

110
26j

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ESTUDIO RECAPITULATIVO SOBRE LA UTILIZACION DE LACTOBACILOS COMO PROMOTORES DEL CRECIMIENTO EN AVES Y CERDOS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

ESTEBAN LANDERRECHE GOMEZ MORIN
ASESOR: M. V. Z. ADRIAN ESCOBOSA
MEXICO, D. F. 1987



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 está 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.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y METODOS	12
RESULTADOS	13
DISCUSION Y CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFIA	70

RESUMEN

LANDERRECHE GOMEZ MORIN, ESTEBAN. Estudio recapitulativo sobre la utilización de lactobacilos como promotores del crecimiento en aves y cerdos. (bajo la dirección de: M.V.Z. Adrian Escobosa).

En el presente trabajo se evaluaron los promotores del crecimiento antibióticos intentándose definir su mecanismo de acción y lograr comprender el concepto de los mismos como tales, con el fin de obtener un mayor conocimiento de las características que requieran este grupo de sustancias. De la misma forma se procedió a evaluar a los productos probióticos tratándose de definir las características que deben tener estos preparados de bacterias con el fin de lograr beneficios al añadirlas en el alimento de las aves y los cerdos. Se menciona una definición del promotor del crecimiento antibiótico así como una del probiótico y se hace mención sobre ciertas características que deberán tener estos productos para que estos sean considerados como tales. Se concluyó que para obtener beneficios al añadir bacterias en los alimentos de los animales estas deberán ser viables, en grandes cantidades, con la capacidad de sobrevivir el paso por el tracto intestinal así como con la capacidad de implantación en el tracto digestivo de los animales. Se deberá contar con una fuente de energía disponible para lograr la implantación de los lactobacilos y la adición en el alimento deberá ser constante, con el fin de reducir las variaciones en la flora bacteriana debidas a diversos factores. La reducción en el uso de antibióticos, especialmente aquellos a los cuales es sensible el probiótico, es otro de los factores a considerar para lograr un resultado favorable.

1) INTRODUCCION

La terapéutica antibiótica en la práctica de la Medicina Veterinaria moderna se ha convertido en un tema de polémica debido a los riesgos que esta representa para la salud pública. (3, 25, 39, 52, 59, 60, 61, 66)

Las condiciones de cría y explotación de los animales domésticos, en donde la concentración de población y los métodos artificiales de cría ocasionan situaciones de tensión y una alta cantidad de bacterias en el habitat artificial, ha inducido al uso frecuente de antibióticos para contrarrestar los efectos del medio ambiente. Este uso de antibióticos ocasiona, a su vez, desbalances en la flora bacteriana normal y selección de bacterias resistentes a los antibióticos, siendo esto último, el tema de mayor preocupación por parte de los mecanismos reguladores del uso de medicamentos en Europa y Norteamérica. (59, 65)

Con la duda planteada sobre los riesgos potenciales inherentes al uso de antibióticos surgieron dos corrientes en la investigación. La primera, pro-antibiótica, la cual ha tratado de demostrar durante los últimos treinta años la inocuidad que representa el uso de antibióticos en la práctica veterinaria, y una segunda corriente, que intenta demostrar que esa inocuidad no existe, y que en realidad se presenta como un grave riesgo la utilización de antibióticos en animales destinados a consumo humano, y que de hecho, esta

práctica ha cobrado ya, varias víctimas en la población humana. (39, 59, 61)

Es un hecho reconocido que los antibióticos producen cambios en la flora bacteriana intestinal. (29, 66) Los cambios, no siempre beneficios, ya que al utilizar el antibiótico no solo se destruyen las bacterias que están causando un problema, sino que se destruyen todas aquellas que sean sensibles a esa sustancia y se provoca un desbalance de la población normal del individuo en cuestión. (20, 21, 40, 52, 60) La flora bacteriana tiene diversas funciones que resultan favorables al huésped. Para destacar la importancia que puede tener una relación positiva entre el huésped y el hospedador, cabe citar la relación que existe entre los ruminantes y su flora bacteriana.

Desde la época en la que Metchnikoff menciona a los lactobacilos como los responsables de la longevidad de los pobladores de las regiones balcánicas, surgieron puntos de vista en los que se afirmaba el concepto de un mejor estado de salud de los individuos debido al consumo de este grupo de bacterias. El mismo menciona las bases para comprender los mecanismos de acción de los promotores del crecimiento al afirmar que, en nuestro intestino, se producen las sustancias causantes de la autointoxicación, debida a las bacterias de la putrefacción presentes en el tracto intestinal. (12)

Por la misma época Moro menciona que el microorganismo prevalente en las heces de niños alimentados a

base de leche era el lactobacilo. Después de estos investigadores, los estudios sobre el uso terapéutico de los lactobacilos en humanos se vio grandemente favorecida. (40, 52, 60)

Las bacterias ácido lácticas consisten en organismos en forma de cocos o bacilos (género de Lactobacillus y Streptococcus) de la familia de los Lactobactriaceae. Estan ampliamente distribuidos en la naturaleza, debido a su facultad de producir ácido láctico a partir de la fermentación de carbohidratos (glucosa, lactosa, etc.) han sido ampliamente utilizados por el hombre en procesos de preservación de alimentos. (52)

En los últimos años se ha aumentado el interés científico en la ecología. El concepto del balance entre los organismos habitantes de la tierra no es nuevo, aunque, la preocupación reciente sobre los efectos que pueden tener las manipulaciones del hombre en el medio ambiente, ha tenido frutos importantes.

Los organismos viven juntos en asociaciones que varían desde competencia hasta dependencia total. Siendo tan amplio el rango mencionado, el lugar que ocupa la relación de la flora bacteriana intestinal y el huésped es difícil de colocar. Las ventajas que obtienen las bacterias son obvias, pero lo que obtiene el huésped es difícil de clarificar. (29)

En algunos casos la presencia de ciertos tipos de bacterias han sido calificada como benéfica para el huésped.

Por esta causa, se plantea la posibilidad de utilizar los lactobacilos como sustitutos o coadyuvantes de los antibióticos en la profilaxis y terapéutica veterinaria.

Redmond, en el año de 1965, publica su experiencia al emplear L. acidophilus en una granja con severos problemas de disentería, en la cual el tratamiento con antibióticos había resultado infructuoso. Menciona que la flora bacteriana predominante antes del empleo de lactobacilos estaba compuesta por B. proteus y E. coli. Tras 30 días de la primera inoculación sus problemas cedieron y ningún tratamiento antibiótico fué necesario a partir de esa fecha. (51)

Mitchel (36) en el año de 1976 menciona la existencia de un metabolito del L. bulgaricus que inhibe la acción de la enterotoxina producida por E. coli. Muralidhara (40) demostró la inhibición que ejercen los lactobacilos sobre E. coli y menciona los efectos favorables al no presentarse diarrea en cerdos alimentados con lactobacilos que, posteriormente, fueron inoculados con una cepa patógena de E. coli, estableciendo la necesidad de que exista una relación entre estos microorganismos en el tracto intestinal de los animales.

El Dr. Morilla menciona que el uso de bacterias acidificantes en la cerda o el lechón, o una combinación de ambos, tiende a disminuir el problema de diarreas en lechones durante la primera semana de vida, y su adición continua puede eliminar las diarreas de la granja, siempre y cuando el uso de

antibióticos sea moderado o nulo. (38) En una serie de trabajos realizados por el Dr. Martínez se llegó a la conclusión de que el mayor beneficio al añadir L. acidophilus se obtuvo al inocularlos en cerdas y lechones conjuntamente. (30)

Recordemos que el tracto intestinal es un ecosistema en donde se presentan varios tipos de relaciones entre sus componentes, dentro de las que cabe citar las acciones recíprocas positivas y las negativas.

Una acción recíproca positiva es aquella en la que dos o mas individuos de la biomasa resultan beneficiados por su convivencia, relación que ha sido definida como simbiosis, la cual es la que se espera obtener entre el huésped y su flora bacteriana intestinal. (43)

La acción recíproca negativa es aquella en la que la convivencia entre sus componentes es dañina para alguno de los mismos, como es el caso de un proceso infeccioso, en el cual, la proliferación excesiva de un microorganismo, como por ejemplo E. coli, trae como consecuencia un estado patológico en el cerdo.

Manipular estas relaciones entre los componentes de la flora bacteriana es lo que se realiza a través del uso de sustancias antibióticas, pero así como la antibiosis es un tipo de relación entre individuos componentes de un ecosistema, existen otros tipos de relaciones que comprenden una serie de mecanismos mas complejos de convivencia, dentro

de los cuales la antibiosis es uno de ellos. (43)

El añadir una sustancia antibiótica no promueve una relación ecológica en el intestino, sino que simplemente inhibe a los microorganismos que son sensibles a la misma aumentando la población de los resistentes, no siendo siempre benéfico para el huésped. La intensidad de la reacción depende de la composición de la flora bacteriana, la sensibilidad de la misma, la sustancia añadida y su cantidad.

Un principio ecológico nos menciona que los efectos negativos tienden a ser cuantitativamente mas pequeños allí donde las poblaciones que actúan entre sí han tenido un proceso evolutivo comun en un ecosistema. Al añadir antibióticos en la dieta de los animales se observa una interacción repentina, la cual se menciona como aquella en la que pueda haber efectos a gran escala, que conducen a lo que podría llamarse el principio del patógeno instantáneo, que explica porque, las introducciones o las manipulaciones no preparadas, o mal preparadas por el hombre conduzcan con tanta frecuencia a epidemias. (43)

La constante presencia de un antibiótico en el intestino de los animales, tiene como consecuencia, al haberse establecido un ecosistema con esa característica, la adaptación de la flora a esas condiciones, con lo que surge la población resistente al antibiótico, la cual, se desarrollará como una población potencialmente dañina.

En los principios de la terapéutica antibiótica

surgió un síndrome post tratamiento conocido como diarrea antibiótica, siendo causado por la destrucción de la flora bacteriana normal y la implantación de una flora daffina para el huésped. (32, 40, 52, 60)

La utilización de preparados bacterianos a base de lactobacilos, redujo la incidencia de este síndrome al reestablecer una flora benéfica posterior al tratamiento antibiótico. (32, 40, 52, 60)

Sandine menciona los estudios realizados por Smith en donde E. coli fué aislada de hombres y animales enfermos, observando una mayor incidencia de resistencia a las drogas entre las cepas de E. coli aisladas. Las cepas eran de serotipos generalmente aceptados como patogénicos, y la resistencia era mediada por factores de resistencia genéticos. Estos factores han sido reconocidos como una amenaza para la salud pública y animal. (52, 58)

La aparición de bacterias resistentes como resultado del uso de antibióticos en alimentos para animales ha sido considerada por varias personas. (4, 20, 32, 52, 60, 65, 66) Sandine (52) menciona los estudios de Smith y Crabb donde la E. coli aislada tuvo en común con todos los casos que se analizaron que era resistente a la tetraciclina. Una observación similar fué observada en pollos que consumían tetraciclina como promotor del crecimiento.

Con el empleo de antibióticos a dosis mas bajas que las recomendadas como terapéuticas para promover el crecimiento

de los animales, la duda sobre la inocuidad de estos preparados, ha llevado a varios países a restringir su uso y, recientemente en Holanda, se prohibieron definitivamente. (3.59)

Debido a este tipo de regulaciones, y conociendo las ventajas que representa utilizar promotores del crecimiento en el alimento de los animales, encontrar alternativas que reduzcan o eliminen el riesgo que se menciona sobre estos antimicrobianos, es una prioridad en la investigación.

Ahora surge la posibilidad de utilizar a los lactobacilos para promover el crecimiento al proveer los componentes de una flora bacteriana benéfica y evitar las desestabilizaciones causadas por los antibióticos.

El control biótico, al cual se refiere el empleo de probióticos, es una de las formas de evitar el afectar un ecosistema, en este caso el intestino, manteniendo un proceso de competencia ecológica entre los componentes del ecosistema intestinal. Al incluir una bacteria viva como suplemento alimenticio de los animales se mantiene un estado de competencia natural, en el cual, no se presenta el riesgo de caer en principio del patógeno instantáneo. Así pues, el fin de la terapéutica con lactobacilos es promover y proveer esta flora bacteriana benéfica para el huésped.

A la fecha no se conoce ninguna bacteria de este género que pudiese ser catalogada como patógena, ni siquiera potencialmente, con lo que la inocuidad de estos

microorganismos esta garantizada. (60).

2) OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es conocer los mecanismos por los cuales se obtiene una promoción del crecimiento a través del uso de antibióticos, e identificar los mecanismos con los que cuentan los probióticos para lograr esta acción, planteando las necesidades de investigación para identificar los requerimientos de estos microorganismos para obtener la promoción del crecimiento, al utilizarlos en el alimento de los animales.

