



**UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**Tesis presentada en opción al Título Académico de Master en Ciencias
Agrícolas**

*Efecto probiótico del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla,
en indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes y preceba.*



**Autora: Ing. Marvelys Socorro Ortega
Tutoras: Dra. C. Ana Julia Rondón Castillo
Dra. C. Grethel Milián Florido**

Matanzas, 2016



**UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**Tesis presentada en opción al Título Académico de Master en Ciencias
Agrícolas**

**Efecto probiótico del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla, en
indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes y preceba.**

**Autora: Ing. Marvelys Socorro Ortega
Tutoras: Dra. C. Ana Julia Rondón Castillo
Dra. C. Grethel Milián Florido**

Matanzas, 2016

PENSAMIENTO

El único camino abierto a la prosperidad constante y fácil es el de conocer, cultivar y aprovechar los elementos inagotables e infalibles de la naturaleza.

José Martí

DEDICATORIA

- *A mis hijas Maria Laura y Claudia por ser mi fuente de inspiración.*
- *A mi madre por ser la mejor del mundo y por su gran comprensión.*
- *A mi padre, que me educó y me enseñó a ser una persona de bien, mientras la vida se lo permitió y a mi suegro que fue como un padre para mí. Siempre estarán presentes en mi corazón.*
- *A mi compañero de vida Alexeis, por su dedicación, comprensión y por ser un padre excepcional.*
- *A mi hermana Midalys, que sin su apoyo y ayuda con mis padres, no hubiera sido posible alcanzar esta meta.*

AGRADECIMIENTOS

Hacer mención especial a mi tutora, la Dra. C. Ana Julia Rondón Castillo por brindarme su apoyo constante, por su disposición en cualquier circunstancia y por demostrarme su confianza en que este trabajo se realizaría satisfactoriamente.

Marta Laurencio, sabes que eres una hermana para mí, te doy las gracias por todos esos ratos buenos y malos que hemos compartido, pero sobre todo, te doy las gracias por haberme brindado una amistad tan sincera y hermosa.

También quiero agradecer la inestimable ayuda de mis amigas Ileana Mestre, Yordanis Martínez, a la MSc. Dianela Ibáñez, Yamilet, Mabelkys Terry, Marlene Martínez Mora y muy especial a Lenia Robledo.

A las compañeras Margarita y Lourdes de la secretaría, por su apoyo cada vez que lo necesité.

También deseo extender mi gratitud de forma explícita al resto de mis amigos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, destacando a los que me han ayudado sustancialmente con sus conocimientos y experiencias a perfilar y mejorar la interpretación teórica y práctica de los resultados investigativos.

A mi amiga la Dra. C. Leticia Fuentes por brindarme su apoyo y ayuda incondicional en todo momento.

A la Dra. C. Grethel Milián por su valiosa asesoría en todo lo relacionado con el trabajo en la parte de *Bacillus*.

Al MSc. Agustín Beruvides por su ayuda y asesoría en la aplicación de los biopreparados durante las fases de lactancia y preceba de cerdos.

A los compañeros del Centro de Estudios de Biotecnología, en especial a la Dr.C. Aymara Valdivia.

También y no por ultimo menos importante, a mis compañeros de trabajo del aeropuerto, a todos gracias.

En fin, resulta difícil expresar en pocas palabras el eterno agradecimiento que les debo a todas aquellas personas que ayudaron a la ejecución y culminación de este trabajo.

A todos, muchas gracias.

DECLARACIÓN DE AUTORIDAD

Yo, Marvelys Socorro Ortega declaro que soy la única autora de la presente tesis en opción a Máster en Ciencias Agrícolas, en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas, Sede “Camilo Cienfuegos”, a hacer uso de la misma, con la finalidad que estime conveniente.

Ing. Marvelys Socorro Ortega

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto probiótico de los bioproductos PROBIOLACTIL[®] y SUBTILPROBIO[®], así como su mezcla en indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes y en preceba. Para ello, se elaboraron los biopreparados y se comprobó la calidad microbiológica de los mismos a través de técnicas de conteo bacteriano, según las normas establecidas. Se desarrollaron dos experimentos en las categorías de lactancia y preceba con un diseño completamente aleatorizado, donde se evaluaron indicadores productivos y de salud, en el que se incluyeron cuatro tratamientos: I. Dieta basal (Control); II. Dieta basal + PROBIOLACTIL[®]; III. Dieta basal + SUBTILPROBIO[®] y IV. Dieta basal + Mezcla de ambos biopreparados. Por último, se realizó un análisis preliminar de la factibilidad económica del uso de estos productos. Como resultado, se comprobó que los aditivos y su mezcla mejoraron todos los indicadores, expresándose mayores efectos en los cerdos que consumieron el PROBIOLACTIL[®]. Los biopreparados evaluados produjeron beneficios en los animales, ya que mejoraron la eubiosis del tracto gastrointestinal, lo cual contribuyó a incrementar ($P \leq 0,05$) el peso vivo y la ganancia de peso diaria de los animales. Por otra parte, mejoró la conversión alimenticia y disminuyó la incidencia de diarreas en los animales tratados. La aplicación de los biopreparados le confirió a la crianza de los animales beneficios económicos por concepto de mejora de los indicadores productivos y la disminución de los gastos en medicamentos. Los resultados confirman el potencial probiótico que tienen estos biopreparados cuando se aplican a cerdos durante la lactancia y la preceba.

Palabras clave: Probióticos, cerdos, Lactobacillus salivarius, Bacillus subtilis y aditivos nutricionales.

Abstract

The objective of this study was evaluate the effect of probiotics PROBIOLACTIL® and SUBTILPROBIO® and its mixes on productive and health indicators in lactating and pre-fattening pigs. To do this, the biological preparations were made and the microbiological quality of them through techniques bacterial count was found, according to established standards. Two experiments were developed in the categories of breastfeeding and pre-fattening with a completely randomized design, where production and health indicators were evaluated. The experiments included four treatments: I. Basal diet (Control); II. Basal diet + PROBIOLACTIL®; III. Basal diet + SUBTILPROBIO® and IV. Basal diet + Mix both Biopharmaceuticals. Finally, a preliminary analysis of the economic feasibility of using these products are made. As a result, it was found that additives and mixing all indicators improved, expressing greater effects in pigs fed The PROBIOLACTIL®. Biopharmaceuticals produced benefits evaluated in animals since improved eubiosis in the gastrointestinal tract, which helped increase ($P \leq 0.05$) live weight and daily weight gain of the animals. Moreover, it improved feed conversion and reduced the incidence of diarrhea in animals treated. The application of biological preparations conferred to raising the economic benefits by way of improving production indicators and decreasing drug expenditures animals. The results confirm the probiotic potential of these nutritional additives when applied to pigs during lactating and pre-fattening.

