarlos de manera que logren sus objetivos.

CUADROS

Cuadro 1. Estimación de la Balanza de carne de porcino en México del 2004.

	<i>Toneladas</i>
Inventario Inicial	91,300
Producción nacional	1, 068,800
Importaciones	530,000
Exportaciones	25,000
Inventario Final	90,000
Balanza	1, 575,100

Fuente: Coordinación general de Ganadería / SAGARPA.¹

Cuadro 2. Categorías de aditivos para la alimentación animal.

1. La categoría de los «aditivos tecnológicos» incluye los siguientes grupos funcionales:

- a) conservantes.
- b) antioxidantes.
- c) emulgentes.
- d) estabilizantes.
- e) espesantes.
- f) gelificantes.
- g) ligantes.
- h) sustancias para el control de la contaminación por radionucleidos.
- i) antiaglomerantes.
- j) reguladores de la acidez.
- k) aditivos para ensilaje.
- l) desnaturalizantes.

2. La categoría de los «aditivos organolépticos» incluye los siguientes grupos funcionales:

- a) colorantes.
- b) aromatizantes.

3. La categoría de los «aditivos nutricionales» incluye los siguientes grupos funcionales:

- a) vitaminas, provitaminas.
- b) oligoelementos.
- c) aminoácidos.
- d) urea.

4. La categoría de los «aditivos zootécnicos» incluye los siguientes grupos funcionales:

- a) digestivos.
- b) estabilizadores de la flora intestinal: microorganismos u otras sustancias definidas químicamente que, suministradas a los animales, tienen un efecto positivo para la microflora.
- c) sustancias que influyen positivamente en el medio ambiente.
- d) otros aditivos zootécnicos.

Fuente: Diario Oficial de la Unión Europea. Septiembre del 2003.¹⁴

Cuadro 3. Microorganismos que comúnmente se utilizan como probióticos, catalogados como GRAS por la AAFCO.

<i>Aspergillus niger</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Bacillus lentus</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Bacteroides amylophilus</i>	<i>Lactobacillus cellobiosus</i>
<i>Bacteroides capillosus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Bacteroides ruminicola</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Bacteroides suis</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i> (<i>damnosus</i>)
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Propionibacterium</i> <i>freudenreichii</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Propionibacterium shermanii</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Enterococcus cremoris</i>
<i>Bifidobacterium thermophilum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Enterococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Enterococcus diacetilactis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Enterococcus intermedius</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Enterococcus lactis</i>

Fuente: Association of American Feed Control Officials 1999.⁴⁸

Cuadro 4. Requisitos para los productos microbianos según Fox, Gadd y Lyons.

No ser destruido por los jugos gástricos.

No debilitarse por peletizado, molido o humedecido, y llegar al sitio de acción en los números requeridos.

Tener una mezcla adecuada de bacterias que trabajen en diferentes partes del TGI.

Las bacterias elegidas deben ser consistentes en sus efectos.

No estar contaminado con otro tipo de bacterias.

Ser gram-positivas, por ser más resistentes a la destrucción de las enzimas digestivas.

Ser buenas productoras de ácido láctico.

Tener una alta capacidad de adhesión y colonización.

Tener sustancias inhibitorias.

Ser tolerantes a la bilis.

Permanecer estables en almacenamiento antes de ser usadas.

Una vez ingerida la bacteria debe ser rápidamente activada y tener una alta tasa de crecimiento.

Deben tener una vida activa prolongada.

Deben estar presentes en números suficientes (alto contenido de bacterias viables por gramo de producto).

Fuente: Fox⁸, Gadd¹²³, Lyons¹²⁴.

Cuadro 5. Mecanismos de acción de los probióticos.

Producción de compuestos antibacteriales (ácidos, bacteriocinas y antibióticos).

Competencia con organismos indeseables por el espacio (colonización) y/o nutrientes (exclusión competitiva).

Producción de nutrientes (aminoácidos y/o vitaminas) que estimulan el crecimiento de otros microorganismos en el tracto digestivo.

Producción y/o estimulación de enzimas.

Metabolización y/o detoxificación de compuestos indeseables.

Estimulación de la respuesta inmune en animal hospedero.

Producción de nutrientes (aminoácidos y/o vitaminas) que estimulan el crecimiento del animal hospedador.

Fuente: Fuller R. citado por Kung L.¹²⁵

Cuadro 6. Niveles típicos de acidez en el tracto digestivo de lechones de 3 a 15 Kg. de peso vivo.

Regiones	Rangos de pH
Estómago y Duodeno	2.0 - 5.0
Intestino Delgado	4.0 - 6.0
Ciego	5.5 - 6.5
Ileon	6.5 - 7.5
Colon	6.5 - 7.0

Fuente: Gadd y Smith citados por Arias.¹²⁶

Cuadro 7. Niveles óptimos de pH en el tracto digestivo de los lechones para el crecimiento de los microorganismos patógenos más comunes.

Patógeno	Mínimo	Óptimo	Máximo
<i>Clostridium perfringens</i>	4.3 - 4.4	6.0 - 7.6	8.5
<i>E. coli</i>	4.4 - 5.6	6.0 - 8.0	9.0 - 10.0
<i>Pseudomonas spp.</i>	4.0 - 5.0	6.0 - 7.0	8.0 - 9.0
<i>Salmonela spp.</i>	4.0 - 5.0	6.0 - 7.5	9
<i>Streptococcus spp.</i>	4.5	6.8 - 7.5	9
Levaduras	1.5 - 3.5	4.5 - 6.8	8.0 - 10.0
Hongos	1.5 - 3.5	4.5 - 6.8	8.0 - 10.0
<i>Aspergillus spp.</i>		3.0 - 6.8	
<i>Clostridium spp.</i>		6.0 - 7.5	

Fuente: Gadd y Smith citados por Arias.¹²⁶

Cuadro 8. Factores activos o potencialmente activos en la composición de la microbiota intestinal.

	Factores Producidos por:	
	Animal Hospedero	Microbiota
Competencia por nutrientes	+	+
pH	+	+
Ácidos biliares	+	
Temperatura	-	-
Perístasis	+	
Renovación de células epiteliales	+	
Anticuerpos	+	
Células fagocíticas	+	
Mucina	+	
Lisozima	+	
Lisalecitina	+	
Ácidos grasos de cadena larga	+	
Ácidos grasos volátiles		+
Concentración de oxígeno		+
Ácido sulfhídrico		+
Bacteriocinas		
Bacteriófagos		+

Fuente: Fuller, citado por Woolcock.¹²⁷

Cuadro 9. Bacterias predominantes, aisladas de distintas regiones del tracto gastrointestinal de cerdos recién destetados.