Los objetivos del trabajo se resumen en:

- 1) Analizar el mecanismo de acción de los promotores de crecimiento antibióticos.
- 2) Analizar el mecanismo de acción de los promotores de crecimiento probióticos.
- 3) Comparar los mecanismos de acción de los antibióticos y los probióticos.
- 4) Analizar la viabilidad de los promotores de crecimiento probióticos.
- 5) Plantear las recomendaciones necesarias para obtener los beneficios de los promotores de crecimiento probióticos.
- 6) Identificar las necesidades primarias de investigación para llegar a conclusiones necesarias sobre el uso de promotores de crecimiento probióticos.

3) MATERIAL Y METODOS

Se procedió a la consulta de buena cantidad de fuentes bibliográficas como son libros, artículos, revistas, los cuales permiten poner en manifiesto la importancia de los promotores del crecimiento dentro de los sistemas de producción moderna en avicultura y porcicultura. Posteriormente, se consultaron trabajos en donde se estudiaba la función de la flora bacteriana intestinal y su importancia en la producción animal. Por último, se revisaron los estudios realizados con probióticos en donde se analizaron los datos obtenidos por varios investigadores dentro de esta área, realizándose un estudio comparativo entre los hallazgos de estos y los reportados en los estudios de promotores del crecimiento y funciones de la flora bacteriana.

Se consultaron las fuentes de información más recientes para lograr un estudio bibliográfico actualizado y completo de este tema.

Posterior a la revisión de la información se obtuvo una síntesis de los diferentes criterios y estudios analizados, para lograr una mejor comprensión de los puntos de vista de los diferentes investigadores en las áreas estudiadas.

Una vez conjuntada la información bibliográfica y clasificada en fichas bibliográficas por temas o por incisos, se conjugaron las diferentes partes que forman a este estudio.

RESULTADOS

DEFINICION DE PROMOTOR DE CRECIMIENTO

"Un promotor de crecimiento es aquel aditivo no-nutritivo que mejorará la ingestión, digestión, protección, absorción y/o transporte de los nutrientes, en un grado que incremente el valor nutritivo del pienso y disminuya el costo de alimentación para la producción de carne de pollo y huevo." (54)

"Aditivos que incrementarán la eficiencia, la tasa de crecimiento y el nivel de producción de los animales." (31)

"Químicos o drogas diferentes a los nutrientes conocidos que proveen proteína, energía, vitaminas y minerales...estos factores influyen en la respuesta al crecimiento y a los resultados de la alimentación." (56)

"Todos aquellos ingredientes o compuestos que se adicionan a los alimentos cuyo uso mejorará en alguna forma la apariencia, la vida en bodega, la aceptación, la digestión, la absorción o el metabolismo de los alimentos, aunque en rigor, no son estrictamente esenciales para la nutrición del animal." (57)

Varios son los autores que mencionan un tipo ilimitado de aditivos no nutritivos que no están dentro del concepto de promotor del crecimiento. Existen aditivos con los que, teóricamente se obtendrá un beneficio para el productor y/o consumidor de los productos pecuarios. Sin embargo, los

promotores de crecimiento que nos interesan son sustancias que ayudan al crecimiento de los animales actuando a nivel intestinal, ejerciendo una acción sobre la flora bacteriana existente o algún factor no identificado a la fecha, y no modificando el metabolismo de los animales.

Existen sustancias que alteran, en una forma u otra, la fisiología de los animales. Por ejemplo los compuestos iodados, como es el caso de la caseína yodada, tienen por objeto aumentar el metabolismo basal de los animales, obteniendo, de esta forma, una respuesta excedida de las probabilidades fisiológicas. Los implantes, otro tipo de estimulante del crecimiento, modifican el equilibrio hormonal, causando una mayor respuesta en el crecimiento y la finalización de los animales para engorda. En el caso de gallinas de postura, este tipo de hormonas se han utilizado para mejorar la calidad del cascarón o provocar la pulecha. (54) No habrá que calificar a estas sustancias dentro de los promotores del crecimiento, sino que quedarán dentro de la categoría de estimulantes del crecimiento, existiendo una notable diferencia entre uno y otro concepto.

Los aditivos no-nutritivos que se utilizan para proteger o mantener las características físicas y químicas de un alimento, como es el caso de los antioxidantes y los inhibidores de la fermentación, deberán estar clasificados dentro del renglón de sustancias conservadoras, y aunque su uso pueda redituar en una mejor producción, esta acción no afecta la respuesta de los animales al alimento, sino la

calidad del mismo.(71)

Se menciona que los saborizantes empleados en el alimento promueven el crecimiento de los animales al aumentar el consumo del pienso, pero hay que recordar que no solo deberá aumentarse la velocidad de crecimiento de los animales sino deberá mejorarse la eficiencia del aprovechamiento del mismo, requiriendo menor cantidad de alimento por unidad de producción.(*)

Teniendo en cuenta esos conceptos habrá que agrupar a los aditivos no-nutritivos utilizados en la alimentación animal en varias categorías:

- 1.- Aditivos que mejoran las cualidades físicas, químicas o físicoquímicas del alimento. Como ejemplo los aglutinantes, antioxidantes, enzimas, saborizantes, etc.
- 2.- Aditivos pigmentantes.
- 3.- Aditivos estimulantes del crecimiento, como por ejemplo hormonas, productos iodados, etc.
- 4.- Sustancias para tratamiento o prevención de enfermedades. Por ejemplo coccidiostatos, furazolidona, etc.
- 5.- Promotores del crecimiento. Por ejemplo antibióticos, arsenicales, etc.

Habría que tener en cuenta que cualquier acción sanitaria o de manejo que se realice adecuadamente en una explotación

* Qualitech Inc., Lucta de México, Feed Flavors Inc.

pecuaria tendrá como consecuencia una promoción del crecimiento, sin embargo, se refiere a sustancias con las que en mayor o menor grado obtendremos un beneficio en la respuesta productiva de los animales sin modificar otra cosa que la eficiencia de la utilización del alimento.

DEFINICION DE PROMOTOR DE CRECIMIENTO ANTIBIOTICO.

El término antibiótico se define como cualquier sustancia sintetizada por un microorganismo que ejerce una acción de inhibición o destrucción de uno o varios tipos de bacterias. (43)

El término promotor del crecimiento antibiótico se refiere a aquella sustancia antibiótica que, al ser añadida en el alimento en dosis mas bajas que las reconocidas como terapéuticas, mejora la conversión alimenticia y la velocidad de crecimiento de quien lo ingiere.

Moore en el año de 1946 demostró que las pollitas alimentadas con una dieta purificada que contenía estreptomocina crecían mas rápido que si no estaba suplementada con antibiótico. (4, 20) A partir de esa fecha la aceptación de los antibióticos en los alimentos para animales se ha basado en los incrementos de peso y mejores conversiones alimenticias que se observan en las diferentes especies animales. (29, 66)

¿A qué niveles deberá estar incluido en el alimento para ser considerado como promotor de crecimiento? ¿qué acción se espera de este antibiótico? ¿qué requisitos de inocuidad debe cumplir un preparado para ser definido como promotor? Estas preguntas se han venido planteando desde el principio de la historia de los promotores del crecimiento, y a la fecha, no han sido contestadas del todo.

En la mayoría de los casos, los antibióticos utilizados como promotores del crecimiento, son los mismos que se utilizan para usos terapéuticos o profilácticos, solo que las cantidades administradas son diferentes.

Esto último ha tenido como consecuencia que se intente evitar el uso de los antibióticos para varios objetivos, por considerarse que el empleo indiscriminado de los mismos pueda reducir la eficacia de los tratamientos.

El Dr. Williams, durante el simposium sobre el uso de drogas en los alimentos para animales, menciona los efectos de selección de cepas resistentes a los antibióticos utilizados con fines nutricionales, argumentando que el uso de estos ocasiona un aumento en la población de bacterias resistentes al antibiótico en cuestión, y que este punto representa un peligro para la salud de los animales, siendo que el número de casos de enfermedades ocasionadas por cepas resistentes a antibióticos se relaciona con el uso de ese antibiótico en particular como aditivo alimenticio. Al final de su presentación concluye que, para evitar esta presentación de resistencia, se deberán utilizar sustancias cuyo uso sea limitado como aditivo alimenticio y que no presente reacciones de resistencia cruzada con los antibióticos utilizados para el tratamiento de enfermedades. (69)

La necesidad de evitar residuos de antibióticos en los productos para el consumo humano ha inducido a la

restricción del uso de antibióticos durante cierto tiempo, dependiendo de la sustancia, antes del sacrificio y el uso de antibióticos no absorbibles con lo que se ha evitado, o mas bien reducido, la presencia de residuos de antibióticos en los animales para el consumo humano. (25, 39, 61) Con estas medidas, los riesgos que representa la adición de antibióticos en el alimento de animales, se han reducido en forma considerable.

El punto que mayor polémica ha despertado en cuanto a la utilización de antibióticos en el alimento de los animales es el que subraya que se utilizan antibióticos similares a los que se prescriben en medicina humana. (59) Siendo que la adición constante del antibiótico en bajas cantidades en el alimento para animales tiene como consecuencia una selección de bacterias resistentes al mismo, se presenta la probabilidad de infección del humano con estas bacterias, las cuales no serán sensibles al tratamiento con el antibiótico en cuestión, con lo que se presenta un riesgo importante para la salud pública. (59)

MECANISMOS DE ACCION DEL PROMOTOR DEL CRECIMIENTO ANTIBIOTICO.

En si no se puede establecer una regla universal sobre el mecanismo de acción de los antibióticos, sin embargo, los reportes sobre la forma de actuar de estas sustancias para promover el crecimiento coinciden en ciertos puntos.

Cabe recordar que existen varios tipos de antibióticos, que son activos contra diferentes microorganismos y que las condiciones de concentración bacteriana y tipo de bacterias varían de granja en granja y aún dentro de una sola granja se encuentran estas variaciones, con lo que no se puede esperar que haya un mecanismo único de acción de diferentes sustancias actuando sobre diferentes condiciones ambientales.

Es un hecho que los antibióticos promotores del crecimiento ejercen su acción alterando la flora bacteriana intestinal. Aunque los primeros estudios realizados por Jukes y Francois mencionaban un efecto moderado de promoción del crecimiento al utilizar antibióticos en condiciones libres de gérmenes, los estudios posteriores realizados por Coates y Freeman no pudieron obtener ese resultado en repetidos experimentos. (29. 66)

Otro hecho que tiende a demostrar esta acción antibacteriana es el observado cuando se realizan comparaciones en la adición de antibióticos en la dieta, en

instalaciones con una baja carga bacteriana, la respuesta de los animales suplementados con los antibióticos es menor y la ganancia de los que no fueron suplementados es mayor que la que se observa en instalaciones con mayor carga bacteriana. (4, 20, 21, 64, 66)

La falta de respuesta observada, al añadir antibióticos a embriones de pollo bajo condiciones estériles se considera como una fuerte evidencia que los antibióticos no tienen una acción directa sobre los tejidos del huésped. (66)

Scott (54) menciona ciertos efectos que pueden observarse al añadir los antibióticos para promover el crecimiento.

- 1) Pueden favorecer el crecimiento de los microorganismos sintetizadores de nutrientes e inhibir los destructores de nutrientes.
- 2) Los antibióticos pueden inhibir el crecimiento de los organismos que producen excesivas cantidades de amoníaco y otros productos nitrogenados de deshecho tóxicos en los intestinos.
- 3) Los antibióticos pueden mejorar la disponibilidad o absorción de ciertos nutrientes.
- 4) Los antibióticos pueden mejorar el consumo de pienso o de agua o de ambos.
- 5) Los antibióticos en muchos casos evitan o curan enfermedades que tienen lugar en el tracto intestinal o sistémicamente.