Keywords: probiotics, pigs, Lactobacillus salivarius, Bacillus subtilis, nutritional additives.

Glosario de Términos

AGV	Ácidos Grasos Volátiles
%	Por ciento
AGCC	Ácidos Grasos de Cadena Corta
ANAP	Asociación Nacional de Agricultores Pequeños
ART	Azúcares Reductores Totales
BAL	Bacterias Ácido Lácticas
CEBIO	Centro de Estudios Biotecnológicos
cm	centímetros
d	días
EE	Error estándar
EEUU	Estados Unidos
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
g	gramo
GMD	Ganancia Media Diaria
Ig	Inmunoglobulina
kg	kilogramo
L	Litro
m	metros
mL	mililitro
NT	Nitrógeno Total
°C	Grados Celsius
P	Probabilidad
t	Toneladas
TGI	Tracto Gastrointestinal
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

Índice	Pág
Introducción	1
CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
I.1. Contexto actual de la producción porcina a nivel mundial y en Cuba	4
I.2. Ecología del tracto gastrointestinal del cerdo	6
I.3 Desarrollo morfológico del tracto gastrointestinal(TGI) en los cerdos	8
I.4 Cambios fisiológicos del TGI en cerdos	9
I.5 Desarrollo de sistema inmune en el TGI en los cerdos	10
I.6 Los Probióticos. Su historia	11
I.6.1 Criterios de selección de los microorganismos probióticos	12
I.6.2. Modo de acción de los probióticos	13
I.6.3 Microorganismos empleados como probióticos en la producción animal	18
I.6.4 Resultados del uso de probióticos con <i>Lactobacillus</i> spp y <i>Bacillus</i> spp. en cerdos	22
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS	26
II.1 Comprobación de la calidad microbiológica del SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL®	26
II.1.1 Elaboración de los biopreparados probióticos	26
II.1.2 Análisis microbiológico de los biopreparados	27
II.1.3 Análisis químico	29
II.2 Comprobación de la calidad microbiológica de los aditivos	29
II.2.1 Evaluación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO®, PROBIOLACTIL® y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en las etapas de lactancia y preceba.	29
II.2.2 Experimento 1. Evaluación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO®, PROBIOLACTIL® y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en la etapa de lactancia.	30
II.2.3 Experimento 2. Evaluación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO®, PROBIOLACTIL® y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en la etapa de preceba .	34
II.3 Evaluación preliminar de la factibilidad económica del empleo de los biopreparados en cerdos durante la preceba	38
II.4. Procesamiento estadístico	38

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
III.1 Comprobación de la calidad microbiológica del SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL®	39
III.2 Determinación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO® PROBIOLACTIL® y su mezcla durante la lactancia.	40
III.3 Determinación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO® PROBIOLACTIL® y su mezcla durante la preceba.	49
III.4 Valoración de la factibilidad económica del empleo de los biopreparados en cerdos.	61
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	85

INTRODUCCIÓN

La explotación animal moderna se caracteriza por una alta intensidad productiva, cualquiera que sea la especie. Esto somete a los animales, durante el proceso productivo, a constantes situaciones estresantes que pueden traer como consecuencia mayor frecuencia en la aparición de enfermedades y disminución de los niveles de producción.

La producción porcina intensiva en Cuba comenzó desde el triunfo de la Revolución, para la cual se trazó la política de mejoramiento genético desde los años fundacionales. En los 80 se consolidó el sector (más de 102 400 t al año), pero el período especial lo impactó fuertemente y se generó una contracción productiva de más de 102 400 t a unas 15 000 en el año 93. El país paulatinamente comenzó a recuperarse, aunque aún no se satisfacen las demandas. Las cifras así lo ilustran, de unas 65 000 t en 2005, hoy se producen más de 130 000 y para 2020 se pretenden alcanzar las 220 000 t (Orta, 2014). Sin embargo, la mortalidad durante los últimos cinco años se mantuvo entre 12 y 25%, dado fundamentalmente por la incidencia de factores estresantes que producen desequilibrios de la microbiota intestinal, la presencia de enfermedades y la inmunodepresión (Grupor, 2013).

Para contrarrestar esta situación se utilizaron por mucho tiempo a los antibióticos; sin embargo, diferentes autores refieren que el uso indiscriminado de estos antimicrobianos, tanto en el hombre como en los animales, provoca resistencia microbiana, de ahí la necesidad de sustituir a estas sustancias como promotores del crecimiento en la producción animal, por otros aditivos alternativos que sean compatibles con el medio ambiente y eviten efectos negativos en la salud humana, tales como los probióticos (Tim *et al.*, 2006; López *et al.*, 2008; Sulabo *et al.*, 2010).

Durante la década del 90 del siglo pasado se desarrollaron los **PROBIÓTICOS**, conjunto de productos que no crean problemas de resistencia microbiana o efecto residual que producen los antibióticos, los cuales se elaboran a partir de microorganismos, principalmente bacterias lácticas, hongos y levaduras, que

contribuyen a mantener el equilibrio ecológico favorable en el intestino y el buen funcionamiento del sistema inmune (Ferreira, 2003; Rondón *et al.*, 2013).

Dentro de los productos que presentan actividad probiótica se encuentran los cultivos de *Lactobacillus* spp. y *Bacillus* spp. Procedentes del tracto digestivo de los animales y el hombre, los cuales se destacan por su efectividad en la mejora de los indicadores productivos y de salud (Milián, 2009 y Ojito, 2012).

Estos productos ejercen su efecto probiótico, principalmente por la acción antimicrobiana frente a microorganismos patógenos, el estímulo a la respuesta inmunológica y la prevención de enfermedades infecciosas en los animales y el hombre, entre otros (Bocourt *et al.*, 2002).