Número de muestras	Total	Ileon	Ciego	Colon
Bacterias aisladas (%)	1679	579	529	571
Enterobacterias	24.5 (2)	53.4 (2)	10.4 (2)	5.8 (2)
Streptococcus	22.8 (2)	32.2 (2)	18.8 (2)	16.8 (2)
Bacteroides	17.7 (9)	0.7 (3)	30.7 (10)	23.5 (13)
Eubacterias	6.3 (20)	0.7 (3)	8.5 (10)	10.3 (12)
Lactobacillus	5.9 (8)	3.4 (7)	5.6 (4)	8.9 (6)
Peptostreptococcus	5.1 (15)	0.5 (1)	3.2 (5)	11.9 (10)
Fusobacterias	4.6 (18)	0.2 (1)	9.0 (13)	5.1 (11)
Selenomonas	3.3 (5)	1.2 (1)	5.9 (4)	3.0 (3)
Ruminococcus	1.8 (1)	0.0 (0)	3.4 (1)	2.2 (1)
Clostridios	1.5 (3)	2.7 (1)	1.5 (2)	0.3 (3)
Scarcina	1.3 (5)	3.1 (2)	0.2 (1)	0.4 (2)
Megasphaera	1.0 (1)	0.0 (0)	0.5 (1)	2.5 (1)
Butyrivibrios	0.8 (4)	0.0 (0)	1.3 (2)	1.1 (3)
Propionibacterias	0.4 (1)	0.0 (0)	0.9 (1)	0.4 (1)
Bifidobacterias	0.2 (1)	0.5 (1)	0.0 (0)	0.0 (0)
Veillonellae	0.1 (1)	0.0 (0)	0.2 (1)	0.0 (0)
No caracterizadas	0.5 (7)	0.2 (1)	0.4 (2)	1.1 (4)
Número de especies	113	25	61	75

Entre paréntesis se muestra el número de géneros.

Fuente: Jensen (1999).⁸⁸

Cuadro 10. Poblaciones microbianas de *Lactobacillus spp.* y total de anaerobios en lechones a diferente edad destetados a los 24 días.

Edad (días)	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>E. coli</i>	Total de Anaerobios
17	10.23	8.53	9.28
20	10.93	7.64	10.36
24	10.58	7.92	10.05
27	9.14	8.77	10.28
31	9.52	6.85	9.74
34	9.35	6.7	9.63
Error	0.56	0.45	0.46

Log₁₀ ufc por gramo de contenido intestinal.

Fuente: Franklin MA, Mathew AG, Vickers JR, Clift R.A.¹²⁶

Cuadro 11. Composición de la dieta de preiniciación para los lechones de las unidades experimentales.

Ingrediente	% de Inclusión
Sorgo	47.7
Pasta de soya	8
Suero de leche deshidratado	21.4
Pescado hidrolizado	5
Concentrado de soya	0.7
Plasma porcino	5
Grasa	7.4
Ortofosfato	1.18
Carbonato	0.9
Sal	0.38
Minerales	0.1
Vitaminas	0.27
Lisina	0.55
Metianina	0.29
Triptofano	0.49
Treonina	0.47
Colina	0.17
Total	100

Cuadro 12. Estadística descriptiva de la variable ganancia de peso de la unidad experimental.

Lactancia	Destete	N	Media (Kg)	Desviación Estándar
Con Probiótico	Con probiótico	6	20.2833	2.05953
	Sin probiótico	6	18.4167	2.12642
	Total	12	19.35	2.22118
Sin Probiótico	Con probiótico	6	20.0167	2.3413
	Sin Probiótico	6	18.75	3.05336
	Total	12	19.3833	2.67712
Total	Con probiótico	12	20.15	2.10692
	Sin probiótico	12	18.5833	2.51462
	Total	24	19.3667	2.40573

Destete	Media (Kg)	Error Estándar	95% Intervalo de Confidencia	
			Valor Mínimo	Valor Máximo
Con Probiótico	20.198 ^a	0.718	18.696	21.700
Sin probiótico	18.536 ^a	0.718	17.033	20.038

a. La covariable evaluada que aparece en el modelo tiene el valor siguiente: Peso Inicial = 33.367 Kg.

Cuadro 13. Estadística descriptiva de la variable eficiencia alimenticia de la unidad experimental.

Lactancia	Destete	N	Media (Kg)	Desviación Estándar
Con Probiótico	Con probiótico	6	.7500	.08579
	Sin probiótico	6	.6917	.14483
	Total	12	.7208	.11751
Sin Probiótico	Con probiótico	6	.7733	.09438
	Sin Probiótico	6	.7450	.16550
	Total	12	.7592	.12930
Total	Con probiótico	12	.7617	.08685
	Sin probiótico	12	.7183	.15087
	Total	24	.7400	.12240

Destete	Media (Kg)	Error Estándar	95% Intervalo de Confidencia	
			Valor Mínimo	Valor Máximo
Con Probiótico	.764 ^a	.038	.685	.843
Sin probiótico	.716 ^a	.038	.637	.795

a. La covariable evaluada que aparece en el modelo tiene el valor siguiente: Peso Inicial = 33.367 Kg.

Cuadro 14. Estadística descriptiva de la variable conversión alimenticia de la unidad experimental.

Lactancia	Destete	N	Media (Kg)	Desviación Estándar
Con Probiótico	Con probiótico	6	1.3450	.15604
	Sin probiótico	6	1.4933	.29636
	Total	12	1.4192	.23873
Sin Probiótico	Con probiótico	6	1.3100	.16649
	Sin Probiótico	6	1.4100	.36464
	Total	12	1.3600	.27525
Total	Con probiótico	12	1.3275	.15493
	Sin probiótico	12	1.4517	.31977
	Total	24	1.3896	.25378

Destete	Media (Kg)	Error Estándar	95% Intervalo de Confidencia	
			Valor Mínimo	Valor Máximo
Con Probiótico	1.323 ^a	.077	1.161	1.485
Sin probiótico	1.456 ^a	.077	1.294	1.618

a. La covariable evaluada que aparece en el modelo tiene el valor siguiente: Peso Inicial = 33.367 Kg.

Cuadro 15. Prueba de *ji cuadrada* de la presencia de diarreas de los cuatro tratamientos.

	T	O	E	O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Diarreas	T1	1	6.5	-5.5	30.25	4.65385
	T2	9	6.5	2.5	6.25	0.96154
	T3	4	6.5	-2.5	6.25	0.96154
	T4	12	6.5	5.5	30.25	4.65385
No Diarreas	T1	29	23.5	5.5	30.25	1.28723
	T2	21	23.5	-2.5	6.25	0.26596
	T3	26	23.5	2.5	6.25	0.26596
	T4	18	23.5	-5.5	30.25	1.28723
X² = 14.3372						

Donde:

T = Tratamientos.

O = Frecuencias observadas.

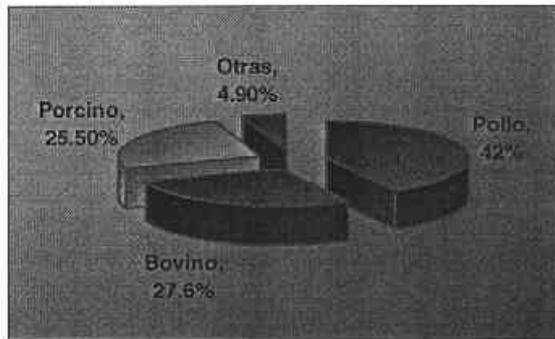
E = Frecuencias esperadas.