Hay varias teorías sobre los efectos de la flora bacteriana intestinal, al principio de los estudios sobre esta se partía de la base de que las bacterias presentes en el tracto intestinal de los individuos era indispensable para el buen funcionamiento del mismo. Metchnikoff es la primera persona que plantea la posibilidad de que las bacterias presentes en el tracto digestivo puedan causar algún daño al huésped. Años después, Pasteur cuestionó la posibilidad de preservar un estado "normal de salud" en individuos libres de bacterias. (12) Estudios por Coates (1968) y Freeman et. al. (1975), en animales libres de bacterias demostraron que la velocidad de crecimiento de estos era superior a la de animales convencionales. (66)

Tanto la hipótesis de Metchnikoff como la de Pasteur resultan válidas. La vida en un medio estéril es posible bajo condiciones experimentales salvo que, la probabilidad de adquirir una infección fatal es mucho mayor en los individuos que no han tenido contacto con bacterias, (con lo que no ha habido colonización del epitelio intestinal), que en los animales que han sido criados bajo condiciones convencionales. Aunque estos últimos tiendan a reducir su eficiencia productiva la posibilidad de sobrevivencia es mucho mayor. Estudios realizados en el hombre y los animales, han demostrado que la susceptibilidad de los individuos a contraer una infección intestinal es mayor en individuos que han consumido o consumen antibióticos. (29, 62, 66)

Los estudios con animales libres de bacterias y libres de patógenos específicos han ayudado a clarificar varios de los efectos que tiene la flora bacteriana, entre los que cabe destacar los siguientes:

- 1) Afecta el crecimiento y el desarrollo del huésped.
- 2) Influencia los requerimientos nutricionales.
- 3) Afecta la morfología del tracto gastrointestinal.
- 4) Modifica, por su acción metabólica, sustancias endógenas y exógenas introducidas en el lumen gastrointestinal.
- 5) Juega un papel activo en la prevención del establecimiento de bacterias ajenas. (66)

Estos estudios han demostrado que existen diferencias entre los animales convencionales y libres de gérmenes, con lo que se ha implantado una base importante para la experimentación, necesaria para esclarecer los mecanismos que intervienen en la promoción del crecimiento por parte de los antibióticos.

Estas diferencias se encuentran en los órganos que tienen una relación importante con la flora bacteriana intestinal. El intestino y los órganos linfoides asociados contienen más tejido en los animales convencionales que en los libres de gérmenes. La tasa metabólica de los animales libres de gérmenes es menor que en los animales convencionales. La hidrólisis de productos metabólicos es menor en los primeros, etc. (4, 21, 66)

ALGUNAS DIFERENCIAS ENTRE ANIMALES LIBRES DE GERMENES
Y ANIMALES CONVENCIONALES

Puntos Comparados	Convencionales	Libres de Górmes	Fuente
Tasa metabólica basal	100 %	80 %	Desplaces (1963)
	100 %	80/85 %	Levenson (1966)
Utilización de iodo por la Tiroidea	100 %	50 %	Levenson (1966)
Gasto Cardíaco	100 %	68 %	Gordon (1963)
Volumen Sanguíneo	100 %	78 %	Gordon (1963)
Flujo Sanguíneo Hepático	100 %	50 %	Gordon (1963)
Intestino Delgado			
Superficie de Mucosa	100 %	67 %	Gordon y Bruckner (1961)
Reposición Celular	100 %	60/70 %	Abrams (1963)
			Leshner (1964)
Contenido de Agua	100 %	90 %	Gordon (1959)
			Gordon y Westmann (1960)
Lámina Propia	100 %	65 %	Gordon y Bruckner-Kardoss (1959-1961)
Elementos Reticulo-endoteliales	100 %	40/60 %	Gordon y Bruckner-Kardoss (1961)
Peso Húmedo Ciego	100 %	90/95 %	Gordon (1959)
Peso húmedo con contenido N precipitable	100 %	550 %	Combe (1965)
N no precipitable	bajo	alto	Combe (1965)
	bajo	alto	Levenson y Tennant (1963)
Urea	ausente	presente	Combe (1965)
Amoníaco	100 %	10 %	Combe (1965)
Nódulos linfáticos ileocecales	100 %	40/60 %	Gordon (1959)
Contenido de ADN	100 %	90/95 %	Combe (1965)
Sangre			
Amoníaco Portal	100 %	25 %	Warren y Newton (1959)
Amoníaco Sistémico	100 %	70 %	Warren y Newton (1959)
Hidrólisis de Urea	100 % (a)	0	Kornberg y Davis (1955)
			Levenson (1959)
Hidrólisis de ácidos Biliares	100 % (b)	0	Norman y Widstrom (1954)
Transferecia de Xilosa	100 %	200 %	Heneghan (1963)
Transferecia de AA	100 %	>300 %	Herskovic (1967)
Globulinas Séricas	100 %	bajas algunas no están presentes.	Westmann (1959)
Agglutininas bacterianas	100 %	bajas	Wagner (1959)

(a) Aproximadamente 25 % de la excreción diaria entra en el tracto y es hidrolizada.

(b) La exención de hidrólisis varía. Depende de las enzimas bacterianas

=====

Adaptado de The Mode of Growth Promotion by Antibiotics, Visek W.J., J. Anim. Sci. 46:1452, (1978).

Estas diferencias, entre otras que iremos analizando, se reducen al añadir antibióticos en el alimento existiendo mayor similitud entre los animales libres de bacterias y los tratados con antibióticos, que entre estos y los animales criados en forma convencional. (29, 66, 67)

La reacción que se obtiene al añadir antibióticos en el alimento de los animales se debe, según la mayoría de los autores, al efecto inhibitorio que ejercen sobre las bacterias que compiten por nutrientes, modifican sustancias endógenas y exógenas y que afectan la morfología del tracto intestinal. (4, 21, 22, 23, 41, 42, 54, 66, 68)

Visek, (66) durante el simposium sobre el uso de antibióticos en alimentos para animales menciona cuatro mecanismos que son frecuentemente atribuidos al uso de antibióticos:

- 1.- Que los microorganismos responsables de infecciones ligeras aunque no detectables son suprimidos.
- 2.- Que la producción de toxinas depresoras del crecimiento se reduce.
- 3.- Que los agentes antimicrobianos reducen la destrucción microbiana de nutrientes esenciales en el tracto gastrointestinal o que hay una mayor síntesis de vitaminas u otros factores del crecimiento.
- 4.- Que hay una mayor eficiencia de absorción y utilización de los nutrientes debido a la reducción del grosor de la pared intestinal.

Mygind y Rasmussen, (41, 42) durante el 6 simposio de Virginiamicina amplían estos conceptos mencionando que los antibióticos en el alimento:

- 1.- Causan un cambio en la composición de la microflora del tracto intestinal.
- 2.- Inhiben la fermentación de glucosa y por lo tanto reducen la producción microbiana de ácidos lácticos y ácidos grasos volátiles.
- 3.- Inhiben la descomposición microbiana de las proteínas, inhibiendo de esta forma, la formación de sustancias dañinas, como las aminas y el amoniaco.
- 4.- Inhiben la producción de toxinas bacterianas.
- 5.- Causan que la pared intestinal se torne mas delgada, con lo que se asegura una mejor y mas rápida absorción de los nutrientes.
- 6.- Prolongan el paso del alimento a través del tracto intestinal.
- 7.- Producen unas heces mas firmes, debido al menor contenido de agua de las mismas.
- 8.- Incrementan la digestibilidad de las proteínas.

La inhibición de ciertas bacterias en el tracto intestinal por el uso de los antibióticos, tiene como consecuencia, un cambio en la composición y distribución de la flora bacteriana. (22, 23, 41, 44) La inhibición de un grupo de bacterias permite la proliferación de otras, que hipotéticamente, mantienen una relación simbiótica con el

hospedador, con lo que las relaciones negativas de la flora con el individuo se reducen, habiendo un mejor estado de salud general, con lo que se obtiene una mejor respuesta productiva de los animales.

Sydney (62) menciona algunos de los cambios en la flora bacteriana utilizando diferentes antibióticos.

Penicilinas. La bencilpenicilina tiene poco efecto sobre la flora fecal, usualmente se produce una ligera disminución en la cuenta de estreptococos y clostridios. La fenoximetil y la fenoxietil penicilina produce reducciones mas notables en los mismos organismos. La dicloxacilina elimina los lactobacilos. Las penicilinas de amplio espectro como la ampicilina y la hetacilina afectan significativamente la flora reduciendo lactobacilos, coli, estreptococos. Los bacteroides (bifidobacterias, clostridios y cocos anaerobios) aparentemente no se afectan, pero los demas anaerobios decrecen significativamente. Aumenta la flora anormal (klebsiela-enterobacter, coliformes y cándida).

Tetraciclina: Estas producen efectos variables en la flora, aparentemente la eficiencia de estas drogas para suprimir la flora se ha disminuido significativamente, basicamente debido a efectos de resistencia.

Eritromicina: Pocos son los cambios observados con este antibiótico, los lactobacilos y los clostridios tienden a reducirse al igual que los bacteroides, los estreptococos aumentan en número.

Lincomicina: Este producto produce un cambio dramático en la flora, esencialmente eliminando la flora anaerobia. Los aerobios no son afectados enormemente, aunque en ocasiones aumenta la cantidad de enterococos en forma alarmante. Sobrecrecimiento de pseudomonas y de cándida es fácilmente visto en individuos tratados con este antibiótico.

Aminoglicósidos: Con la excepción de la estreptomina, que no tiene una actividad consistente al ser dosificada oralmente, este grupo de sustancias tienden a eliminar la flora aerobia y la flora gram positiva anaerobia. Los bacteroides pueden reducirse en ciertos casos. Organismos como cándida, estafilococos, klebsiela, enterobacter y proteus aumentan.

Capitracina: Reduce la cuenta de estreptococos y clostridios.

Wiedeman menciona que no se detecta ningún cambio en la flora intestinal al incluir flavomicina a razón de 25 ppm. en el alimento de las aves. (68)

Según Henderick (22) la flavomicina influye el número de estreptococos y la producción de ácido láctico. La espiramicina influye el número de estreptococos y lactobacilos y la producción de ácidos orgánicos. El Carbadox reduce fuertemente el desarrollo y el metabolismo bacteriano. El arseniato de sodio no tiene ninguna actividad antibacteriana al nivel de 100 ppm. El sulfato de cobre inhibe la evolución del número de lactobacilos y estreptococos y la producción de ácidos orgánicos. La virginamicina reduce la población de Clostridium perfringes, número total de anaerobios, lactobacilos y mantiene o aumenta la cuenta de

enterococos y coliformes. (22, 23)

DEFINICIÓN DE UN PROBIÓTICO

"Los probióticos son cultivos de bacterias saprofitas, producidas industrialmente en base a cepas gestadas y desarrolladas experimentalmente, inocuas desde el punto de vista patológico y destinadas a ser empleadas con fines terapéuticos y preventivos tanto en nutrición como en sanidad animal." (44)

"Los probióticos son mas un concepto que un tipo de compuesto, generalmente se refiere al uso de ciertos cultivos de bacterias, principalmente, Lactobacillus acidophilus, para manipular la flora bacteriana gastrointestinal." (2)

"Los probióticos son aditivos microbianos productores de ácido láctico." (45)

"Los probióticos son aditivos microbiológicos que contengan células viables de Lactobacillus acidophilus." (33)

"Un probiótico es un cultivo de microorganismos vivos específicos (principalmente Lactobacillus spp.), que se implanta en el animal al cual se le alimenta con ellos y asegura el establecimiento efectivo de población intestinal de organismos benéficos y patogénicos. El cultivo deberá contener cuentas específicas de las bacterias presentes, que sea mantenido en una forma seca para asegurar un buen almacenamiento, que no sea dependiente de la temperatura y produzca una respuesta óptima dentro de un rango de dosificación específica." (10)

"Sustancias o microorganismos que contribuyen a un balance microbiano ideal." (24)

Para poder definir un preparado bacteriano como probiótico habrá que cubrir ciertos requisitos básicos. Encontramos en una serie de reportes que para obtener resultados al utilizar bacterias en la alimentación animal, los preparados deberán contener microorganismos viables, (32, 52, 60) no productos de la fermentación o microorganismos inactivados, ya que si consideramos que la inhibición de una bacteria indeseable por un producto de la fermentación, por ejemplo ácido láctico, no por la presencia de la bacteria, en este caso el lactobacilo, estaríamos hablando de sustancias antibióticas, no de mecanismos probióticos para lograr la misma acción. La inhibición de bacterias que puede observarse al adicionar estos preparados va acompañada del aumento en el tipo de bacterias que se está promoviendo. (40, 45, 46, 47, 64) La adición de un antibiótico tiene como efecto el aumento en el número de bacterias que no son sensibles al mismo, sin intentarse aumentar una población en especial, y sin ser medida específica. En otras palabras los probióticos promueven y proveen cierto tipo de flora bacteriana considerada como benéfica para el huésped.