Se sabe que la actividad probiótica es multifactorial y puede estar compuesta por la acción directa del preparado biológico sobre el ecosistema intestinal o la acción indirecta apoyada por la estimulación de la respuesta inmune animal (Milian, 2009; Rondón, 2009; Laurencio, 2010).

En el mundo se comercializan productos con efecto probiótico, entre los que se destacan con demostrada eficiencia el Biomin® y el Protexin en el ganado porcino (Terzolo, 2009).

La Universidad de Matanzas y el Instituto de Ciencia Animal (ICA) ejecutaron diferentes proyectos de investigación para el desarrollo de productos económicamente viables que mejoran el rendimiento productivo y la salud de los animales (Pérez, 2000; Milián, 2009; Rondón, 2009; Laurencio, 2010). Entre los probióticos que se obtuvieron están el SUBTILPROBIO y el PROBIOLACTIL, los cuales se evaluaron en aves y terneros con excelentes resultados en el incremento de peso, el mejoramiento de la conversión alimenticia y la disminución de la aparición de enfermedades.

Problema:

La crianza porcina actual de cerdos comerciales en Cuba está afectada por constantes situaciones de estrés que producen con frecuencia, desbalances en la microbiota intestinal, trastornos entéricos, insuficiente conversión de los nutrientes, retardo en el crecimiento, inmunosupresión y presencia de enfermedades.

Hipótesis:

La aplicación de los aditivos probióticos PROBIOLACTIL® y SUBTILPROBIO® en la dieta de cerdos, durante las etapas de lactancia y preceba, permitirán mejorar la respuesta productiva y la salud de estos animales, con ventajas económicas para los sistemas de producción intensivo.

Para desarrollar en la práctica esta hipótesis se definieron los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto probiótico del PROBIOLACTIL®, el SUBTILPROBIO® y su mezcla en indicadores productivos y de salud en cerdos durante las etapas de lactancia y preceba.

Objetivos específicos

1. Comprobar la calidad microbiológica de los aditivos probióticos SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL®
2. Evaluar el efecto probiótico del SUBTILPROBIO®, PROBIOLACTIL® y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en las etapas de lactancia y preceba.
3. Determinar los beneficios económicos del uso de los aditivos probióticos en cerdos durante la etapa de preceba

NOVEDAD CIENTÍFICA

Por primera vez, se realiza en Cuba, la evaluación de la actividad probiótica de la mezcla de los aditivos PROBIOLACTIL y SUBTILPROBIO en cerdos durante las etapas de lactancia y preceba.

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.1 Contexto actual de la producción porcina a nivel mundial y en Cuba.

La producción de cerdos en el mundo alcanzó en el 2011 un volumen total de 100 millones de toneladas. Hoy es la carne que más se produce, para un 43% de la producción mundial, la cual supera a la producción aviar en 76,7 millones de toneladas y a la producción vacuna en 56,8 millones de toneladas (Ayala, 2014).

Del total de la producción mundial, el 45% se ubica en China, seguida por la Unión Europea, EEUU, Brasil y Rusia. Estos países son también los principales consumidores de carne de cerdo en el mundo, aunque Rusia supera en consumo a Brasil. Sin embargo, China destina prácticamente 100% de la producción al consumo interno. Los principales importadores son Japón (sexto consumidor del mundo y octavo productor), Rusia, México y Corea del Sur, mientras que los principales exportadores son los que conforman la *United States Department of Agriculture and Farming Agricultural Service* (USDA-.FAS), los cuales son: EEUU, la Unión Europea, Canadá y Brasil (USDA-.FAS, 2009).

Según la *Food Agricultural Organization* (FAO, 2014), la carne más consumida entre los principales productores de cerdo (China, Japón y algunos países de la Unión Europea) es la porcina, mientras que en Canadá, Rusia y Estados Unidos, el consumo de la carne de cerdo es inferior a la carne aviar y vacuna, pero con niveles relativamente altos.

Según los reportes de la FAO (2014), se estima que la población mundial de cerdos es de 907 millones de cabezas, distribuidas como sigue: 534 millones en Asia, 204 millones en Europa, 73 millones en América Latina y el Caribe, 72 en EE.UU y Canadá, 19 millones en África y cinco millones en Oceanía.

La elevada población de cerdos en el continente asiático es un indicador de la importancia de estos animales para la alimentación de la población en esta región. En China se presenta la mayor masa porcina del mundo (437 millones) y los cerdos están generalmente incorporados en sistemas integrados a la agricultura. Lo mismo

ocurre en Vietnam, donde la mayor parte de los 19 millones de cerdos también están en sistemas tradicionales de producción. Sobresale en importancia numérica las razas MongCai y ThoucNhieu, con un total de 2,5 millones y 500 000 cabezas respectivamente y la raza Ba Xuyen con 300 000 ejemplares. Se estima que en 1993, en Indonesia existían 8,6 millones de cerdos y que los cerdos locales representaban más del 95% de la población (FAO, 2012).

América Latina cuenta con una población significativa de cerdos locales, provenientes de los cerdos introducidos por Colón en su segundo viaje al Nuevo Continente en 1493 y de otros que se introdujeron posteriormente, a medida que se generalizó la conquista. Lamentablemente, no existen datos precisos sobre la población de cerdos locales en cada uno de los países y los datos oficiales generalizan, cuando sostienen que estas poblaciones son mayoritarias. La población de cerdos tiende a incrementarse en casi todos los países de América Latina como resultado de los cruzamientos entre las poblaciones de razas ibéricas y las razas modernas (FAO, 2012).

La producción porcina en Cuba está basada en dos sistemas, el estatal, que puede ser altamente especializado, y el privado, que se basa en sistemas más tradicionales, los cuales sufrieron en general, transformaciones considerables en los últimos años. En 1989, el 78% de la producción nacional provenía del sector estatal especializado, pero ante la situación de la caída del campo socialista europeo y las consiguientes afectaciones económicas, en Cuba se produjo un incremento importante en el número de cerdos en el sector no especializado y sobre todo en los productores particulares. Una de las primeras reacciones a esta situación fue el incremento de la crianza de cerdos en viviendas urbanas y peri urbanas, lo cual derivó en los últimos años a una vía de oficio estable de muchas personas, así como una fuente de ingreso permanente (Olazábal, 2000).