Valores de X^2 a los niveles de confianza de .05 = 7.815¹²⁹

Por lo que $X^2 = 14.3372 > 7.815$

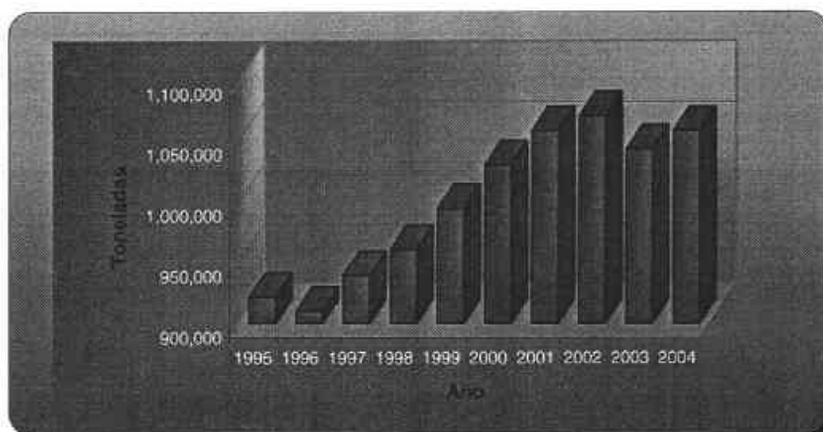
Resultado: el valor de X^2 es superior al nivel de confianza de .05 con tres grados de libertad, siendo significativa, rechazándose la hipótesis: las diarreas son independientes de los tratamientos, por tanto los tratamientos que recibieron el probiótico en el destete difieren en la cantidad de diarreas presentadas durante el estudio de los tratamientos que no lo recibieron, encontrando que hay relación entre la variable "probiótico" y la variable "diarreas" entendiéndose que las diarreas dependen del tratamiento.

GRAFICAS



Grafica 1. Conformación del Consumo Nacional Aparente de carnes en México 2003.

Fuente: Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera / SAGARPA.¹

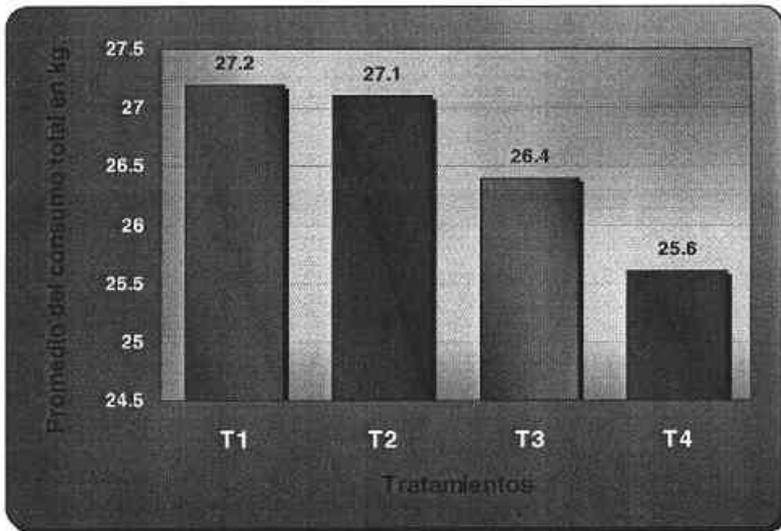


Grafica 2. Producción de carne de porcino en México.

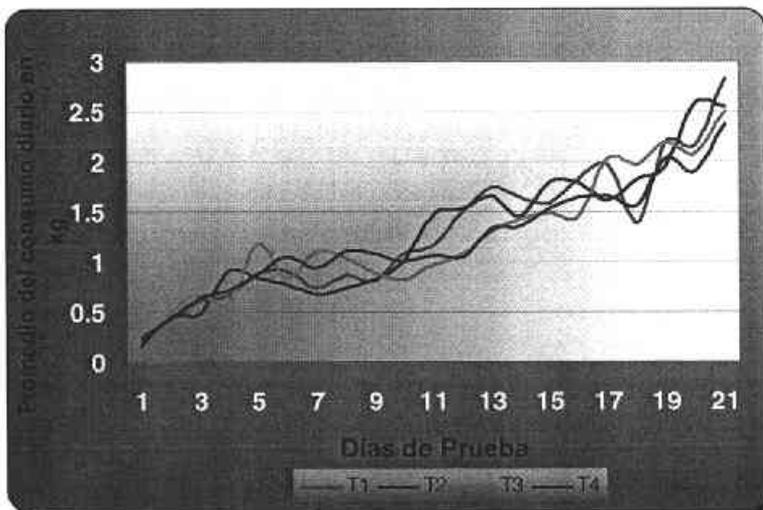
Fuente: Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera / SAGARPA.¹



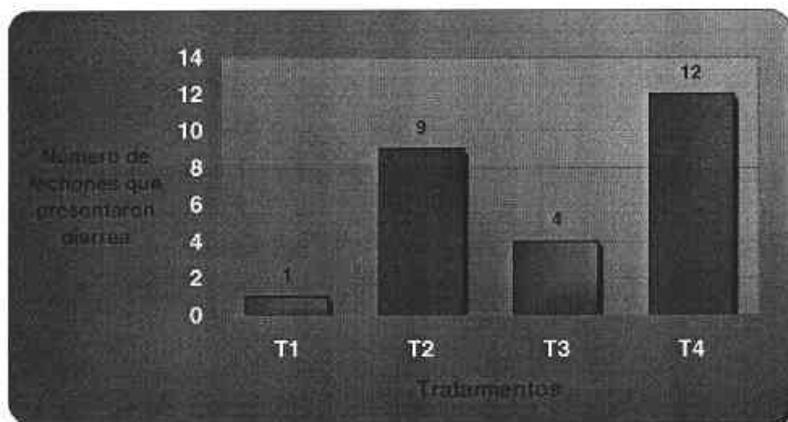
Grafica 3. Distribución de tratamientos experimentales.



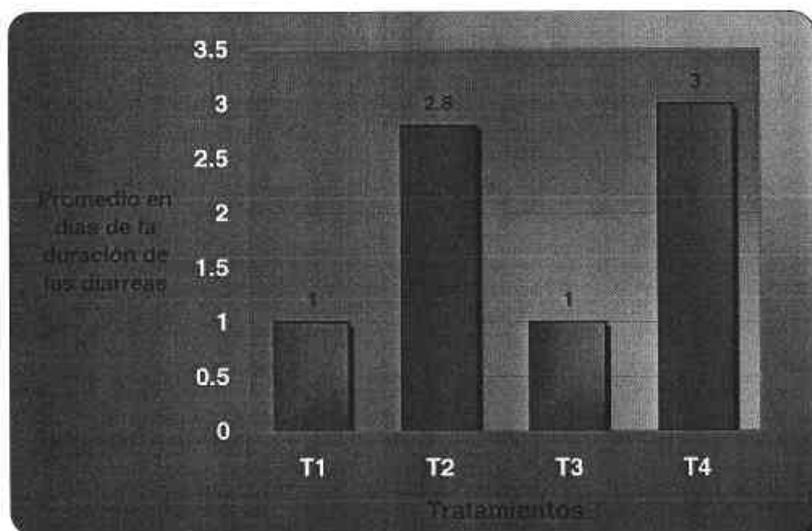
Grafica 4. Promedio del consumo total de alimento de la unidad experimental por tratamiento.