No sólo deberá ser un preparado de bacterias viables, sino que, estas bacterias deberán tener la capacidad de sobrevivir el paso por el tracto digestivo y lograr una implantación o colonización del mismo. (16, 17, 18, 32, 40, 45,

46, 47, 52, 53, 60) Con esto entramos al punto de capacidad de sobrevivencia y capacidad de implantación, lo cual depende de la especie que se utilice y de la cepa desarrollada. Stern menciona que la vía normal de implantación es la oral, y por lo tanto, la bacteria utilizada deberá resistir el paso por el tracto digestivo. La clave para esta capacidad de sobrevivencia se debe a la resistencia a la baja tensión causada por la bilis, la cual es un instrumento de resistencia incapaz de los animales. El L. bulgaricus es uno de los ejemplos de los organismos que no resisten esta condición. (32, 60)

Otro punto importante es la capacidad de inhibición de las bacterias del preparado. (60) No necesariamente todos los L. acidophilus tienen la misma capacidad de inhibir a cierto tipo de bacterias, o no todos promueven la presencia de otra. La acción de inhibición de los lactobacilos ha sido reportada para bacterias como S. aureus, E. proteus, Salmonella spp., Pseudomonas spp., E. coli, etc. (1, 8, 9, 10, 19, 24, 27, 30, 38, 40, 50, 51, 52, 53, 55, 60)

MECANISMO DE ACCION DE UN PROMOTOR DE CRECIMIENTO PROBIOTICO.

Habiendo revisado el capítulo donde se mencionan los mecanismos por los cuales se obtiene un aumento en la productividad de los animales al incluir antibióticos en su alimento, se observa un conjunto de acciones y reacciones necesarias para obtener una mejor eficiencia alimenticia de los animales. La forma en que se logra con los antibióticos es una de las posibilidades de mejorar los pesos, sin embargo, el establecimiento de una flora simbiótica por otros medios puede resultar en la promoción de microorganismos favorables, y la eliminación de los dañinos, con lo que obtendremos una promoción del crecimiento.

Para lograr estos beneficios, los probióticos deberán eliminar, con su presencia en el tracto intestinal, a los grupos de bacterias que producen la depresión en el crecimiento.

Pero, ¿cómo es que actúan los probióticos para lograr esta inhibición? es una cuestión que no ha sido evaluada en forma contundente. Se conocen ciertos mecanismos por los que los lactobacilos actúan.

La terapéutica con lactobacilos comenzó a utilizarse a través de la ingestión de la leche búlgara, reportada por Metchnikoff para la destrucción de las bacterias que producen la autointoxicación. (12) Con el paso de los años

se fueron adquiriendo nuevas experiencias con las que se denotaba la necesidad de mantener una flora bacteriana estable y que contuviese microorganismos que fueran benéficos al huésped. (60)

El beneficio observado tras la adición de lactobacilos ha sido reportado por varios autores. (1, 2, 9, 10, 14, 27, 40, 60) Desde la época en la que el exceso en el uso de antibióticos causó el síndrome conocido como diarrea antibiótica, se comprobó que la combinación del antibiótico con el lactobacilo evitaba la presentación del síndrome al mantener una flora bacteriana benéfica. La estabilización de la flora al incluir lactobacilos, ha sido uno de los puntos que se mencionan como acciones benéficas de estas bacterias. (52, 60) Muralidhara, (40) en un estudio realizado en lechones comprobó que las variaciones de la población bacteriana intestinal se reducían al incluir lactobacilos en la dieta de los animales, y aún en periodos de tensión, los cambios en la flora eran menores que los observados en los animales testigos.

Visek (66) menciona como la causa más probable del aumento de la eficiencia productiva de los animales a la mayor velocidad de restitución del epitelio intestinal, lo que se atribuye a la presencia de amoniaco y áminas tóxicas en el tracto. Los lactobacilos, al inhibir el crecimiento de bacterias proteolíticas disminuyen la concentración de estos productos, (8, 40, 52, 53) reduciendo la velocidad de regeneración epitelial, la cual, ha sido correlacionada

positivamente con el mayor aumento de peso de los animales. Si tenemos en cuenta que la síntesis de componentes celulares requiere de una cantidad determinada de nutrientes que en el caso de la regeneración del epitelio intestinal, no se reflejará en un aumento en el peso del animal. Es fácil comprender que al reducir este requerimiento de nutrientes para mantener la integridad del epitelio intestinal, tendrá como consecuencia una mayor cantidad de elementos nutritivos que contribuirán al crecimiento del animal.

Al igual que en el caso de los antibióticos se menciona que los lactobacilos tienen una acción ahorradora de nutrientes. El caso más implícito en esta acción es el mencionado por Dilworth et. al. (13) donde alimentó a pollos de engorda con dietas deficientes en aminoácidos azufrados. Los pollos suplementados con lactobacilos tuvieron un crecimiento similar a los alimentados con la dieta conteniendo el requerimiento total de aminoácidos, y un crecimiento superior al observado en el grupo alimentado con el alimento deficiente sin suplementación de lactobacilos.

El ahorro de nutrientes puede venir por síntesis de los mismos a nivel intestinal. Flores y Eravo (14) mencionan que la sustitución de 30 kg. de pasta de soya por 30 kg de sorgo suplementado con lactobacilos secretores de aminoácidos, mantuvo una producción similar a la obtenida con una dieta control en gallinas productoras de huevos para plato. Moore y Jewel (37) en una prueba similar con cerdos obtuvieron

resultados superiores al suplementar con los lactobacilos cuando se realizaba la sustitución de 34 kg. de pasta de soya por maíz, que cuando no se suplementaba.

La mayor cantidad de nutrientes disponibles para el huésped al utilizar probióticos en el alimento, salvo en el caso particular de los lactobacilos secretores de aminoácidos, no ha sido evaluado. El beneficio que se observa al utilizar los lactobacilos puede deberse a una menor destrucción de nutrientes o a una mayor síntesis de los mismos por la flora intestinal. La mayoría de los reportes coinciden en mencionar una flora bacteriana benéfica, sin recordar en que consiste este beneficio en una forma particular. (60)

Los mecanismos inhibitorios con los que cuentan los lactobacilos han sido mencionados por varios autores. (27, 32, 36, 40, 44, 52, 53, 55, 60) El más reconocido es la producción de ácido láctico. Este producto metabólico de los lactobacilos ha sido el tema de polémica desencadenado por varios autores. Henderick (22, 23) menciona que la presencia de este ácido orgánico tiene como consecuencia un aumento tal en el peristaltismo intestinal que se consideraba como una de las causas de la depresión del crecimiento y de la presentación de diarrea en los animales. Al aumentar la velocidad de tránsito intestinal se disminuye la digestibilidad y absorción de nutrientes. Además menciona que la fermentación de carbohidratos a nivel intestinal por estas bacterias, tiene como consecuencia una pérdida energética como ácido láctico, con lo que se disminuye la energía disponible para la producción.

Hay que recordar que la presencia de una flora bacteriana es, aunque se añadan antibióticos o probióticos, una causa de depresión del crecimiento, y que los resultados que se obtienen con un alimento sin deficiencias nutritivas en animales libres de gérmenes demostraron que la productividad de estos es superior a la observada en animales convencionales con el mismo alimento suplementado con un promotor del crecimiento. (67) Cualquier microorganismo que habite en el tracto digestivo necesitará consumir nutrientes que iban destinados al huésped, pero la acción de los promotores del crecimiento no es eliminar a todos los microorganismos, sino promover una flora que aunque consuma nutrientes, aporte beneficios al huésped.

La cuestión sobre el aumento del peristaltismo debido a la presencia de ácido láctico es una suposición que, a la fecha, no ha sido comprobada como negativa. Al contrario de este grupo de investigadores que determina una acción desfavorable causada por la presencia de ácido láctico, la mayoría de los investigadores lo mencionan como una sustancia favorable para la promoción del crecimiento. (9, 10, 24, 27, 32, 40, 42, 52, 53, 60) Pollman (43) en un estudio donde evaluó varios promotores del crecimiento, incluyó al ácido láctico, y al utilizarlo en el alimento a razón de 220 mg./kg. obtuvo resultados superiores al compararlo con un alimento control. La utilización de sustancias acidificantes en el alimento, cuya popularidad ha ido en aumento en los países

Europeos(49) ha aportado evidencia para considerar a los acidificantes como promotores del crecimiento mas que depresores del mismo.

La acción favorable que se observa con la presencia del ácido láctico, ya sea añadido directamente o producido por las bacterias en el tracto intestinal, es la inhibición de bacterias sensibles a la acidez, estas últimas consideradas en su mayoría, como dañinas al huésped. La reducción en las cuentas de E. coli es un ejemplo del tipo de organismos que se inhibe. Reportes de varios autores coinciden en la supresión o disminución de Salmonella spp., Shigella spp., Proteus spp., Staphylococcus spp., etc. reportandose un mejor estado de salud en los animales y menor susceptibilidad a contraer infecciones entéricas.(66) Stern (60) menciona que la mayoría de los organismos que causan problemas entéricos, sobreviven en un medio neutro o ligeramente alcalino, y que la sola acidez puede ser un factor altamente inhibitorio. Fuller (19), ajustó el pH de un medio de cultivo de agar a 4.5 con ácido láctico o con HCL. El crecimiento de E. coli fué inhibido por el pH bajo. El ácido láctico inhibió el crecimiento de E. coli y el efecto inhibitorio fué idéntico al de HCL. También reporta que la inhibición de E. coli en el tracto, es dependiente de la presencia de números suficientes de lactobacilos. Rantala y Nurmi (50) demostraron que un cultivo probiótico tenía la habilidad de prevenir el establecimiento de Salmonella infantis en el ciego de pollitas, aunque en este caso, los lactobacilos no fueron las únicas bacterias presentes.

La presentación de procesos diarreicos está acompañada por varios sucesos que vale la pena mencionar. Hablando de un caso cuya etiología es E. coli la diarrea viene a consecuencia de un aumento en la cuenta de coliformes y una reducción en la cuenta de bacterias lactoacidófilas. Durante la recuperación del estado de salud se observa una disminución en la cuenta de coliformes junto con un aumento en lactobacilos con reducción del pH intestinal. La adición constante de lactobacilos en el alimento permite mantener una cuenta de estos relativamente uniforme evitándose la presentación del cuadro infeccioso. Al mantener una relación positiva de lactobacilos sobre coliformes, el estado de salud del individuo a nivel subclínico es mejor que el observado en situaciones fluctuantes, (40) y esto último ha sido mencionado como una de las causas probables de la promoción del crecimiento observada al adicionar antibióticos en el alimento. (4, 21, 22, 23, 41, 42, 54, 66)

Otra de las propiedades bactericidas de los lactobacilos es la producción de peróxidos, (24, 27, 40, 60) estos productos químicos resultan letales para varios grupos de bacterias de las que cabe destacar el Clostridium parfringes. Se tiene conocimiento que esta bacteria causa una depresión del crecimiento de los animales, debida probablemente, a la producción de una enterotoxina. (4) La reducción en la cuenta del Cl. parfringes al utilizar lactobacilos en la dieta reduce la cantidad de toxina presente, mejorando la eficiencia productiva de los animales.

Se ha hablado mucho sobre la acción de ciertos metabolitos aislados de cultivos de lactobacilos que inhiben la acción de enterotoxinas. Estos metabolitos, en su mayoría desconocidos, no han sido identificados en todas las especies de lactobacilos, y los que han sido identificados son aquellos que interfieren en la enterotoxina de E. coli producidos por el L. bulgaricus, (40) el cual no se incluye en los probióticos por no tener la capacidad de sobrevivir el paso por el aparato digestivo. Mitchel y Kenworthy (36) investigaron la posibilidad de la interacción de las bacterias lactoacidófilas con la enterotoxina producida por E. coli patógena, nueve de once de las especies investigadas inhibieron el crecimiento de E. coli in vitro, mas no se concluyó en una acción directa contra la enterotoxina.

Han sido identificadas sustancias antibióticas en cultivos de lactobacilos activos contra una gran variedad de gérmenes como salmonelas, shiguelas, pseudomonas, estafilococos, estreptococos, kliebsielas, vibrio, coli, etc. (32, 55, 60) La presencia de estas bacterias en el tracto intestinal también ha sido identificada como causante de estados patológicos o depresiones del crecimiento.