Ortiz (2015) destacó como creció la producción de carne de cerdo en Cuba en los últimos años (800 t). Sin embargo, el crecimiento aún es insuficiente a pesar del desempeño de los integrantes del movimiento vanguardista de las 100 o más

toneladas de carne, que impulsa la Asociación Nacional de Agricultores Pequeños (ANAP). Este autor también señaló que por tres años consecutivos, la economía cubana dejó de importar carne de cerdo, aunque se conoce que todavía no se satisface la demanda de la población.

Las condiciones actuales de cría intensiva de los cerdos favorece la alteración de la flora intestinal. Así, los destetes excesivamente tempranos, la crianza artificial, el estrés e incomfort, la escasa limpieza-higiene y/o vacío sanitario o el sistema de primerizas nodrizas, está impidiendo una total colonización de la biota saprofítica, por lo que el lechón no es capaz de mantener un equilibrio biota saprofítica/biota patógena, dando lugar a patologías digestivas, principalmente diarreas (Quiles y Hevia, 2016).

I.2 Ecología del tracto gastrointestinal del cerdo.

El conocimiento de la ecología microbiana del tracto gastrointestinal (TGI) de los cerdos es objeto de estudio de diferentes investigadores y entre los aspectos que más se analizan están los microorganismos presentes y su actividad fisiológica, las relaciones que se establecen entre los mismos y con el hospedero y los factores que afectan a la población microbiana de este ecosistema (Ojito, 2012).

En la figura 1 se presenta un esquema del sistema digestivo de los cerdos, el cual cuenta con modificaciones anatómicas complicadas que incluyen la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso y el ano (Taverner y Campbell, 1988).

La mucosa del tracto gastrointestinal es la segunda superficie más extensa del organismo (250 m²) y constituye la principal zona de contacto y defensa frente a diferentes agentes externos como bacterias, virus, toxinas y alérgenos (Sanz *et al.*, 2004).

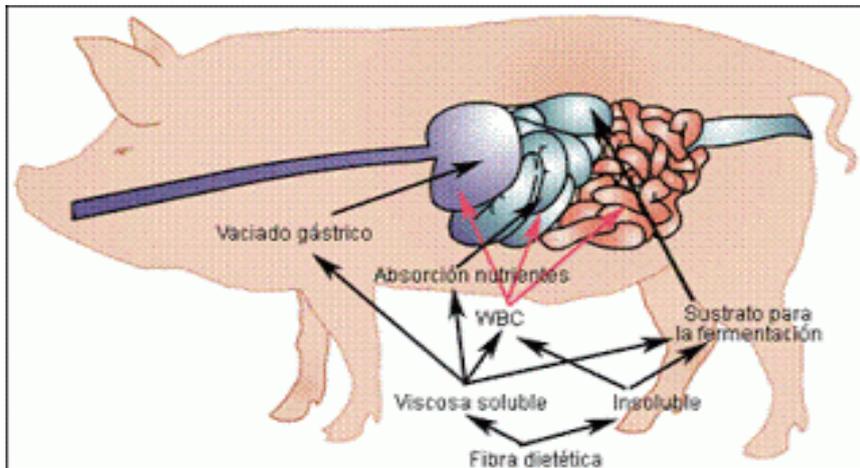


Figura 1. Tracto digestivo de cerdos. Tomado de Flores y Escobar (2012).

La población microbiana del TGI es el conjunto de microorganismos que conforman uno de los ecosistemas más interesantes del Reino Animal; un ecosistema, cuya estructura depende de la carga inicial de microorganismos, de la composición de nutrientes presentes en las materias primas que se utilizan en la alimentación de los animales, del estado fisiológico del animal y de la presentación de problemas patológicos, en especial de aquellos que afectan al sistema digestivo. Además, asociado a éste, se encuentra todo un conjunto de células de defensa, que constituyen el componente mayoritario del sistema linfóide con el que interaccionan, muchas veces de forma sinérgica, los microorganismos presentes en el tracto digestivo (Pérez de Rosas *et al.*, 2003).

Cada especie animal tiene una microbiota intestinal característica y esta mantiene su equilibrio bacteriano en función de distintos factores, pero fundamentalmente de la alimentación. No obstante, existen diferentes tipos de microorganismos que resultan beneficiosos para cualquier especie animal. Uno de ellos son los *Lactobacillus*, que se encargan de descomponer los nutrientes que no se digirieron en otras partes del tubo digestivo. Un segundo grupo estaría formado por las bifidobacterias, responsables de la síntesis de vitaminas, sobre todo las del grupo B, las levaduras encargadas del mantenimiento de la estabilidad intestinal y otras bacterias pertenecientes a varios géneros que intervienen en el mantenimiento de la integridad de la mucosa intestinal. Junto a estos microorganismos destaca la

microbiota subdominante, compuesta por Enterobacterias, *Enterococcus*, *E. coli* y gérmenes oportunistas. Y finalmente, hay un tercer grupo de microorganismos fluctuantes con potencial patógeno, formado por *Clostridium* spp. *Proteus* spp, *Staphylococcus* spp, *Pseudomonas* spp. (Quiles y Hevia, 2016).

I.3 Desarrollo morfológico del tracto gastrointestinal (TGI) en los cerdos.

La digestión de los diferentes componentes alimenticios y la posterior absorción de nutrimentos ocurren principalmente en la parte superior y media del intestino delgado. La absorción de nutrientes del intestino delgado ocurre a través de numerosas vellosidades microscópicas que lo cubren. La mucosa intestinal del lechón recién destetado, pasa de ser una superficie con vellosidades largas y delgadas, donde supone una amplia superficie de absorción, a otra bien distinta, con vellosidades recortadas y más gruesas que se traducen en una marcada disminución de la superficie de absorción, y conforme avanza la edad, éstas se van engrosando y presentan al final del día 49, una apariencia en forma de lengua (Moran, 2002).