Grafica 5. Promedio del consumo diario de alimento de la unidad experimental por tratamiento.



Grafica 6. Número de lechones que presentaron diarrea por tratamiento.



Grafica 7. Promedio de los días de duración de las diarreas por tratamiento.

IMÁGENES

Imagen 1. Lechón con diarrea.



Imagen 2. Diarrea alcalina y acuosa (diarrea “secretora” por *E. coli*).

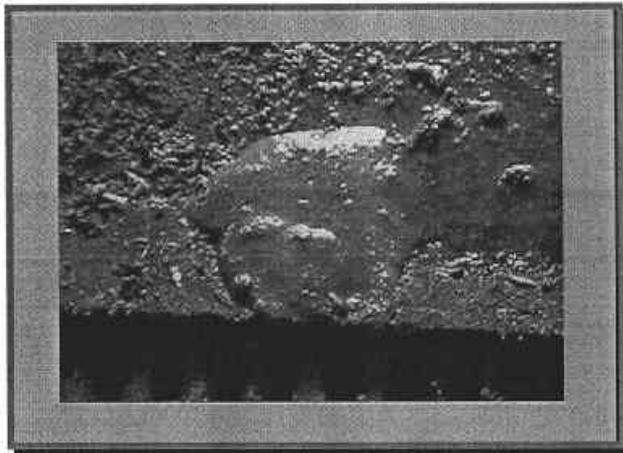


Imagen 3. Diarrea ácida y voluminosa (diarrea “osmótica” por rotavirus o *E. coli* enteropatógena).

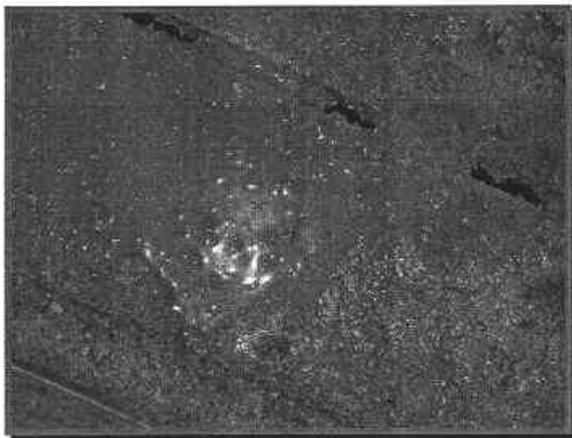


Imagen 4. Diarrea con mucus y sangre (disentería porcina).



Imagen 5. Diarrea oscura (tras una úlcera gástrica).

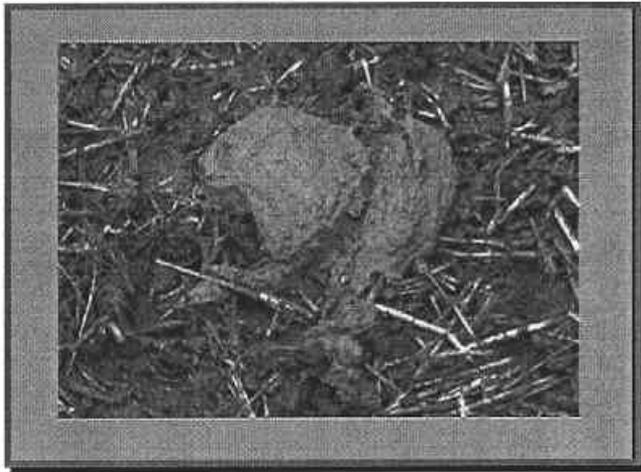


Imagen 6. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP).

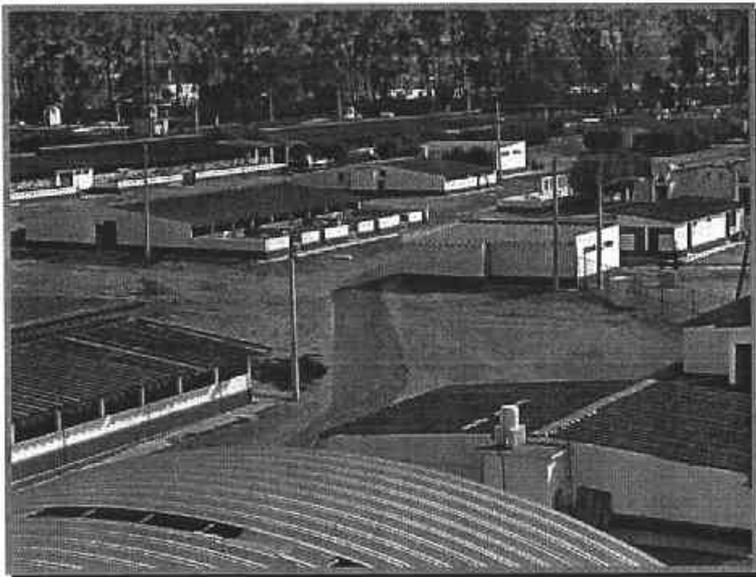


Imagen 7. Corraleta con cinco lechones como unidad experimental.

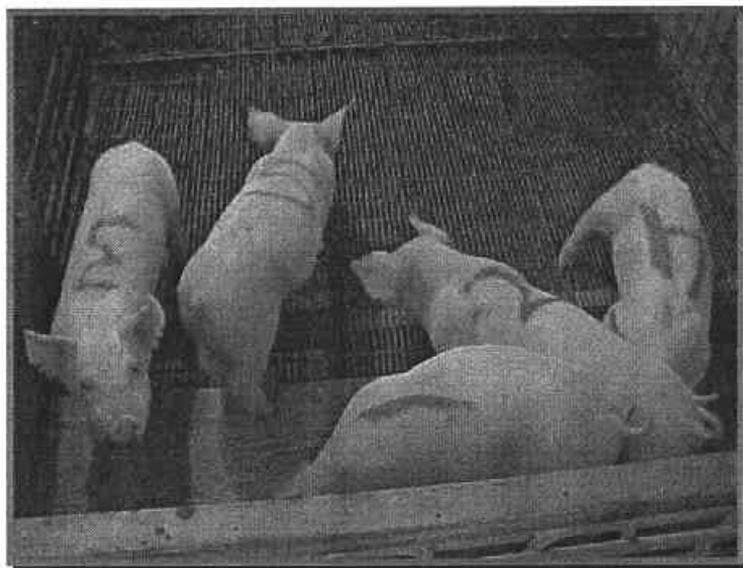


Imagen 8. Calentadores de gas tipo campana y cortina de lona para regular la temperatura y ventilación.