La colonización intestinal ha sido el tema de varios estudios donde se ha intentado comprobar que la simple presencia física del lactobacilo a nivel epitelial evita la colonización del mismo por bacterias ajenas. Esta colonización ha sido reportada tanto en animales gnotobióticos como en

convencionales (16, 17, 18, 19, 27, 28, 40, 53, 58, 63, 64), y se considera como un factor importante de resistencia inespecífica a infecciones. (62, 66) Savage (53) indica que ciertas especies de lactobacilos son conocidas por su capacidad de asociarse a la superficie epitelial del canal alimentario de las aves y los mamíferos. Estas bacterias colonizan las superficies celulares en los primeros días de vida del animal y se adhieren a ellas a través de mecanismos que son relativamente específicos para los animales de donde derivan las cepas. Estos microorganismos colonizan el epitelio donde posteriormente se reproducen normalmente. Esta adhesión es importante puesto que permite que un gran número de estas bacterias permanezcan en el buche después de haber pasado el alimento, y la población que queda sirve para inocular la comida que entra y asegura la predominancia de los lactobacilos sobre la población de E. coli. (53) Smith (58) reporta que el buche de las aves normalmente contiene lactobacilos, los cuales predominan en número sobre coliformes y estreptococos. Esta población puede influenciar la población del intestino delgado de las aves, como lo demuestran los estudios realizados por Fuller y Turvey (16), donde se menciona que el buche de las aves es la fuente de lactobacilos para mantener el balance bacteriano en el intestino. El Dr. Bravo comenta que el uso de lactobacilos en el alimento de pollitas en crecimiento reduce la presentación de enfermedades entéricas y aumenta la resistencia a las infecciones por salmonela. Comentarios similares surgen sobre el uso de lactobacilos en cerdos al

verse reducidas las diarreas en lechonas inoculados vía el alimento con lactobacilos. (*)

Las cepas de lactobacilos podrán colonizar el tracto intestinal solo si existen las condiciones nutricionales y ambientales necesarias. (40, 50) Timms (63) fue capaz de demostrar que la población de los lactobacilos aumentó cuando las aves consumían dietas altas en carbohidratos. Lev y Briggs (28) reportaron que después de alimentar a pollitas con un cultivo de lactobacilos se estableció una microflora ácido láctica balanceada en el duodeno, ileón, y el ciego en 24 hrs.

* Comunicación Personal.

RESULTADOS COMPARATIVOS DE ENSAYOS UTILIZANDO ANTIBIOTICOS Y PROBIOTICOS

Tortuero (64), reporta sus resultados de una prueba en donde los pollos de engorda recibieron un cultivo de L. acidophilus. Los datos analizados fueron ganancia de peso, conversión alimenticia, digestibilidad de grasas, retención de nitrógeno, peso del ciego y de las heces, y cuenta de la flora ácido láctica y enterococos hasta los 15 días de edad. Utilizó 400 pollitos Hubbard sexados que fueron divididos en 4 grupos de 100 cada uno. Cincuenta machos y cincuenta hembras en cada grupo. Utilizó los siguientes tratamientos: 1) Control (ningún tratamiento). 2) L. acidophilus en el agua de bebida. 3) Antibiótico (bacitracina de zinc, 20 gm/ ton de alimento). 4) L. acidophilus en el agua de bebida mas el antibiótico en el alimento. Menciona que el ambiente en el experimento fue considerado como viejo, porque las instalaciones habían sido utilizadas por varios años. Los resultados indican que la implantación de los lactobacilos resultó en un efecto similar al observado con el antibiótico. Un aumento en la ganancia de peso y una mejor conversión alimenticia fue observada en el grupo alimentado en el antibiótico y el probiótico, aunque no hubo diferencias significativas. Se notaron diferencias significativas en digestibilidad de grasa y retención de nitrógeno. La implantación de L. acidophilus resultó en un peso inferior del ciego y las heces, lo cual no pudo ser relacionado directamente con la colonización del lactobacilo.

delgado fué reportado. A los nueve días de la prueba la población de enterococos había desaparecido casi completamente.

Dilworth y Day (13) condujeron un experimento para evaluar dos cultivos de lactobacilos como suplemento en dietas para pollo de engorda. En el experimento 1 las dietas fueron calculadas para contener seis niveles del cultivo probiótico de 0, 0.0250, 0.0375, 0.05, 0.625, 0.075 %. El añadir el cultivo probiótico resultó en una mayor ganancia de peso y mejor eficiencia alimenticia, significativa estadísticamente. El segundo experimento consistió en añadir el probiótico a 0.05, 0.1 y .2 %. En la mitad de estas dietas, los niveles de metionina mas cistina y lisina fueron restringidos a un 90% del requerimiento del grupo control. Las aves alimentadas con el probiótico en 2 de 3 comperaciones a niveles subóptimos de aminoácidos tuvieron ganancias de peso similares a las de las aves alimentadas con niveles normales de aminoácidos. La ganancia de peso no fué incrementada al añadir el probiótico en las dietas conteniendo el nivel adecuado de aminoácidos. No se reportaron diferencias en eficiencia alimenticia.

Crawford, (10) reportó los resultados de cuatro experimentos con pollo de engorda. Los estudios fueron desde el nacimiento hasta el peso al mercado. Los pesos promedio entre las aves alimentadas con el probiótico y el control fueron 1.88 kg y 1.83 kg. respectivamente. Sin embargo esta diferencia no fué significativa. La conversión alimenticia fué de 2.26 para los grupos alimentados con el probiótico y de

2.37 para el control.

Burkett et. al. (5), suplementó una dieta control de pollo de engorda con un lactobacilo, una levadura y una combinación de las dos. Las aves fueron criadas bajo condiciones comerciales. Después de 4 semanas las aves alimentadas con el probiótico tuvieron mejor eficiencia alimenticia. A las 8 semanas no hubo diferencias significativas en ganancia de peso entre los tratamientos. Las aves alimentadas con la combinación del probiótico y la levadura tuvieron la mejor pigmentación y el mejor depósito de grasa.

Couch (9) alimentó a pollos de engorda con un probiótico a razón de 454 g. por tonelada. Las aves suplementadas con los lactobacilos tuvieron un aumento de 47 gr. en el peso promedio, 0.4 % menos de mortalidad y 0.81 puntos de mejoramiento en conversión alimenticia. Adler y DaMassa (1) reportaron que alimentar a las aves con un cultivo de lactobacilos resultó en un mejoramiento del peso.

Kruger et. al. (26), condujo un estudio con gallinas Leghorn jóvenes para investigar la posibilidad de una interacción entre violeta de genciana y un cultivo de lactobacilos en la dieta. La violeta de genciana y los lactobacilos fueron añadidos a la dieta separadamente y en combinación a razón de 454 gr. y 2.27 kg./ton. respectivamente. Cuando fueron comparados con una dieta control la adición de violeta de genciana y el probiótico

aumentó la producción en 3.07% y 3.03 % respectivamente. La eficiencia alimenticia mejoró en 3.44 % y 7.41 % para la violeta de genciana y los lactobacilos respectivamente. Un aumento de 9.02 % en producción de huevo y un 10.51 % de mejora en eficiencia alimenticia resultó de la combinación del probiótico con la violeta de genciana. Ningún tratamiento influyó fertilidad o incubabilidad.

Charles y Duke (7) alimentaron a gallinas Leghorn blancas de 21 semanas de edad una dieta control y una suplementada con un probiótico durante periodos de 28 días. El probiótico fué suplementado a razón de .25 % de la dieta. Los resultados indicaron que no hubo diferencia significativa en producción de huevo durante los 6 primeros periodos, pero en los periodos del 7 al 12 hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$) en producción de huevo, a favor del probiótico. En un segundo experimento el probiótico fué añadido en niveles de 0, 32 o 64 gramos por kilogramo de la dieta. Las aves fueron alojadas en el piso y su edad era de 23 semanas al iniciar el experimento. El probiótico no tuvo influencia alguna en la producción de huevo.

Crawford (10), reportó los resultados de nueve pruebas realizadas con ponedoras comerciales usando un total de 101,615 gallinas. La producción promedio de huevo de las gallinas alimentadas con el probiótico fue de 72.17 % y de 69.5 % para los grupos control. Los kilogramos de alimento requeridos para producir una docena de huevos fueron mejorados de 1.69 a 1.75 a favor del probiótico.

Miles et. al. (33) incorporó un cultivo viable de L. acidophilus en las dietas de dos líneas comerciales de gallinas de postura en tres áreas geográficas diferentes en los Estados Unidos. El cultivo fue añadido a razón de 0.0125, 0.0375 o 0.0625% de la dieta. EL añadir el probiótico resultó en un aumento de la producción de huevo en Arizona, un aumento numérico en Florida y ninguna diferencia en Dakota del Sur. La unión de las tres pruebas resultó en una diferencia significativa en favor de las dietas conteniendo el probiótico. Arizona reporto una diferencia significativa en eficiencia alimenticia al nivel mas bajo del probiótico. El probiótico no influenció la calidad o el peso del huevo. En dos de los lugares las aves consumieron mas alimento durante la época de mas calor. Un aumento de los niveles de L. acidophilus acompañado de una reducción de coliformes en las secciones seleccionadas del intestino fué reportado en Florida. Un análisis posterior de la microflora no substanció esta observación.

Recientemente, Cerniglia et al. (6) condujo 5 experimentos en donde reporta la respuesta de las aves alojadas en el piso y en jaulas suplementadas con un "probiótico". En el primer experimento un producto líquido no viable de lactobacilos fué añadido al alimento de las aves a razón de .236, .473 y .709 litros por tonelada. No se observaron diferencias significativas en porcentaje de producción de huevo, consumo diario de alimento, mortalidad o

ganancia diaria de peso. En el experimento 2, un producto seco no viable de lactobacilos fué añadido al alimento en 227, 454 y 686 gr/ton. Unas dietas con "probióticos" fueron suplementadas con 25 gr. de bacitracina de zinc por tonelada. El único efecto benéfico observado fué un aumento en el porcentaje de huevos grandes y extragrandes de las aves alimentadas con la dieta conteniendo el nivel más alto del probiótico sin bacitracina. En el tercer experimento se evaluó el efecto de suplementar el alimento con un preparado seco viable de lactobacilos en una dieta con 14 y 17 % de proteína. No hubo diferencias en producción de huevo de 27 a 43 o de 27 a 70 semanas de edad de las aves. La adición del probiótico a la dieta con 17 % de proteína resultó en un aumento en el número de huevos grandes y extragrandes en el mismo período de tiempo. En los experimentos 4 y 5 el "probiótico" no influenció el comportamiento de las aves de varias edades desde la 1 a las 72 semanas.

Francis et. al. (15), condujo un experimento usando pavos Broad Breasted Large White para estudiar el efecto de añadir un cultivo probiótico o bacitracina de zinc o una combinación de ambas en la dieta. Aves de un día de edad fueron divididas en varios grupos. El L. acidophilus fué añadido de 0 a 750 mg por kilogramo. La bacitracina de zinc se añadió de 0 a 55 mg por kg. de dieta. Un alimento con base maíz y pasta de soya fué usado en el estudio. Las aves fueron alojadas en baterías hasta las 3 semanas. La adición de cualquiera de los dos aditivos resultó en una mejora numérica del peso y la

eficiencia alimenticia. Esta diferencia no fué tan grande cuando se utilizaron los 2 productos en el alimento. El probiótico resultó en un descenso significativo en la cuenta de coliformes y aerobios totales en el alimento en el canal digestivo. Cuando se usó solo bacitracina de zinc hubo un descenso significante en el nivel de coliformes y aerobios totales en el tracto digestivo, aunque esta disminución fué mayor con el probiótico solo. La cuenta total de lactobacilos fué superior en el tracto de los animales suplementados con el probiótico.

Potter (48) condujo un experimento con pavos Medium White de 0 a 16 semanas de edad para evaluar la influencia de un producto seco de L. acidophilus en la dieta. El probiótico se añadió al alimento en proporción de 0, 0.025, 0.05 y 0.075 %, el nivel mas bajo de probiótico aumentó ($p > 0.05$) el peso de 1.6 a 2.5% a 8, 10 y 12 semanas de edad. A las 16 semanas los pesos promedio fueron 5.55, 5.65, 5.58 y 5.65 kg. y la eficiencia alimenticia (ganancia/alimento) fué 0.422, 0.422, 0.423 y 0.426 para los pavos suplementados con 0, .025, .05 y .075 respectivamente. Los pesos y la eficiencia alimenticia no mostraron diferencias significativas.

Damron et. al. (11) reportó los resultados de dos experimentos los que tuvieron una duración de 112 días cada uno. Pavos Broad Breasted Large White fueron alojadas individualmente en jaulas en el experimento uno. En el segundo experimento fueron alojadas en corrales de 5 aves en el piso.

Cada dieta fué ofrecida a 5 repeticiones. Los tratamientos consistieron en un control maíz-soya y una dieta similar conteniendo 625 mg de un probiótico por kilogramo. La producción de huevo, consumo diario promedio, cambio de peso, fertilidad e incubabilidad no fueron influenciados por la adición del probiótico a la dieta en ningún experimento.