Tras el destete, la morfología del epitelio intestinal cambia. Al microscopio se aprecia una pared recubierta de células epiteliales dañadas como consecuencia de: cambios en la población microbiana, erosión resultante del consumo de alimento seco y por reacciones alérgicas. Si las vellosidades se deterioran, disminuye la secreción de enzimas digestivas, lo que causa daños en la absorción de nutrimentos y por ende el crecimiento de los cerdos (Li *et al.*, 1990).

Gómez *et al.* (2008) y Wall *et al.* (2012) plantearon que cuando el destete ocurre a los 35 días, la altura de las vellosidades se reduce de 410 a 299 μm en tan sólo tres días después del destete. Esta situación no es tan dramática como la que ocurre cuando se desteta a los 21 días, donde la altura de las vellosidades se reduce drásticamente de 527 μm a 183 μm . Esta reducción en el tamaño de las vellosidades produce una disminución en el área de superficie para la absorción de los nutrientes de 7 días a 14 días post-destete y corresponde al tiempo en que se presenta el problema llamado “caída del destete” caracterizado por deficiencias en la absorción de nutrimentos, problemas de deshidratación y diarreas.

La microbiota a nivel del intestino desempeña una función importante de protección para mantener la integridad de su mucosa. La disfunción de la barrera intestinal conduce al aumento progresivo de la permeabilidad de la mucosa, lo que facilita la infección por patógenos (Lambert, 2009). La pérdida de la integridad estimula la proliferación de bacterias intestinales patógenas. Por lo tanto, la inclusión en la dieta de bacterias beneficiosas puede revertir la situación de la integridad intestinal, mejorar la salud a este nivel, lograr una mayor disponibilidad de nutrientes y absorción (Awad *et al.*, 2009 y Knap *et al.*, 2011).

I.4 Cambios fisiológicos del TGI de los cerdos.

Easter (1995) estableció que el cerdo está capacitado fisiológicamente para utilizar la leche de la madre como fuente primaria de nutrimentos en las primeras semanas de vida y no está preparado para digerir dietas no lácteas basadas en carbohidratos, proteínas y grasas complejas. El bajo nivel de amilasa limita la hidrólisis de los almidones. La baja producción de ácido clorhídrico afecta la digestión de las proteínas. La utilización de fuentes de grasa de origen vegetal y animal se ve disminuida, pues estas grasas complejas forman en el sistema digestivo gotas grandes, con un área de superficie mínima para el ataque enzimático. En cambio, la grasa de la leche está formada de pequeñas gotas recubiertas por una lipoproteína, que permite una adecuada digestión enzimática.

Los lechones experimentan cambios fisiológicos, que se presentan en un determinado orden y que no pueden acelerarse. Ellos nacen con menos de 1,5 % de grasa corporal, la cual en su mayoría es estructural y no puede utilizarse como energía. La principal fuente energética es el glucógeno acumulado en hígado y músculo (10% y 7%, respectivamente), que sólo permite una sobrevivencia de 36 a 48 h en ayuno (Herpin *et al.*, 1996). Esto se agrava en los lechones más pequeños donde la reserva energética es mucho menor, dándose una estrecha relación entre peso al nacimiento y supervivencia (English *et al.*, 1985).

I.5 Desarrollo del sistema inmune en el TGI de cerdos.

Desde las diez primeras semanas de nacidos, los cerdos sufren cambios en su sistema inmunitario. El cerdito al nacer depende de la inmunidad pasiva

suministrada por la madre. Desde las primeras horas de vida recibe inmunoglobulinas a través del calostro, que son capaces de atravesar la pared intestinal. Posteriormente el animal recibe leche materna, que baña las paredes intestinales y proporciona cierta inmunidad local a través de la IgA (Hester *et al.*, 2012).

Morilla (1991) y Quiles (2008) informaron la existencia de bajas concentraciones de linfocitos T y B, así como elevados niveles de sustancias inmunosupresoras durante la etapa de lactancia. Dicha inmunosupresión comienza a revertirse a partir de los 28-35 días de edad, momento en que el animal es capaz de producir su propia actividad inmunológica en cantidades adecuadas. Por tanto, cualquier estrés, ya sea digestivo, de manejo o combinado, va a afectar al lechón en momentos críticos desde un punto de vista inmunológico (Gatnau *et al.*, 1995).

Al llegar el momento del destete, en el cual la dieta líquida se sustituye por alimento seco, la falta de capacidad digestiva y el cambio a menor frecuencia de alimentación y en mayor cantidad, empeora la digestión del alimento y gran cantidad de éste pasa sin digerir al intestino grueso, fermentándose, lo cual causa desbalances microbianos y por ende problemas entéricos. Esta situación hace que muchos porcicultores, eviten los problemas de diarrea con la reducción del consumo de alimento al momento del destete o la aplicación de aditivos probióticos (Campabadal y Navarro, 1994).

I.6 Los Probióticos. Su historia.

Los estudios científicos de los probióticos se remontan al año 1905, cuando el famoso científico ruso Elie Metchnikoff (2009) se convirtió en el primero en escribir sobre los beneficios de éstos durante la época que estuvo trabajando en el Instituto Pasteur de París, Francia. Él había observado que los agricultores búlgaros tomaban grandes cantidades de leche agria, una forma primitiva de yogurt y gozaban de vidas largas y saludables. Por sus estudios posteriores sobre el sistema inmunológico, este científico fue galardonado con el Premio Nobel en 1908 (Sigrid y Green, 2009).

Las anteriores observaciones le permitieron descubrir unas bacterias únicas, capaces de transformar la lactosa, presente en la leche, en ácido láctico y que dicha acidez confería un ambiente hostil para las bacterias patógenas, lo cual traería beneficios para la salud. Metchnikoff se volvió un firme defensor del concepto de que la dieta podía proteger el organismo humano de la invasión de patógenos y en consecuencia mejorar y prolongar la calidad de vida (Sigrid y Green, 2009).

Contemporáneo con Metchnikoff, Henry Tissier, un médico pediatra francés, observó que los niños con diarrea tenían una baja cantidad de bifidobacterias en sus heces. Estas bacterias, por el contrario, eran abundantes en los niños sanos. Tissier postuló que la administración de bifidobacterias a pacientes con diarrea podría ayudar a restaurar su microbiota intestinal (López-Brea y Domingo, 2007; Sigrid y Green, 2009).