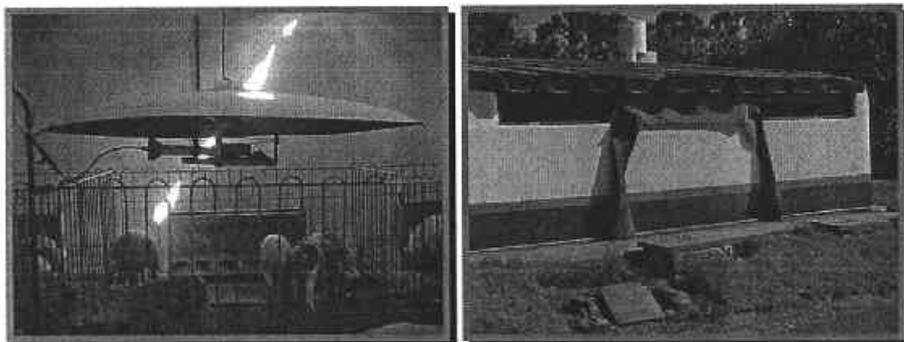
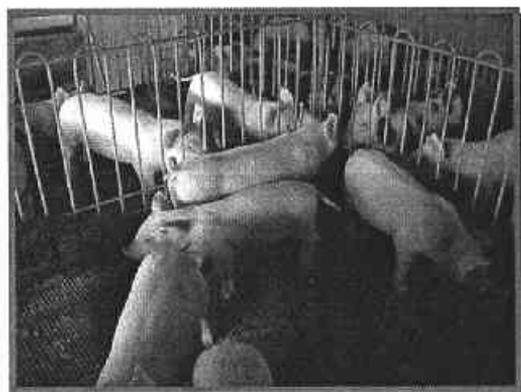


Imagen 9. Variación en el peso de los lechones de las unidades experimentales.



9. LITERATURA CITADA

-
- ¹ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Coordinación General de Ganadería. Producción Nacional Pecuaria 2004. Conjuntado por el Servicio Nacional de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg>.
- ² Pérez ER. Porcicultura intensiva y medio ambiente en México. Instituto de Investigaciones Económicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- ³ Molina JR. Utilización de la cerdaza en la alimentación animal. Una alternativa para disminuir la contaminación ambiental. Memorias del Segundo Seminario Manejo y Reciclaje de residuales Porcinos; 1997. (Querétaro) México.
- ⁴ Cuarón JI. Aspectos relevantes en la nutrición de los cerdos, Uso de aditivos en la alimentación de los cerdos. Memorias del Precongreso AMVEC EDO. DE MEX; 2003 noviembre 13; Toluca (Edo. de México) México. Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos, Estado de México, A.C. 2003: 1.
- ⁵ Fuentemayor GR, Leidenz NH, Rincón E, Wilhelm E, Suárez JA. Uso de antimicrobiales como promotores del crecimiento en cerdos. Departamento de Zootecnia. Facultad de Agronomía. Universidad de Venezuela. 1992, 9:259-270.
- ⁶ Sierra EVM. Utilización de Probióticos en Nutrición Porcina (tesis de licenciatura). Chapingo (Edo. de México) México: Universidad Autónoma de Chapingo, 1995.
- ⁷ Ávila GE. Aditivos en la alimentación animal. Memorias Reunión de Investigación Pecuaria en México; 1990; Villahermosa (Tabasco) México.
- ⁸ Fox SM. Probiotics: Intestinal inoculants for production Animals. Veterinary Medicine (Food - Animal Practice). 1988:806 – 830
- ⁹ Salminen S, Deighton M, Gorbach S. Lactic acid bacteria in health and disease, En: Lactic acid bacteria (Salminen S, von Wright, eds.), Marcel Decker, Inc. New York. 1993;199-225.
- ¹⁰ Nousiainen J, Setälä J. Lactic acid bacteria as animal probiotics, En: Lactic acid bacteria (Salminen S, von Wright, eds.), Marcel Decker, Inc. New York, Probiotics. 1993; 315-355.
- ¹¹ Rosell V. Acidification and probiotics in spanish pig and calf rearing. Biotechnology in the feed industry. Proceedings of All techs' fourth Annual Symposium; 1987 Nicholasville, USA, 1987:177-180.
- ¹² Dirección General de Medicamentos y Tecnologías para la Salud. Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios. Registro Sanitario y Publicidad de insumos para la salud clasificados como Alimentación Especializada. Ley General de Salud. México, Distrito Federal, Julio 8 de 2003.

-
- ¹³ Carroy MD, Ranilla MJ. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. León, Guanajuato, México. Publicado en Albéitar, Mayo 2002.
- ¹⁴ Diario Oficial de la Unión Europea. Reglamento (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2003 sobre los aditivos en la alimentación animal.
- ¹⁵ ABC de los aditivos. Ministerios de Sanidad y Consumo Instituto Nacional del Consumo 1ª Edición Madrid. 1989. www.fonendo.com
- ¹⁶ Caja G, González E, Flores C, Carroy MD, Albanell E. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. XIX Curso de Especialización FEDNA. Madrid. España, Octubre de 2003.
- ¹⁷ Allen H, Antimicrobial Feed Additives for Swine: Past, Present and Future Trends, Extension Animal Scientist Swine, Tidewater AREC and Mark E, Swine Research Physiologist, Tidewater AREC. Livestock Update, Virginia Cooperative Extension. EUA. 2004.
- ¹⁸ Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health* 1974;29:4-8.
- ¹⁹ Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. *Science* 1965;8:147.
- ²⁰ Sperti GS. Probiotics. West Point, CT: Avi Publishing Co, 1971.
- ²¹ Fuller R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 1989;66:365-378.
- ²² Havenaar R, Huis Isn't Veld M. JH. Probiotics: a general view. In: Wood, B.J.B. Lactic acid bacteria in health and disease. Amsterdam. Elsevier Applied Science, 1992:151-170.
- ²³ Salminen S. Uniqueness of probiotic strains. *IDF Nutr News Lett* 1996;5:16-8.
- ²⁴ Schaafsma G. State of art concerning probiotic strains in milk products. 1996;5:23-4.
- ²⁵ Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1999;38:13-126.
- ²⁶ Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Octubre 2001.
- ²⁷ Cromwell GL. Antimicrobial and promicrobial agents. *Swine Nutrition*, A. Lewis and L. Southern, ed. CRC Press, Boca Raton, FL.EUA. 2001;2:401.
- ²⁸ Freter R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller R, ed. Probiotics, the scientific basis. London: Chapman & Hall, 1992: 111-44.
- ²⁹ Van Eys J, Den Hartog. En: International One-Day Seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers. Lelystad 2003.
- ³⁰ Committee on Drug Use in Food Animals . Panel on Animal Health, Food Safety, and Public Health. The Use of Drugs in Food Animals: Benefits and Risks. National Research Council (Ed.). National Academy Press, Washington, USA.1999.
- ³¹ Schrezenmeir J, De Vrese M. Probiotics, prebiotics, and symbiotic—approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, © 2001 American Society for Clinical Nutrition. EU. 2001;73:361-364.