Miles et. al. (34, 35) condujo dos experimentos en donde 4800 codornices Bobwhite fueron alimentadas con una dieta maíz-soya en un alimento iniciador suplementado con un cultivo probiótico que contenía L. acidophilus y otro lactobacilo. En el experimento 1, tres dietas fueron usadas en cada uno de las pruebas para cuatro repeticiones de 200 aves por corral desde nacimiento hasta las 5 semanas de vida. Las tres dietas experimentales contenan 0, 250 y 625 mg/kg. respectivamente. Las dietas fueron producidas cada dos semanas para asegurar un cultivo viable durante el periodo experimental. En el segundo experimento se utilizó el mismo diseño salvo que los niveles se cambiaron a 0, 125, 250 y 375 mg/kg. Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas en crecimiento, eficiencia o mortalidad. La mortalidad durante este estudio fué mas alta de lo normal, aunque no se relacionó a ningún tratamiento. En otro experimento con codornices reproductoras de 80 semanas de edad, no se obtuvo ninguna mejora en ninguno de los parámetros mencionados.

Pollman, et. al. (45), condujo tres pruebas para

evaluar el efecto de los aditivos microbianos productores de ácido láctico en el comportamiento de cerdos en iniciación, crecimiento y finalización. Utilizó dos productos comerciales, Probios (L. acidophilus) y Feed-Mate 68 (Streptococcus faecium tipo Cernelle 68). En la primera de las dos pruebas en iniciación, 192 cerdos (de peso inicial de 7 kg.) fueron usados en un arreglo factorial de 2 x 4 de los tratamientos con Probios y antibióticos (ASP-250, lincomicina y tilosina). La adición de antibióticos, sin importar la fuente, mejoró ($p < .05$) la ganancia diaria promedio (GDP) y la conversión alimenticia (CA). La GDP y la CA fueron mejoradas en 2.6 y 3.6 % respectivamente, con probióticos ($p < .10$). Se sugirió una respuesta aditiva al combinar Probios con lincomicina. En la segunda prueba, con 224 cerdos, se evalúa la combinación de virginiamicina con Probios, Feed-Mate 68 y DL ácido láctico. El efecto antibiótico no fue significativo, la adición de los productos probióticos y del ácido láctico mejoró la CA ($P < .05$). Probios mejoró la GDP 9.7% y la CA 4.4% y Feed-Mate 68 redujo el comportamiento. Una prueba en crecimiento y engorda con 144 cerdos (con un peso promedio inicial de 34 kg.), para determinar el efecto de los probióticos, lincomicina o una combinación en GDP y CA de los cerdos. Los probióticos no afectaron el comportamiento, pero la adición de lincomicina aumento la GDP en 3.6 % y la CA en 2.5 % ($p < .10$).

En otro estudio Pollman et. al. (46) se utilizaron 72 cerdos (con un peso promedio inicial de 6 kg.) para estudiar el efecto de L. acidophilus en dietas de iniciación sobre

ganancia de peso, conversión alimenticia, cuentas fecales de lactobacilos y coliformes, hematología y proteínas séricas. Las dietas no medicadas eran maíz-soya (18 % de proteína) con dos niveles de lactosa (0 y 10%). Ha sido teorizado que la lactosa es necesaria para que el lactobacilo colonice el tracto digestivo. Una mitad de los cerdos recibieron 10 ml del inóculo de lactobacilos diariamente durante 2 semanas vía sondas estomacales. Dos inóculos fueron utilizados: agua (control) y L. acidophilus (LA) cepa DUS 1 (2×10^{11} de células viables/ml). Los cerdos que no recibieron el inóculo fueron asignados a una dieta con o sin Probios (4×10^6 células viables/gr.), un aditivo alimenticio conteniendo LA. Los tratamientos experimentales fueron : (1) control, (2) Probios, (3) inoculación de agua, (4) inoculación de L. acidophilus, (5) Lactosa + Probios, (6) Lactosa + inoculación de agua, (7) Lactosa + inoculación de L. acidophilus. La ganancia de peso y la conversión alimenticia no fueron afectadas significativamente por ningún tratamiento. Hubo una tendencia hacia mejorar la GDP con lactosa y Probios. La inoculación con agua redujo la GDP en 14.4 % en relación al comportamiento de los cerdos recibiendo las otras dietas. Esta reducción en GDP pareció estar relacionada con la tensión extrínseca causada por el proceso de inoculación. También alteró la flora fecal al reducir los lactobacilos ($p < .05$) y aumentar los coliformes ($p < .05$). La inoculación con L. acidophilus mejoró la GDP (11.0% y la CA (1.5 %). Aunque los productos probióticos tendieron a mejorar la GDP (7.2%), la respuesta con LA pudo ser

en función de la fuente de carbohidratos de la dieta. El inóculo con LA aumentó ($P < .05$) la cuenta fecal de lactobacilos. Después que la inoculación diaria fue suspendida, se notó un aumento en la cuenta de lactobacilos en el grupo inoculado con agua y una reducción de los mismos en el grupo inoculado con los microorganismos. Los cerdos inoculados con lactobacilos en combinación con la lactosa en la dieta tuvieron la mayor cuenta de lactobacilos y la mejor GDP. Probios no afectó ($p > .05$) las cuentas fecales de lactobacilos. Ni el inóculo de LA ni Probios fueron efectivos ($p > .05$) para suprimir E. coli. Los tratamientos con lactobacilos no afectaron ($p > .05$) la cuenta de glóbulos blancos o rojos, proteínas séricas o nitrógeno uréico de la sangre.

Hale y Newton (20), llevaron a cabo tres experimentos (uno con cerdos inmediatamente después del destete, con un peso inicial de 7.94 kg., uno con cerdos en crecimiento en un prueba de digestibilidad y balance de nitrógeno, con un peso inicial de 19.4 kg. y uno con cerdos en crecimiento y finalización alimentados individualmente, a los 19.0 kg. de peso inicial.) para evaluar los efectos de un producto no viable de fermentación de diferentes especies de lactobacilos sobre la incidencia de diarreas y el comportamiento productivo de los cerdos. En el experimento uno los cerdos alimentados con dietas suplementadas con .18, .36 o .72 ml/kg del producto con lactobacilos (lfp), requirieron menos alimento por unidad de ganancia de peso ($p < .05$) que los cerdos suplementados con 0 o 1.44 ml/kg lfp. No hubo

diferencias significativas ($p > .05$) en ganancia diaria promedio entre ninguno de los tratamientos. Las diarreas fueron reducidas ($p < .05$) en los cerdos alimentados con cualquiera de los niveles de lfp, sin embargo, los niveles de .36 y .72 ml/kg lfp fueron los mas efectivos.

La retención de nitrógeno, digestión de materia seca, nitrógeno, extracto etéreo, cenizas y "eln" fueron similares ($p > .05$) para los cerdos alimentados una dieta basal o una suplementada con .72 ml/kg. lfp. La digestión de la fibra cruda fué mejorada ($p < .05$) cuando se añadió lfp a la dieta.

EL comportamiento de los cerdos alimentados individualmente con dietas conteniendo .72 ml/kg líquido o .5, 1.0 o 2.0g lfp seco por kg de dieta desde un peso promedio inicial de 19.0 kg. hasta un peso promedio final de 94.6 kg. fué similar ($p > .05$) al de los cerdos alimentados individualmente con una dieta basal.

Pollman et. al. (47), condujo dos experimentos para determinar el efecto de un inóculo de L. acidophilus (LA) en animales convencionales y gnotobióticos. La localización y la población de L. acidophilus en el tracto gastrointestinal (GI), de 24 cerdos gnotobióticos (12 tratados y 12 controles) fué determinado por técnicas microbiológicas. Cada uno de los cerdos tratados recibieron un inóculo (2×10^{11} células viables/ml) del LA (cepa DDS 1) aislado de la leche. Los cerdos controles recibieron un inóculo de agua desionizada y esterilizada. El inóculo (10 ml) fué dado en la leche diario

por tres días empezando cuando los cerdos tenían 5 días de edad. A los 3, 5, 7 y 9 días postinoculación, los cerdos fueron sacrificados y los tejidos removidos de 7 posiciones diferentes dentro del GI. Un gramo de tejido y contenido fue homogenizado y diluido para cuentas en placas en agar MRS. El grupo tratado tuvo poblaciones mas altas de lactobacilos ($p < .001$) que los controles. La población de lactobacilos permaneció relativamente constante durante los cuatro periodos para el grupo tratado. La colonización no aparentó influenciar los metabolitos séricos pero si aumentó la cuenta de células blancas ($p < .05$). En el grupo tratado, el intestino grueso (ciego y colon) tuvo mayores poblaciones de lactobacilos ($p < .001$) que el estómago y el intestino delgado. Se tomaron muestras fecales para determinar la correlación entre cuentas fecales y tisulares de poblaciones de lactobacilos. Los coeficientes de correlación no fueron significativos, lo que sugiere que la cuenta de la flora fecal es un pobre indicador de la flora gastrointestinal. Un segundo experimento fue conducido para determinar los efectos del inóculo de LA sobre el crecimiento, cuentas de E. coli, cuentas de lactobacilos, hematología y proteínas séricas en cerdos lactantes. Cuando los cerdos eran de 2 días de edad todas las camadas (2 controles y 2 tratadas) fueron inoculadas diariamente con el cultivo de LA (10 ml/día) o con agua esteril, vía sondas estomacales por 3 días. Los cerdos fueron sacrificados y los tejidos procesados en la misma forma que en el experimento con cerdos gnotobióticos. Mientras los cerdos crecían las cuentas

de lactobacilos aumentaban linealmente ($p < .01$), sin importar el tratamiento. El inóculo de LA incrementó significativamente las poblaciones de lactobacilos y coliformes en la región cárdica del estómago. Al igual que con los cerdos gnotobióticos, los coeficientes de correlación entre flora tisular y fecal no fueron significativos. La ganancia diaria promedio fué reducida ligeramente ($p < .01$) con el inóculo de LA, y hubo un ligero aumento ($p < .01$) en la cuenta de células blancas para los cerdos convencionales.

La mayoría de los trabajos realizados en cerdos con probióticos han tenido como objetivo fundamental el evaluar el comportamiento de estos sobre el estado de salud de los animales, evaluando la incidencia de enfermedades digestivas, básicamente diarreas, y como segundo término la eficiencia productiva de los animales, utilizando pues los cultivos de probióticos como terapéuticos mas que profilácticos o promotores del crecimiento de los animales. (30, 38, 40, 51, 52)

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente revisión bibliográfica ponen en evidencia la importancia y trascendencia de los promotores del crecimiento en la producción de aves y cerdos.

La necesidad de contar con estos productos se hace evidente a través de los resultados comparativos que se mencionan al usarlos o no dentro de una explotación pecuaria. (4, 21, 22, 23, 41, 42, 66) No solo resalta la importancia de utilizar promotores del crecimiento, sino se denota la necesidad de regular su uso para lograr resultados eficientes con un bajo riesgo para la salud pública y animal. (3, 39, 59, 61, 66)

La regulación del uso de estas sustancias empieza con una definición completa de las mismas. Encontramos como la definición mas completa la mencionada por Scott (54), y aún esta está limitada en cuanto a los requisitos que deberá cumplir un promotor del crecimiento en el área de salud pública y animal.

Teniendo en cuenta los datos analizados a lo largo de este estudio se plantearía la definición del promotor del crecimiento de la siguiente forma:

Químicos, microorganismos o drogas, diferentes a los nutrientes, que fomentarán una mejor ingestión, digestión, absorción y/o transporte de nutrientes a través de la

modificación de la flora bacteriana intestinal, en un grado tal que incrementen la eficiencia productiva de los animales, sin presentar un riesgo potencial a la salud pública o animal.

Esta definición delimita los requisitos que deberá tener un promotor del crecimiento en cuanto a que se refiere a una mejor utilización del alimento, excluyendo a cualquier sustancia con la cual podrá observarse esta reacción, y que su mecanismo de acción difiera del citado como el fundamental de los promotores del crecimiento conocidos. (4, 21, 42, 66)

El mencionar los riesgos y delimitar los productos en base a los mismos es un concepto que deberá tornarse cada vez mas estricto en la regulación de los promotores del crecimiento. A lo largo de este estudio han sido mencionadas las inquietudes que surgen con respecto a la utilización de sustancias antibióticas en forma continua en la alimentación de los animales y las repercusiones que tiene esta práctica con la aparición de factores de resistencia a los antibióticos, (3, 40, 52, 59, 60, 65, 69) que se haya llegado a un límite o no en el uso de antibióticos es, estrictamente hablando, intrascendente en este momento, lo que deberá trascender es el conocimiento del riesgo, y con este instrumento lograr reducirlo a su mínima expresión.

Habiendo llegado a este punto vale la pena mencionar varios conceptos sobre los promotores del crecimiento antibióticos que, deberán ser base para regularlos

y evitar los riesgos que se mencionan en la definición planteada.

1.- El antibiótico promotor del crecimiento deberá ser utilizado únicamente para esta función, evitándose el uso de sustancias con las que se obtengan mayores beneficios al utilizarlas como terapéuticos o profilácticos.