Lilly y Stilwell (1965) utilizaron por primera vez el término “probiótico” para representar a “sustancias secretadas por un organismo y capaces de estimular el crecimiento de otro”. Nueve años después, Parker (1974) describió a los probióticos como “organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal”. Quince años después, Fuller (1989) postuló que los probióticos eran “suplementos microbianos que influyen beneficiosamente en el animal huésped al mejorar su balance microbiano”. Tiempo después, Salminen (2004) definió a los probióticos

como “alimentos que contienen bacterias vivas, las cuales son beneficiosas para la salud”.

Este concepto evoluciona y cambia en el transcurso de los años de forma significativa. García (2011) y Ariđ *et al.* (2013) indistintamente definieron a los probióticos como aditivos compuestos por microorganismos vivos, que cuando son suministrados en cantidades adecuadas, confieren un efecto beneficioso en la salud del hospedero. Actualmente esta definición es la más aceptada por la comunidad científica, porque además del mejoramiento del balance microbiano intestinal, se incluyen otros efectos que influyen en el estado de salud del hospedero.

I.6.1 Criterios de selección de los microorganismos probióticos.

Un probiótico debe reunir las siguientes características (Sorrondogui, 2012):

- Las cepas utilizadas no deben ser patógenas, solamente se utilizarán las consideradas GRAS (Cepas generalmente reconocidas como seguras)
- No ser sensibles a las enzimas proteolíticas.
- Deben ser estables frente a ácidos y bilis, y no conjugarse con las sales biliares.
- Tener capacidad para adherirse a las superficies epiteliales y colonizar las células de la mucosa intestinal.
- Mostrar resistencia a las enzimas líticas de la saliva y a las enzimas digestivas.
- No degradar la mucina.
- Sobrevivir en el ecosistema intestinal.
- Ser capaces de producir componentes antimicrobianos.
- Deben crecer rápidamente en las condiciones del ciego.
- Provocar la inmunoestimulación, pero sin efectos proinflamatorios.
- Mejorar el rendimiento productivo de los animales.

I.6.2 Modo de acción de los probióticos.

Los trabajos para esclarecer los modos de acción de los probióticos en el hospedero son numerosos (Marteau *et al.*, 1997 y Taranto *et al.*, 2000). Los probióticos cuando se ingieren de manera adecuada regulan el ecosistema de microorganismos intestinales y se logra un efecto benéfico en el mismo, lo cual repercute de manera positiva en el estado de salud de los animales (Fuller, 1999 y Lata *et al.*, 2006).

Dentro de los principales mecanismos de acción propuestos para los probióticos están:

- **Mejoramiento de la actividad metabólica del TGI**

Los probióticos, una vez que se suministran, desarrollan en el TGI numerosos mecanismos a través de los cuales contribuyen al balance de los microorganismos intestinales y proporcionan una mejora en los procesos digestivos en el hospedero (Patterson y Burkholder, 2003).

Diferentes microorganismos probióticos producen a través de procesos fermentativos los AGCC en el TGI, los cuales se metabolizan en la mucosa y son transportados eficientemente, por lo que cantidades considerables pueden llegar a la sangre para su utilización posterior. Se considera que el aporte de los AGCC es de 25-30% para los requerimientos energéticos del mantenimiento en cerdos, 50% en conejos y 17% en pollos (Kolb, 1976 y Savón, 2005). De manera que si se produce en el intestino un incremento de los AGCC, habrá mayor biodisponibilidad de estas sustancias como fuentes de energía (Rondón *et al.*, 2008).

Existen evidencias de que al utilizar los probióticos, fundamentalmente cepas de *Lactobacillus*, ya sean monocultivos o mezclas, se incrementa la retención de los nutrientes incluidos en la dieta. La retención aparente de nutrientes (cantidad de nutrientes consumidos menos la cantidad de nutrientes excretados) se favorece cuando se utilizan probióticos, fundamentalmente por la retención de N, P y Ca (Ángel *et al.*, 2005).

El efecto de los probióticos ha sido probado *in vitro* e *in vivo*. Ellos tienen una marcada incidencia sobre la actividad metabólica intestinal y pueden producir enzimas que destruyen sustancias cancerígenas (Pérez *et al.*, 2007 y Milián *et al.*, 2008). Además, son capaces de sintetizar vitaminas u otros nutrientes ausentes o presentes en la dieta en cantidades insuficientes (Nomoto, 2000 y Metges, 2000) y ejercer un efecto hipocolesterolémico (Eamon *et al.*, 2005).

- **Actividad antimicrobiana**

Los probióticos suprimen la acción de los microorganismos patógenos mediante la competencia que se establece por los nutrientes o los sitios de adhesión. Por otra parte, en el organismo animal se producen metabolitos tóxicos que crean en el intestino condiciones adversas para el desarrollo de los no beneficiosos. Estos aditivos microbianos permiten la formación de una película biológica que evita la adherencia de los microorganismos indeseables en la pared intestinal (Cross, 2002 y Coppola *et al.*, 2004).

Las bacterias con actividad probiótica se caracterizan por producir un amplio grupo de sustancias que inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos (Ma *et al.*, 2004). Dentro de estos compuestos se incluyen las bacteriocinas, los ácidos orgánicos de cadena corta (acético, propiónico, butírico, isopropiónico, isobutírico y el ácido láctico) y sustancias químicas como el peróxido de hidrógeno.

Tsai *et al.* (2005) comprobaron que las cepas LAP5 y LF33, aisladas de cerdo y pollo respectivamente, fueron capaces de inhibir *in vitro* a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, fundamentalmente por la producción de ácido láctico. Esta sustancia disminuye el pH intestinal a niveles tan bajos que se hace imposible la supervivencia de microorganismos tan peligrosos como *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp., *Salmonella* sp. y *Staphylococcus* sp. Estos autores comprobaron *in vivo* que cuando se aplicó un probiótico (constituido por BAL) a ratones, no se observó la presencia de *Salmonella* en el hígado y el bazo, después de desafiar a los animales con este microorganismo, en cambio en el control (animales no suplementados) se detectó *Salmonella* en estos órganos.