-
- ³² Bottazzi V. Food and feed production with microorganisms. *Biotechnology* 1983;5:315-63.
- ³³ Metchnikoff E. The prolongation of life. *Optimistic studies*. London: Butterworth-Heinemann, 1907.
- ³⁴ Tissier H. Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microbiota* 1984;3:11-28.
- ³⁵ Carre C. Ueber Antagonisten unter den Bacterien. (Antagonists among bacteria.) *Correspondenz-Blatt four Schweitzer Aerzte. Alemania*. 1887;17:385-92.
- ³⁶ Fuller R. History and Development of Probiotics. *Intestinal Microecology Consultant*.
- ³⁷ Nissle A. Ueber die Grundlagen einer neuen ursaechlichen Bekaempfung der pathologischen Darmflora. (Fundamentals of a new causal control of the pathologic intestinal flora.) *Deutsche Medizinische Wochenschrift. Alemania*. 1916;42:1181-4.
- ³⁸ Kopeloff N. *Lactobacillus acidophilus*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1926.
- ³⁹ Rettger LF, Cheplin HA. A treatise on the transformation of the intestinal flora with special reference to the implantation of bacillus acidophilus. London: Yale University Press, 1921.
- ⁴⁰ Rettger LF, Levy MN, Weinstein L, Weiss JE. *Lactobacillus acidophilus* and its therapeutic application. London: Yale University Press, 1935.
- ⁴¹ Bohnhoff N, Drake BL, Muller CP. Effect of streptomycin on susceptibility of the intestinal tract to experimental salmonella infection. *Proc Soc Exp Biol Med* 1954;86:132-7.
- ⁴² Freter R. The fatal enteric cholera infection in the guinea pig achieved by inhibition of normal enteric flora. *J Infect Dis* 1955; 97:57-64.
- ⁴³ Freter R. Experimental enteric *Shigella* and *Vibrio* infections in mice and guinea pigs. *J Exp Med* 1956;104:411-8.
- ⁴⁴ Collins FM, Carter PB. Growth of salmonellae in orally infected germ free mice. *Infect Immun* 1978;21:41-7.
- ⁴⁵ Fuller R. Probiotics for farm animals. *Intestinal Microecology, in Probiotics. A Critical Review*. G. W. Tannock (ed.) Horizon Scientific Press, Wymondham, England. 1999:15
- ⁴⁶ Bruce W. Probiotics in swine practice. *Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, AMVEC. México; Morelia (Michoacán)*. 1989:4-5.
- ⁴⁷ Fernández JE. Efecto de *Lactobacillus* como promotor de crecimiento en becerras en crecimiento bajo sistema de confinamiento (tesis de licenciatura). Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia, UNAM. México, D.F. 1998.
- ⁴⁸ AAFCO. Official Publication: Association of American Feed Control Officials, Inc. C. P. Frank, Georgia Department of Agriculture, Plant Food, Feed and Grain Division, Capital Square, Atlanta, GA. 1999.
- ⁴⁹ Cromwell, 2001. Citado por: Cuarón JA. Efecto de un producto de levadura viva activa sobre la función inmune en cerdos. Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

- ⁵⁰ Gómez E. Recopilación sobre los efectos de la adición de *Lactobacillus* en el alimento de los cerdos. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, AMVEC. México; Mérida (Yucatan). 1985:46-48.
- ⁵¹ Pollmann DS, Danielson DM, Poe ER. Effect of microbial feed additives on performance of starter and growing finishing pigs. *Journal of Animal Science*. 1980;51:577-581.
- ⁵² Kung L. Direct-Fed Microbial for Dairy Cows. Proceedings, 12th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. Department of Animal & Food Sciences. University of Delaware Newark, Delaware. 1999:22-28.
- ⁵³ Cuarón JAI. Efecto de un producto de levadura viva activa sobre la función inmune en cerdos. Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México. 2004.
- ⁵⁴ Martínez PG. Breve Introducción a los Probióticos. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC). Burjassot, Valencia, España. 2000: 1-2.
- ⁵⁵ Schleifer KH, Ludwig W. Phylogeny of the genus *Lactobacillus* and related genera. *System. Appl. Microbiol.* 1995;18:461-467.
- ⁵⁶ Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann Rev Microbiol.* 1997;3:107-133. Citado por: Denis O, Krause, Bryan A, White I, Roderick I, Mackie. Ribotyping of Adherent *Lactobacillus* from Weaning Pigs: a Basis for Probiotic Selection Based on Diet and Gut Compartment. Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana, U.S.A.. *Anaerobe* 1997; 3:317-325.
- ⁵⁷ Cheng-Chih Tsai, Hsien-Yee Hsih, Hsueh-Hui Chiua, Yung-Yu Laib, Jenn-Hua Liuc, Bi Yua, Hau-Yang Tsend. Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *International Journal of Food Microbiology*. 28 December 2004. En: www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro
- ⁵⁸ Gusils C, Bujazha M, Gonzalez S. Preliminary studies to design a probiotic for use in swine feed. *Inerciencia*. 2002 ;27(8):409-413
- ⁵⁹ Herías MV, Hesse C, Telemo E, Midtvedt T, Hanson LA, Wold AE. Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* colonizing the intestine of gnotobiotic rats, *Clin. Exp. Imune.* 1999;116:283-290.
- ⁶⁰ Sharp R, Hazlewood, GP, Gilbert HJ, O'Donnell AG. Unmodified and recombinant strains of *Lactobacillus plantarum* are rapidly lost from the rumen by protozoa predation. *J. Appl. Bacteriol.* 1994;76:110-117.
- ⁶¹ Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319:157-161. Citado por: Ayats AJ. Resistencia a la vancomicina en el género *enterococcus spp.* Servicio de Microbiología. C. S. U. de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat (Barcelona).
- ⁶² Aymerich *et al.* 1996, Casaus *et al.* 1997, Cintas *et al.* 1997, Floriano *et al.* 1998, Mareková *et al.* 2002, Lauková *et al.* 1997. Citados en: Stropfov V, Laukov A, Mudro D. Effect of Bacteriocin-Like Substance Produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the Composition of Avian Gastrointestinal Microflora. *ACTA VET. BRNO* 2003, 72:559-564.
- ⁶³ Collington GK, Parker DG, Armstrong DG, Ellis M. The influence of inclusion of probiotic in the diet on the development of enzyme activity in the small intestine of the pig. *Anim. Prod.*

1990;50:573. Citados en: Sierra EVM. Utilización de Probióticos en Nutrición Porcina (tesis de licenciatura).Chapingo (Edo. de México) México: Universidad Autónoma de Chapingo, 1995.

⁶⁴ Rowan TG, Lawrence TLJ, Kershaw SJ. Effects of dietary copper and probiotic on glucosinolate concentrations in ileal digest and in faces of growing pigs given diets based on rapeseed meals. Anim. Feed. Sci. Technol. 1991;35:247-258. Citados en: Sierra EVM. Utilización de Probióticos en Nutrición Porcina (tesis de licenciatura).Chapingo (Edo. de México) México: Universidad Autónoma de Chapingo, 1995.

⁶⁵ Hoyos G, Cruz C. Mecanismos de acción propuestos de los probióticos en cerdos. Memorias de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, AMVEC. México; Morelia (Michoacán). 1989:104-105.

⁶⁶ Cross ML. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. FEMS Immunology and Medical Microbiology 2002 34;4:245-253.

⁶⁷ Ouwehand AC. Probiotics: mechanisms and established effects. International Dairy Journal 1999;9:43-52.