2.- El antibiótico que se utilice como promotor del crecimiento no deberá ser similar a los utilizados para el tratamiento de enfermedades en medicina humana.

3.- El antibiótico que se utilice deberá tener un período de retiro suficientemente amplio para evitar residuos en los productos animales, y de preferencia este antibiótico no se deberá absorber por vía digestiva.

Estas restricciones están de acuerdo con las inquietudes mencionadas por Williams y Solomon durante el simposium sobre el uso de drogas en la alimentación animal. (59, 69)

Tomando en cuenta estos puntos un promotor del crecimiento antibiótico se refiere a aquella sustancia antibiótica que al ser añadida en el alimento, en dosis más bajas que la terapéutica, cuya única indicación sea el promover el crecimiento de los individuos que lo ingieran, y que el uso del mismo no implique la presencia de residuos en la carne, mejore la conversión alimenticia y la velocidad del crecimiento de quien lo ingiera.

Analizando las acciones que se mencionan sobre los antibióticos promotores del crecimiento, encontramos una serie de coincidencias en los puntos de vista de varios autores y una serie de reacciones que resultan ser consecuencia de interacciones no especificadas.

Ciertamente la inclusión de un antibiótico en el alimento de los animales tendrá como efecto primario una inhibición de las bacterias sensibles a este. Que bacteria en particular, como lo pudimos observar a lo largo de este estudio, no se ha logrado llegar a una conclusión sobre este punto.

La mención de la reducción de bacterias patógenas, productoras de toxinas, competidoras de nutrientes con el huésped o destructoras de estos, ha sido el único punto en el cual la mayoría de las investigaciones sobre los antibióticos están de acuerdo (4, 21, 22, 23, 41, 42, 59, 60, 64, 68). Que estas bacterias puedan ser coliformes, lactocidofilas, gram(+), gram(-), aerobias, anaerobias, etc., no ha sido determinado.

Existen casos en donde la inhibición de lactobacilos y el aumento de coliformes ha ido acompañado con una mejor eficiencia alimenticia y casos completamente inversos en cuanto a la población bacteriana pero con resultados similares. Han surgido evidencias que tienden a eliminar las teorías sobre los efectos de los antibióticos sobre la flora bacteriana aerobia o facultativa tendiéndose a

explicar la promoción del crecimiento a través de la inhibición de bacterias del tipo anaerobio. (67, 70)

Esto pone en evidencia la importancia que representa la investigación sobre la flora bacteriana intestinal, el desconocimiento de la misma se hace patente al revisar los datos sobre los mecanismos de acción de los promotores del crecimiento. (4, 21, 22, 23, 41, 42, 59, 60, 66, 68). Todos los investigadores tienden a mencionar como efectos de la adición de promotores del crecimiento un ahorro de nutrientes, una mejor absorción de los mismos, un reducido índice de hidrólisis de productos metabólicos, etc. Pero caén en el error de tomar estos datos como el efecto primario del promotor del crecimiento, error sumamente costoso para la investigación de estos productos ya que se ha relegado a segundo término el efecto primario de esta práctica que radica en los cambios que aparecen dentro de la flora bacteriana intestinal. A la fecha todos coinciden en que se presenta una modificación de la flora bacteriana, pero ¿hasta que nivel ha sido estudiada esta? Se menciona a lo largo de este análisis la falta de definición en cuanto a lo que representa una flora bacteriana dañina o benéfica, punto del que debería partir toda afirmación sobre la acción de los promotores del crecimiento.

Esta falta de conocimiento se hace mas patente al analizar la utilización de probióticos como promotores del crecimiento. Mencionamos que esta practica de control biótico de la flora bacteriana es promover una competencia ecológica

entre las bacterias mencionadas como benéficas, que en la mayoría de los casos se refiere a los lactobacilos, y el resto de la flora bacteriana intestinal, tratando de reducir las cuantías de ciertos grupos de bacterias que se tienen clasificadas como dañinas por su presencia en el tracto intestinal. Sin embargo aún los mismos lactobacilos han sido objeto de polémica al ser mencionados por varios investigadores como causantes de depresiones del crecimiento en los animales. (22, 23)

El papel que juega la flora bacteriana en su relación con el huésped ha sido estudiado, sin embargo, falta mucho por esclarecer en cuanto a los organismos que la componen. Existen evaluaciones en animales libres de bacterias y animales gnotobióticos que han logrado obtener resultados positivos al manipular los componentes de la flora bacteriana a través de monocultivos, habiéndose encontrado bacterias que por sí solas producen una depresión en el crecimiento de los animales. (29, 47, 70)

Se ha caído en el mismo error al mencionar la presencia de una flora bacteriana benéfica, los beneficios que se mencionan son el resultado de la interacción de los componentes de la flora al incluirse el promotor del crecimiento, pero la composición de esa flora sigue siendo desconocida para nosotros.

Todo esto representa un reto para la investigación, la cual deberá tomar en cuenta todos los

factores que representa el uso de promotores del crecimiento en el alimento de los animales, para poder obtener el mejor beneficio de los mismos.

Aunque realmente haga falta mucha investigación sobre este tema, las investigaciones existentes han puesto de manifiesto la importancia económica que representa el uso de promotores del crecimiento. Los beneficios observados al usarlos son innegables, se observan resultados superiores al usar promotores del crecimiento en la alimentación de los animales, que cuando se mantiene un alimento libre de los mismos.

Este efecto ha sido mucho más estudiado para el caso de las sustancias antibióticas, que aunque no siempre, en la mayoría de los casos se observa una mejor eficiencia alimenticia de los individuos que lo ingieren.

La utilización de probióticos para este fin, aunque no una práctica nueva, ha representado una serie de resultados más difícil de definir como benéfica que la adición de antibióticos.

Esta indefinición, o para llamarla de otra forma, inconsistencia de resultados, viene a ser un punto ciertamente razonable. Las variables que se manejan al intentar realizar una manipulación de la flora bacteriana intestinal son mucho más complejas en el caso del control biótico, (probiosis) que en el caso del control antibiótico.

A lo largo de esta recapitulación se menciona una serie de requisitos que deberán buscarse en los productos probióticos para que se obtengan de estos los beneficios esperados. Pero no son estos requisitos las únicas variables de las que depende el éxito en el empleo de probióticos sino que habrá que cumplir con varios requisitos extras para lograr resultados favorables.

Los microorganismos que se empleen no solo deberán cumplir con ser viables sino que la cantidad empleada deberá ser suficientemente grande para lograr una colonización del tracto. Muralidhara (40) menciona que uno de los defectos de los preparados de lactobacilos es el número insuficiente de bacterias viables por dosis, y esto tiene como consecuencia que no exista una colonización adecuada del tracto intestinal, con lo cual, no se observa ningún beneficio al incluir estos preparados. Recordemos que la capacidad de implantación de las bacterias varía dependiendo de la especie que se utilice, de la cepa y del huésped al cual va destinado, no solamente a la capacidad de sobrevivencia o el número de bacterias empleadas.

El suministro del probiótico deberá ser constante. La flora bacteriana intestinal no es un ente inerte, sino que tiende a cambios constantemente. Esto se hace patente al estudiar la flora bacteriana de los animales lactantes. Esta, durante este período, está compuesta por una elevada población de lactobacilos, al momento del destete, o en el caso de tensión, la población bacteriana se modifica

aumentándose la cantidad de coliformes y disminuyendo la cuenta de lactobacilos. Al utilizar lactobacilos constantemente en el alimento de estos animales, se observa que se mantiene relativamente estable la composición de la flora aún en estos periodos, y en cambio cuando a estos animales les fueron retirados del alimento los lactobacilos sufrán los cambios mencionados en la población bacteriana. (27, 40, 52, 53)

Otro punto que se menciona como importante para lograr una implantación adecuada de los probióticos es que estos deberán contar con una fuente de carbohidratos disponible. (27, 53) Es un error común el que se menciona que será necesario utilizar lactosa para lograr una implantación adecuada de los lactobacilos por relacionarse el nombre de estos con la lactosa, sin embargo hay que recordar que lactobacilo se refiere a un bacilo productor de ácido láctico no a un bacilo dependiente de lactosa.

Los lactobacilos, al igual que cualquier organismo viviente requieren de una fuente de energía para realizar sus funciones metabólicas. Se han hecho varias evaluaciones para determinar la mejor fuente de carbohidratos para promover la implantación de estos encontrándose que una dieta sorgo-soya es suficiente para lograr la implantación adecuada, sin ser necesario la inclusión de algún producto extra. Aún así es notoria la diferencia en el número de bacterias cuando se aumenta la cantidad de carbohidratos presentes en la dieta. (63)

Quando se utilizan probióticos en el alimento de los animales deberá evitarse el uso de antibióticos a los cuales es sensible la bacteria contenida en el preparado. (27, 53) Logrado el establecimiento del probiótico, el uso de antibióticos tendrá como consecuencia un nuevo desbalance en la flora bacteriana intestinal, con lo que los efectos benéficos se verían reducidos o eliminados, tornándose más difícil una nueva colonización con este preparado ya que las bacterias presentes deberán de competir con la flora existente y con el antibiótico teniéndose que aumentar la dosis a proporciones elevadas.

La mayoría de los productores de este tipo de aditivos mencionan que antibióticos no deberán utilizarse cuando se emplee el preparado probiótico.

Habiendo llegado a este punto vale la pena mencionar una definición más completa sobre los probióticos, se definiría a este aditivo alimenticio de la siguiente forma:

Un probiótico es un preparado viable en base a un cultivo de bacterias, inocuas desde el punto de vista patológico, cuyas características incluyan la capacidad de sobrevivir el paso por el tracto intestinal, la capacidad de colonización del mismo y una capacidad de inhibición tal que permita obtener una flora bacteriana estable y benéfica.

Hace falta recalcar la diferencia que existe entre un preparado viable, o sea un probiótico, y un preparado que contenga los productos de la fermentación de las bacterias.

Varias son las personas que confunden estos conceptos en uno solo, como se menciona en el texto los productos de la fermentación de un microorganismo no pueden ser considerados como probióticos ya que realmente la acción que ejercen estos es la antibiosis. Poniendo como ejemplo al ácido láctico producido por los lactobacilos nos estamos refiriendo a una sustancia con actividad antibiótica, ya que la adición de esta, por si sola, va acompañada de una inhibición de las bacterias sensibles a la acidez, y aunque esta reacción promueva la proliferación de cierto grupo de bacterias, no se está añadiendo la bacteria en si, lo que resulta igual que utilizar un antibiótico. (43)

Faltaría mencionar un aspecto muy importante en cuanto a la modificación por el hombre del microambiente intestinal y en general de todos los sistemas ecológicos en los que nos vemos incluidos. Gracias a los avances de la ciencia, cada vez mas espectaculares, el hombre ha logrado obtener beneficios importantes de todo cuanto nos rodea. El simple descubrimiento de un científico descuidado como Fleming ha salvado millones de vidas, aún así no parece que tomamos en cuenta la importancia de los daños que puede ocasionar el uso indebido de la penicilina. Imaginemos que por descuido los niveles de dosificación de los antibióticos llegen al máximo de toxicidad aceptado, habremos retrocedido muchos años en lugar de avanzarlos. La regulación de estos medicamentos deberá convertirse cada vez mas, en una medida estricta, para que de esta forma obtengamos el mayor provecho de estas

sustancias.

No se trata de prohibir el uso de los promotores del crecimiento antibióticos, ni de recomendar la exclusividad de los probióticos como tales, se muestra una opción interesante, con la cual el riesgo que se ha mencionado acerca de los factores de resistencia de los antibióticos se reduce. Habrá que crear conciencia en cuanto a la importancia de estos factores y recalcar, como varios autores lo mencionan, que un promotor del crecimiento no sustituye a un programa sanitario adecuado. La respuesta hacia este tipo de aditivos se reduce al utilizar nuevas instalaciones o instalaciones con medidas sanitarias adecuadas, y quien sabe si mejorando cada vez mas estas condiciones la respuesta de los animales a los promotores dejara de ser suficiente como para que reditus el uso de las mismas.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Adler H.E. and DeMassa A.J., Effects of —ingested lactobacilli on Salmonella infantis and Escherichia coli and on intestinal flora, pasted vents and chick growth, Avian Dis. **24** : 868-878, (1980).
- 2) Anderson W.: Growth Promotion Alternatives Cullined, Feedstuffs **54,26**: 3, Miller Publishing Co., Minneapolis, Minnesota, U.S.A., (1982).
- 3) Anonimo, International Feedback: Ban on antibiotic growth promoters, Feed International **6**: 47, Watt Publishing Co, Mount Morris, Illinois U.S.A., (1985).
- 4) Bird H.R.: Biological basis for the use of drugs in poultry feeds, The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 31-41, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).
- 5) Burkett R.F., Thayer R.H. and Morrison R.D., Supplementing market broiler rations with Lactobacillus and live yeast cultures, Anim. Sci. Agri. Res. Rep., Oklahoma State University and USDA, USA, (1977).
- 6) Cerniglia G.J. Goodling A.C. and Herbert J.A., The response of layers to feeding lactobacillus fermentation products, Poult. Sci. **62**: 1399, (1983).
- 7) Charles O.W. and Duke S. , The response of laying hens to dietary fermentation products and probiotic-antibiotic

combinations, Poult. Sci. 57: 1125, (1978).