Por otra parte, un aspecto que cobra gran importancia en la actualidad es la producción de bacteriocinas (Aymerich *et al.*, 2009 y Powell *et al.*, 2007). Tradicionalmente, se consideró a las bacteriocinas como péptidos biológicamente activos que tenían propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora; sin embargo, este concepto se modificó, ya que se encontraron también acciones bactericidas frente a cepas distanciadas filogenéticamente (Sablon *et al.*, 2000).

Por lo general, las bacteriocinas destruyen la integridad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros, lo que provoca la salida de compuestos pequeños o altera la fuerza motriz de protones necesaria para la producción de energía, síntesis de proteínas o ácidos nucleicos (Chikindas *et al.*, 1993). En la figura 2, se presenta un esquema que explica los mecanismos de acción de los distintos tipos de bacteriocinas en la membrana citoplasmática y pared celular de las bacterias patógenas.

- **Estimulación del sistema inmune**

En la figura 3 se presenta un esquema que explica cómo ocurre la activación del sistema inmune a partir de la aplicación de probióticos. A través de la inmunomodulación se protege al huésped de las infecciones, donde se induce a un aumento de la producción de inmunoglobulinas. La ingestión de probióticos específicos estimula la fagocitosis y las células inmunes competentes del intestino asociadas al tejido linfoide con incremento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos (Gibson y Roberfroid, 2008). Por lo tanto ocurre una estimulación de la respuesta inmune en el hospedero, y a su vez, ejerce un control sobre la composición de la microbiota (Tsai *et al.*, 2008).

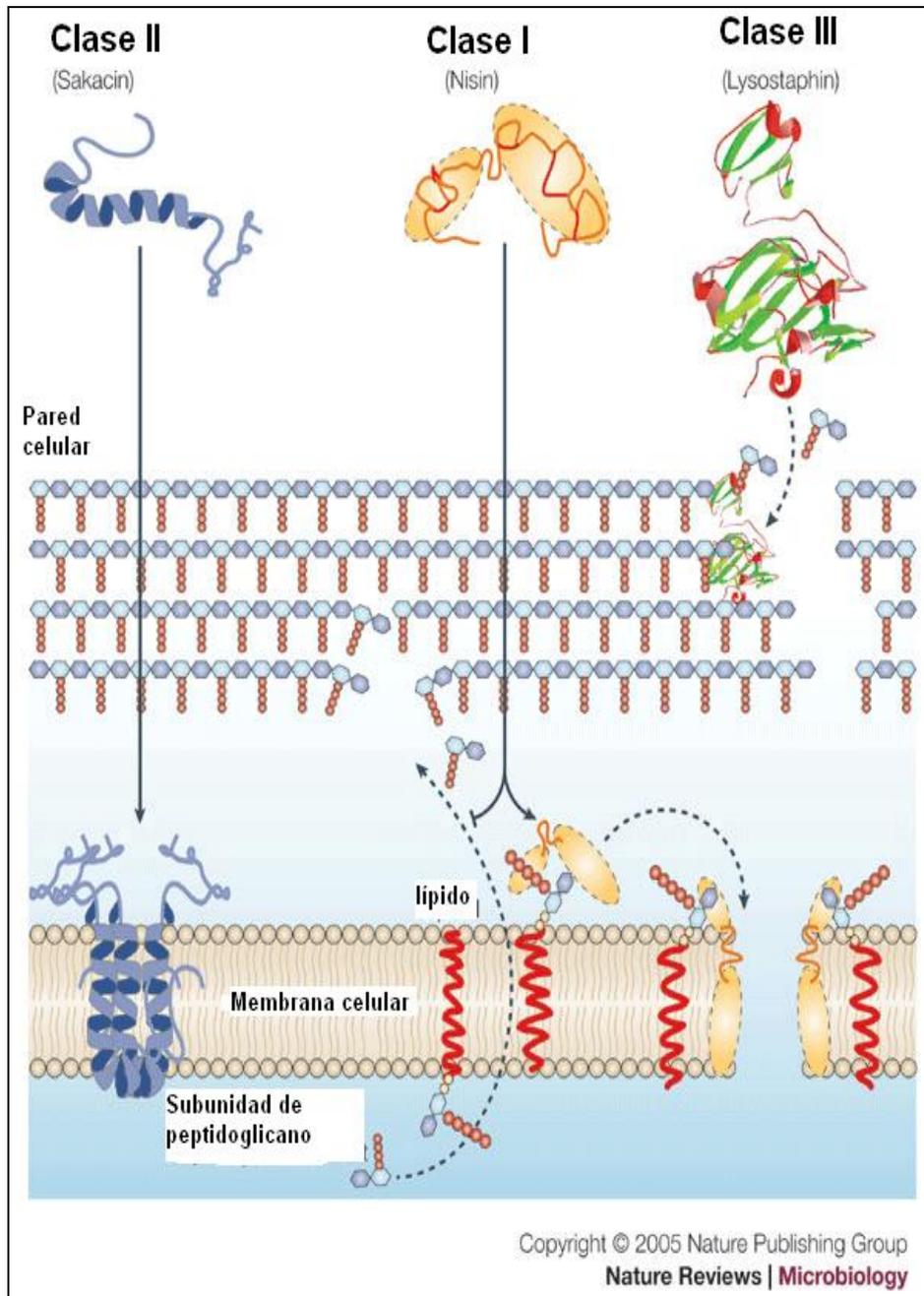


Figura 2. Mecanismos de acción de las bacteriocinas a nivel de la pared celular y la membrana citoplasmática (Tomado de Chikindas *et al.*, 1993).