⁶⁸ Lobato RG. Efecto de *Lactobacillus* como promotor de crecimiento en conejos destetados en confinamiento (tesis de licenciatura). Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia, UNAM. México, D.F. 1989.

⁶⁹ Rodriguez JM. Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nosing, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. Food Science and Technology International 1996;2(1):61-68.

⁷⁰Villani F. Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. International Journal of Food Microbiology 1995;25(2):179-190.

⁷¹ De Verse M, Stegelmann A, Richter B, Fenselau S, Laue C, Schrezenmeir J. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, 2001;73(2):421-429.

⁷²Audicio MC, Oliver G, Apella MC. Protective effect of *Enterococcus faecium* J96, a potential probiotic strain, on chicks infected with *Salmonella pullorum*. Journal of Food Protection 2000; 63(10):1333-1337.

⁷³ Jin LZ, Marquardt RR, Baidoo SK. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. Journal of the Science of Food and Agriculture 2000;80(5):619-624.

⁷⁴ Ogawa M. Inhibition of *in vitro* growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. International Journal of Food Microbiology 2001;68(1-2):135-140.

⁷⁵ Hillman K, Spencer, RJ, Murdoch TA, Stewart CS. The effect of mixtures of spp of *Lactobacillus*. in the enterotoxigenic survival the coli of *Escherichia in vitro* the continuous culture of porcine the intestinal bacterias. Letters in Applied Microbiology, 1995;20:130-133.

⁷⁶ Scharek L, Guth J, Reiter K, Weyrauch KD, Taras D, Schwerk P, Schierack P, Schmidt MFG, Wieler LH, Tedin K. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2005;105:151-161.

-
- ⁷⁷ Flores NM, Pérez-Gil RF. Microbianos para alimentación directa en dietas para rumiantes: una revisión. *Revista de Ciencia, Biodiversidad y Tecnología Agropecuaria*, AGROPECUS. 2000;1(1):26-41.
- ⁷⁸ Pluske JR, Siba PM, Pethick DW, Durmic Z, Mullan BP & Hampson DJ. The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of Quality inputs for quality foods 299 fermentable substrate entering the large intestine. *Journal of Nutrition*. 1996;126:2920-2933.
- ⁷⁹ Maxwell CV Jr, Carter SD. Feeding the Weaned Pig. In: Lewis AJ, Southern LL, editors. *Swine nutrition* 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2000: 691-715.
- ⁸⁰ Fowler WR. The nutrition of weaned pigs. *Pigs News and Information*. 1980; 1:11.
- ⁸¹ Gay *et al.*, 1976; Hampson, 1983; Miller *et al.*, 1986; Kelly *et al.*, 1991. Citados en: Souza RCT. Digestibilidad de los Nutrimientos en Lechones Destetados, Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA) y Colegio Latinoamericano de Nutrición Animal (CLANA).Engormix.com.
- ⁸² Cornelius S, Moser RC, Pettigrew JE. 1983. Citados por: Gonzalo GM, Medel P, Salado S. Nutrición y alimentación de lechones destetados precozmente.1997;5.3:305-308.
- ⁸³ Seman A, Woodbine M. Citados por: Gonzalo GM, Medel P, Salado S. Nutrición y alimentación de lechones destetados precozmente.1997;5.3:305-308.
- ⁸⁴ Cranwell PD. The development of acid and pepsin secretory capacity in the pig: The effects of age and weaning. 1. Studies in anaesthetized pigs. *Br J Nutr* 1985; 54: 305-320. Citado por: Souza RCT. Digestibilidad de los Nutrimientos en Lechones Destetados, Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA) y Colegio Latinoamericano de Nutrición Animal (CLANA).Engormix.com.
- ⁸⁵ Kidder y Maner, 1978; Aguilera *et al.*, 2003. Citados en: Souza RCT. Digestibilidad de los Nutrimientos en Lechones Destetados, Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA) y Colegio Latinoamericano de Nutrición Animal (CLANA).Engormix.com.
- ⁸⁶ Conway P. Selection criteria for probiotic micro-organisms. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 1996;5:10-14.
- ⁸⁷ Jensen BB. The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences* 1998;7:45-64.
- ⁸⁸ Jensen BB. 1999. Citado por: Pluske JR, Pethick DW, Hampson DJ. El Impacto de la Nutrición sobre Desórdenes y Enfermedades Entéricas en Cerdos. Division of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Australia. *Swine Technologic Internacional*.6;76.
- ⁸⁹ Kelly D, King TP. Digestive physiology and development in pigs. In: Varley MA, Wiseman J, editors. *The weaned pig: nutrition and management*. New York: CABI Publishing. 2001:179-206.
- ⁹⁰ Savage DC. Microorganisms associated with epithelial surfaces and stability of indigenous gastrointestinal microbiota. *Die Nahrung*.1987; 31:383-395. Citado por: Denis O, Krause, Bryan A, White I, Roderick I, Mackie. Ribotyping of Adherent *Lactobacillus* from Weaning Pigs: a Basis for Probiotic Selection Based on Diet and Gut Compartment. Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana, USA. *Anaerobe* 1997; 3:317-325.
- ⁹¹ Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, Bethesda, 2000;130(2):396-402.

⁹² Kelly y King, 2001; Maxwell y Carter, 2000. Citados en: Souza RCT. Digestibilidad de los Nutrimientos en Lechones Destetados, Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA) y Colegio Latinoamericano de Nutrición Animal (CLANA).Engormix.com.

⁹³ Kenworthy y Crabb, 1963, Etheridge *et al.* 1984, Mathew *et al.*, 1998 Citados por: Franklin MA, Mathew AG, Vickers JR, Clift R.A. Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs. 24 days of age. Department of Animal Science, University of Tennessee, EUA (Knoxville). American Society of Animal Science. 2002;80:2904-2910.

⁹⁴ Hampson *et al.*, 2001. Citado por: Pluske JR, Pethick DW, Hampson DJ. El Impacto de la Nutrición sobre Desórdenes y Enfermedades Entéricas en Cerdos. Division of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Australia. Swine Technologic Internacional.6;76.

⁹⁵ Giesecke 1970, Barnes 1979, Russell 1979. Citados por: Valencia JAN. Efecto del uso de *Lactobacillus acidophilus* dietario sobre el crecimiento y eficiencia en cerdos de 10 a 20 kg. Tesis de licenciatura UNAM. FMVZ. México D.F. 1990:4.

⁹⁶ Riopérez y Rodríguez ML, 2001. Citados en: Riopérez J, Rodríguez ML. Nutrición y patología digestiva del lechón y del cerdo en crecimiento-cebo. Dpto. de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. CSIC. Facultad de Veterinaria de Madrid. Mundo Ganadero, 2004;172.

⁹⁷ Franklin *et al.* 2002. Citado en: Riopérez J, Rodríguez ML. Nutrición y patología digestiva del lechón y del cerdo en crecimiento-cebo. Dpto. de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. CSIC. Facultad de Veterinaria de Madrid. Mundo Ganadero, 2004;172

⁹⁸ Easter RA. Acidification of diets for pigs. Recent Advances in Animal Nutrition, 1988:67-71. Citado por: Denis O, Krause, Bryan A, White I, Roderick I, Mackie. Ribotyping of Adherent *Lactobacillus* from Weaning Pigs: a Basis for Probiotic Selection Based on Diet and Gut Compartment. Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana, U.S.A. Anaerobe 1997; 3:317-325.