8) Conn H.O. and Floch M.H.: Efectos of Lactulose and Lactobacillus acidophilus on the fecal flora, Am. J. Clin. Nutr. 23: 1538-1544, (1970).

9) Couch J.R., Poultry researchers outline benefits of bacteria, fungistatic compounds, other feed additives, Feedstuffs 50:(14)6, (1978).

10) Crawford J.S. "Probiotics" in animal nutrition, Proceedings 1979 Arkansas Nutrition Conference, pp 45-55, USA, Arkansas Nutrition Conference, (1979).

11) Damron E.L., Wilson H.R., Voitle R.A. and Harms R.H., A mixed lactobacillus culture in the diet of Broad Breasted Large White turkey hens, Poult. Sci. 60: 1350-1351, (1981).

12) De Kriuf P. : Los Cazadores de Microbios, 1 ed. Editorial Diana, México, D.F., (1957).

13) Dilworth B.C. and Day E.J., Lactobacillus cultures in broiler diets, Poult. Sci. 57: 1101, (1978).

14) Flores L.L. y Bravo F.O.: Empleo de bacterias secretoras de aminoácidos en la alimentación de aves de postura, Memorias de la VII Convención Nacional Anual de ANECA, Guadalajara, Jal., s/n Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, México D.F. (1982).

15) Francis C., Janky D.M., Arafa A.S. and Harms R. H.

Interrelationship of Lactobacillus and zinc bacitracin in the diets of turkey poults, Poult. Sci. **57**: 1687-1689, (1978).

16) Fuller R. and Turvey A., Bacteria associated with the intestinal wall of the Fowl (Gallus domesticus), J. of Appl. Bact. **34**: 617-622, (1971).

17) Fuller R., Ecological studies on the lactobacillus flora associated with the crop epithelium of the fowl, J. of Appl. Bact. **36**: 131-139, (1973).

18) Fuller R., Nature of the determinant responsible for the adhesion of Lactobacilli to chicken crop epithelial cells, J. Gen. Microbiol. **87**: 245-250, (1975).

19) Fuller R. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop, Br. Poult. Sci. **18**: 85-94, (1977).

20) Hale O. M. and Newton G.L. Effects of a nonviable Lactobacillus species fermentation product on performance of pigs, J. Anim. Sci. **48**: 770-775, (1979).

21) Hays V.W.: Biological basis for the use of antibiotics in livestock production, The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 11-30, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

22) Henderickx H. K., Decuyper J. and Vervaeke I.: The mode of action of some feed additives, Second International Stafac Symposium, Des Moines, Iowa, 1976, 20-38, Smith, Kline Animal

Health Products, Des Moines, Iowa (1976).

23) Henderickx H.K.: The nutrient effect of virginiamycin as additive in pig feeding, Tercer Simposio de Virginiamicina, Manzanillo, Col., 1981. 29-63. Smith Kline (Norden de Mexico), Mexico D.F. (1981).

24) Jernigan M.A., Miles R.D. and Arafa A.S.: Probiotics in poultry nutrition-a review, Wild. Poult. Sci. 41: 99-107, (1985).

25) Kingma F.J.: Criteria for establishing and monitoring permissible drug residue levels, The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 270-279, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

26) Krueger W.F., Bradley J.W. and Patterson R.H., The interaction of gentian violet and lactobacillus organisms in the diet of Leghorn hens, Poult. Sci. 56: 1729, (1977).

27) Landerreche G.M.E.: Recopilacion sobre los efectos de adiccion de lactobacilos en el alimento de los cerdos, XX Reunion A.M.V.E.C. 85, Merida Yuc. 46-48, Asociacion Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, Mexico D.F. (1985).

28) Lev H. and Briggs C.A.E., The gut flora of the chicken. II The establishment of the flora, J. of Appl. Bact. 19: 224-230, (1956).

29) March B.E.: The host and its microflora: an ecological unit, J. Anim. Sci. 49: 857-867, (1979).

30) Martínez A., Sánchez H., López J.R. y Morilla G.A.: Efecto del tratamiento combinado de Lactobacillus a la cerda y al lechón sobre la presentación de diarrea, II Congreso Nacional A.M.V.E.C., Mazatlán Sinaloa 1984, 133-135, Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos México (1984).

31) Maynard L.D. and Loosli J.K.: Animal Nutrition, 6 ed, Mc Graw Hill Book Co. New York U.S.A., (1969).

32) Nikolajeik E.M. and Hamdan I.Y.: Lactobacillus acidophilus I: Growth characteristics and metabolic products, Cultured Dairy Prod. J. 10: 11-15, (1975).

33) Miles R. D., Arafa A.S. Harms R.H. Carlson S.W., Reid B.L. and Crawford J.S., Effects of a living non-freeze dried Lactobacillus acidophilus culture on performance, egg quality and gut microflora in commercial layers. Poult. Sci. 60: 993-1004, (1981a)

34) Miles R.D., Wilson H.R., Arafa A.S., Coligado E.C. and Ingram D.R., The performance of Bobwhite quail fed diets containing lactobacillus. Poult. Sci. 60: 894-896, (1981b)

35) Miles R.D., Wilson H.R. and Ingram D.R., Productive performance of Bobwhite quail fed a diet containing a lactobacillus culture, Poult. Sci. 60: 1581-1582, (1981c).

36) Mitchel I. de G. and Kenworthy R., Investigations on a metabolite from Lactobacillus bulgaricus which neutralizes the effect of enterotoxin from Escherichia coli pathogenic for

pigs, J. Appl. Bact. 41: 163-174, (1974).

37) Moore R.J., Jewel D.E. and Veum T.L.: Effect of dietary Lactobacillus on growth and performance of pigs fed a low protein-low lysine diet, Swine Res. 273: 49-52, (1984).

38) Morilla G.A.: Diarreas virales en los cerdos, Symposium sobre la presentación y el control de las diarreas en cerdos, México 1984, 29-33, A.M.V.E.C. México, Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, México D.F. (1984).

39) Morrison A.B. and Munro J.C.: Appraisal of the significance to man of drug residues in edible animal products, The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 255-269, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

40) Muralidhara K.S., Shegheby G.G., Elliker P.R., England D.C. and Sandine W.E.: Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets, J. Ed. Prot. 40: 260-295, (1977).

41) Mygind G & Rasmussen: Feed additives for porkers, background of the use of feed additives for porkers, VI Simposio Virginiamicina, Puerto Rico 1984, 47-56, Smithkline Beckman Co. Puerto Rico (1984).

42) Mygind G. & Rasmussen: Facts about feed antibiotics and why use virginamycin, VI Simposio Virginiamicina, Puerto Rico 1984, 57-63, Smithkline Beckman Co. Puerto Rico (1984).

43) Odum E.P., Ecología, publicado por: Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V., pp 6-37, Interamericana, Mexico, D.F., (1972).

44) Pedreira M. E. y Cabrera A.: Los probióticos: definición, modo de acción y usos en sanidad y nutrición animal. VII Convención Anual de ANECA, Guadalajara, Jal. 1982, s/n, Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, México D.F. (1982).

45) Pollman D.S., Danielsen D.M. and Peo E.R. Jr., Effects of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs, J. Anim. Sci. **3**: 577-581, (1980).

46) Pollman D.S., Danielsen D.M., Wren W.B. Peo E.R. Jr., and Shahani K. M., Influence of Lactobacillus acidophilus inoculum on gnotobiotic and conventional pigs. J. Anim. Sci. **3**: 629-637, (1980).

47) Pollman D.S., Danielsen D.M. and Peo E. R. Jr., Effect of Lactobacillus acidophilus on starter pigs fed a diet supplemented with lactose, J. Anim. Sci. **3**: 638-644, (1980).

48) Potter L.M., Newbern L.A., Parsons C.M., Shelton J.R. and Crawford J.S., Effect of protein, poultry by-product meal and dry Lactobacillus acidophilus culture additions to diets of growing turkeys, Poult. Sci. **58**: 1095, (1979).

49) Puchal F.: Ultimos avances en la utilización de

acidificantes en nutrición porcina. Simposio "Avances Recientes en la Nutrición del Cerdo", México D.F. 1983, sin num. A.N.V.E.C., Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos México D.F. (1983).

50) Rantala M. and Nurmi E., Prevention of the growth of the Salmonella infantis in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens, Br. Poultry Sci. **14**: 627-630, (1973).

51) Redmond H.E. and Moore R.W.: Biologic effect of introducing Lactobacillus acidophilus into a large swine herd experiencing enteritis, The Sw. Vet. **18**: 15-17, (1965).

52) Sandine W.E., Muralidhara K. S. Elliker P.R. and England D.C., Lactic acid bacteria in food and health: a review with special reference to enteropathogenic Escherichia coli as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli, J. Fd. Technol. **35**: 691-702, (1972).

53) Savage D., Mode of action and potential of Probiotics. Proceedings of the Florida Nutrition Conference, pp. 2-38, USA, Florida Nutrition Conference, Florida U.S.A. (1981).

54) Scott M.S., Nesheim M.C. and Young R.J., Nutrition of the Chicken, 3th. ed. M. L. Scott and Associates Publishers, Ithaca, New York, (1982).

55) Shahani K.M., Wakii J.R. and Kilera A.: Natural Antibiotic activity of Lactobacillus acidophilus and bulgaricus, 1: Cultural conditions for the production of antibiotics, Cult.

Dairy Prod. J. 11: 14-17, (1976).

56) Shaible P. J., Poultry: Feeds and Nutrition, 2th ed., The Avi Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, (1976).

57) Shimada A. S., Fundamentos de Nutricion Animal Comparativa, 1a. ed., Copy-Graf S.A., Mexico, (1983).

58) Smith H. N., Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition, J. Patho. Bacteriol. 39: 95-122, (1965).

59) Colomons J.A.: Antibiotics in animal feeds, J. Anim Sci 46: 1360-1368, (1978)

60) Stern R.M.: The rationale of Lactobacillus acidophilus in feeding programs for livestock. The Thirty Sixth Minnesota Nutrition Conference, Bloomington, Minnesota 1975: 191-199, University of Minnesota Minnesota U.S.A. (1975).

61) Sutherland G.C.: Principles for establishing withdrawal periods for feeds containing drugs. The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 244-254, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

62) Sydney M.F.: Interaction of antimicrobial therapy and intestinal flora, Am. J. Clin. Nutr 23: 1466-1471, (1971).

63) Timms L., Observations of the bacterial flora of the alimentary tract in three groups of normal chickens, Br. Vet. J. 124: 470-473, (1968).

64) Tortuevo F. , Influence of implantation of Lactobacillus acidophilus in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora, Poult. Sci. 52: 197-203, (1973).

65) Van Houweling C.D. and Gainer J.H.: Public health concerns relative to the use of subtherapeutic levels of antibiotics in animal feeds, J. Anim. Sci. 46: 1413-1424, (1978).

66) Visek W.J.: The mode of growth promotion by antibiotics, J. Anim. Sci., 46: 1447-1469, (1978)

67) Waxler G.L.: The role of "Specific Pathogen Free" system for improving animal production, The Use of Drugs in Animal Feeds, Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 114-122, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

68) Wiedemann B.: The reaction of the intestinal flora of hens as influenced by different flavomycin concentrations and tests concerning the question of infectious resistance, Flavomycin Symposium, Rottach-Egern 1969, 72-81, Hoechst A.G., Alemania (1969).

69) Williams S.H.: The influence of antimicrobial drugs in animal feeds on the emergence of drug resistance disease producing bacteria in animals, The Use of Drugs in Animal Feeds, Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 304-317, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

70) Westmann B.S.: The gnotobiotic animal as a research tool,

The Use of Drugs in Animal Feeds. Proceedings of a Symposium, Washington D.C. 1969, 124-

134, National Academy of Sciences, Washington D.C., (1969).

71) Wyatt R.D.: Los inhibidores de hongos, La pura verdad (parte#2), Avicultura Profesional 3, 3: 104-105, Avicultura Profesional Inc., Athens Georgia U.S.A., (1985).