⁹⁹ Riopérez J, Rodríguez ML. Nutrición y patología digestiva del lechón y del cerdo en crecimiento-cebo. Dpto. de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. CSIC. Facultad de Veterinaria de Madrid. Mundo Ganadero, 2004;172

¹⁰⁰ Hampson 1994. Citado por: Pluske JR, Hopwood DE, Hampson DJ. Relación entre la microbiótica intestinal, el pienso y la incidencia de diarreas, y su influencia sobre la salud del lechón tras el destete. School of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Murdoch, Western (Australia). 2002.

¹⁰¹ Madec 1998, Bertschinger y Fairbrother 1999. Citado por: Pluske JR, Hopwood DE, Hampson DJ. Relación entre la microbiótica intestinal, el pienso y la incidencia de diarreas, y su influencia sobre la salud del lechón tras el destete. School of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Murdoch, Western (Australia).2002.

¹⁰² Pluske JR, Hopwood DE, Hampson DJ. Relación entre la microbiótica intestinal, el pienso y la incidencia de diarreas, y su influencia sobre la salud del lechón tras el destete. School of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, Murdoch, Western (Australia).2002.

¹⁰³ Danielson M, Saner R, Wiseman S, Wenninghoff. Probiotics and young pigs. Nebraska Swine Report 1992:10-11.

-
- ¹⁰⁴ Appgar GA, Kornegay ET, Lindemann MD, Wood CM. The effect of feeding various levels of *Bifidobacterium globosum* A on the performans, gastrointestinal measurements, and inmunity of weanling pigs and on the performance and carcass measurements of growing-finishing pigs. *Journal Animal Science* 1993;71:2173-2179.
- ¹⁰⁵ Risley CR, Kornegay ET, Lindemann MD, Weakland. Effects of yeast culture additions to weanling pig diets containing dried whey, soybean hulls or peanut hulls on growth performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. *Animal Feed Sciencs Technologie*. 1991;35:259-270.
- ¹⁰⁶ Varley MA. The administration of a probiotic agent to early-weaned piglets. *Animal Production*, 1987;44:464-465.
- ¹⁰⁷ Phelps A. Probiotics boost baby piglet survival rate. *Feedstuffs*. 1987:59.
- ¹⁰⁸ Hillman K. Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. In: *Recent Advances in Animal Nutrition 2001*. (Garnsworthy PC, Wiseman J. ed.). Nottingham University Press, Nottingham, UK. 2001;107-134.
- ¹⁰⁹ Tortuero F., Rioperez J, Fernandez E, Rodriguez ML. Response of piglets to oral administration of lactic acid bacteria. *J.Fd. Prof.*1995;58:1369-1374.
- ¹¹⁰ Collington GK. The influence of Probios or tylosin on growth of pigs and development of the gastrointestinal tract. *Anim. Prod.* 1988;46:521-522.
- ¹¹¹ Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. FMVZ. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/centros/ceiepp/ceiepp.htm>.
- ¹¹² García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana, UNAM, México. 1973.
- ¹¹³ National Research Council. *Nutrient Requirements of swine*, 10th. Ed., Natl Acad Sci, EUA 1998.
- ¹¹⁴ Steel RG, Torrie JH. *Principles and procedures of statistics*. 2nd. Ed., Mc Graw Hill, Singapore 1981.
- ¹¹⁵ Valencia JAN. Efecto del uso de *Lactobacillus acidophilus* dietario sobre el crecimiento y eficiencia en cerdos de 10 a 20 kg. Tesis de licenciatura UNAM. FMVZ. México D.F. 1990:4.
- ¹¹⁶ Hale OM, Newton GL. Effects of a nonviable *Lactobacillus* Species fermentation product on performance of pigs, *Journal of Animal Science*. 1979;48:770-775.
- ¹¹⁷ Pollmann DS, Danielson DM, Poe ER. Effect of *Lactobacillus acidophilus* on starter pigs a diet supplemented with lactose. *Journal of Animal Science*. 1980;51:638-643.
- ¹¹⁸ Lessard M, Brisson GJ. Effect of a *Lactobacillus* fermentation product on growth , immune response and fecal enzyme activity in weaned pigs. Citados por: Valencia JAN. Efecto del uso de *Lactobacillus acidophilus* dietario sobre el crecimiento y eficiencia en cerdos de 10 a 20 kg. Tesis de licenciatura UNAM. FMVZ. México D.F. 1990.
- ¹¹⁹ Nousiainen y Setala 1993; Stavric y Kornegay, 1995. Citados por: Ibargüengoytia JAC. Efecto de un producto de levadura viva activa sobre la función inmune en cerdos. Centro Nacional de Investigación en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.

-
- ¹²⁰ Hillman K. Manipulation of the intestinal microflora for improved health and growth in pigs. Microbiology Section, Animal Biology Division, SAC, Ferguson Building, Craibstone. Presented to the British Society for Animal Science (BSAS) conference in Scarborough, 1999.
- ¹²¹ Jasek, S., R. Kalinowska, D. Knecht, and R. Pawiak. 1992. Effect of Biogen probiotic addition on reproduction results and physiological indices in pigs. 2. Effect of Biogen-T dietary additive on results of rearing wearers. Roczn. Nauk. Zootech. 31:229.
- ¹²² Fedorka-Cray PJ, Bailey JS, Stern NJ, Cox NA, Ladely SR, Musgrove M. Mucosal competitive exclusion to reduce *Salmonella* in swine. J. Food Prot. 1999;62:1376.
- ¹²³ Gaad J. Are probiotics a confidence trick? Pigs. 1990:14-15.
- ¹²⁴ Lyons TP. The role of biological tools in the feed industry. Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's Fourth Annual Symposium. 1987 Nicholasville, USA.
- ¹²⁵ Fuller, R. 1989. citado por: Kung L. Direct-Fed Microbial for Dairy Cows, Proceedings, 12th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, Department of Animal & Food Sciences University of Delaware Newark, USA (Delaware). 2002:22-28.
- ¹²⁶ Arias N.J. La biotecnología en la alimentación animal. En: Primer simposio internacional sobre alternativas y Estrategias en producción Animal. Departamento de Zootecnia, UACH. México (Chapingo), 1995:49
- ¹²⁷ Woolcock JB. Microbial Interaction in health and disease. In: Microbiology of Animals Products. Woolcock. Elsevier science Publishers B.V. The Netherlands. 1991:61-62.
- ¹²⁸ Franklin MA, Mathew AG, Vickers JR, Clift R.A. Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age. Department of Animal Science, University of Tennessee, EUA (Knoxville). American Society of Animal Science. 2002;80:2904-2910.
- ¹²⁹ Tabla de los valores de χ^2 a los niveles de confianza de .05 y .01. Fuente: Wayne Daniel W. Estadística con aplicaciones a las ciencias sociales y a la educación. México 1997.