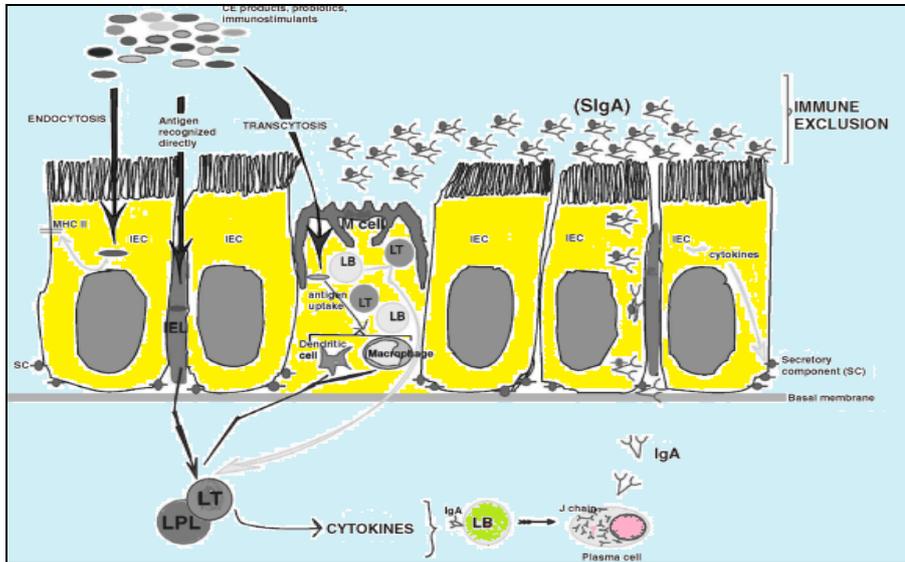


Figura 3. Propuesta de interacciones entre los productos de exclusión competitiva, probióticos o inmunostimulantes en la inmunidad intestinal de los animales. SIgA= IgA secretada; CE= exclusión competitiva; IEC= célula intraepitelial; IEL= linfocito intraepitelial intestinal; LPL= linfocito de la lámina propia (linfocito T activado); célula dendrítica o macrófago= células antígeno presentes (APC); LB = linfocito B; LT= linfocito T; células M= células para el transporte de antígenos desde el lumen intestinal hacia el tejido linfoide asociado al intestino; SC= el componente secretor; endocitosis= proceso en el cual una sustancia logra pasar al interior de la célula sin atravesar la membrana celular; transcitosis= proceso de transporte de sustancias a través de una capa de epitelio, que se realiza por un lado de la célula epitelial, dentro de una vesícula revestida, que puede entonces ser dirigida a través de la red trans-Golgi y transportada al lado opuesto de la célula.

Mecanismos propuestos. Captación del antígeno: 1. El antígeno puede reconocerse directamente por el IEL y se envían señales a los LT en la lámina propia, 2. Cuando el antígeno es captado por las células de M se utiliza el proceso de transcitosis, hay 2 mecanismos posibles para estimular la respuesta inmune: a) el antígeno es captado directamente por macrófagos o células dendríticas, las que son capaces de procesar y presentar a los LT en la lámina propia, o b) el antígeno activa las células B, las que estimulan a los LT en la lámina propia. 3. La captación del antígeno puede hacerse por las IEC que usan el proceso de endocitosis. Las IEC son capaces de actuar como APC y procesar el antígeno, entonces el antígeno es presentado a los LT en la lámina propia. Producción de SIgA: Los LT (LPL) activados producen citoquinas que estimulan la activación de los LB, e inmediatamente las células plasmáticas producen IgA. La IgA adquiere el componente secretorio (SIgA) en las IEC y se interna en estas células para finalmente estar disponible en el lumen intestinal y así ejercer la protección de superficie (Tomado de Revollo *et al.*, 2006).

Los microorganismos probióticos crean un complejo con las bacterias propias del animal para favorecer los mecanismos de defensa, la producción de sustancias antimicrobianas, la disminución del pH intestinal, la reducción del crecimiento de patógenos, la estimulación de la actividad de macrófagos y linfocitos, lo que influye en mejores rendimientos productivos (Smolander *et al.*, 2004 y Milián, 2009).

A través de la inmunomodulación se protege al huésped de las infecciones, donde se induce a un aumento de la producción de inmunoglobulinas. La ingestión de probióticos específicos estimula la fagocitosis y las células inmunes competentes del intestino asociadas al tejido linfoide con incremento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos (Gibson y Roberfroid, 2008 y Tsai *et al.*, 2008).

I.6.3 Microorganismos empleados como probióticos en la producción animal.

Los principales microorganismos que se utilizan como probióticos, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Microorganismos que se usan como probióticos (Álvarez-Olmos y Oberhelman, 2001 y Escalante, 2001).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Bacillus</i> y otras especies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. cremoris</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>L. diacetylactis</i>	<i>S. lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. coagulans</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>B. lactis</i>	<i>L. lactis</i>			<i>S. cerevisiae</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>				<i>S. boulandii</i>
<i>L. kefir</i>	<i>B. breve</i>				<i>Leuconostoc</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. longum</i>				
<i>L. reuteri</i>					
<i>L. helveticus</i>					
<i>L. plantarum</i>					
<i>L. johnsonii</i>					
<i>L. salivarius</i>					

A partir de la información anterior se reconoce que dentro de las bacterias que más se utilizan como probióticos están *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus salivarius*. A continuación se presentan las características de estas bacterias.

- ***Bacillus subtilis***

Según Stanier (1996) y Buchanan y Gibbons (1997), las bacterias del género *Bacillus* son generalmente gram positivas, aunque algunas especies presentan reacción variable a esta técnica de tinción. Estas bacterias tienen forma de bastoncillo, se agrupan en cadenas, son móviles con flagelación peritrica, forman endosporas, son aerobias, anaerobias facultativas y aerotolerantes. Por otra parte, no son adherentes, son productoras de sustancias antimicrobianas y producen enzimas hidrolasas. Tienen reacción positiva a la catalasa, hidrolizan la gelatina, fermentan algunos azúcares y en ocasiones producen gas. Usualmente descomponen las proteínas para producir amonio. Generalmente crecen a 37 °C, la mayor parte son saprófitas y están presentes, comúnmente en el suelo e incluso en el conducto intestinal de los animales, así como en algunos alimentos.

La especie *Bacillus subtilis* se reconoce como GRAS en la alimentación animal (EFSA, 2007). Es catalogada como promotora del crecimiento e inmunoestimulante, ya que los componentes de la pared celular de esta especie estimulan el sistema inmunológico a través de la activación de anticuerpos específicos que son sumamente eficaces contra virus, hongos y bacterias patógenas. También están consideradas como agentes de exclusión competitiva, ya que favorecen la integridad intestinal e incrementan la eficiencia en la utilización y absorción de los nutrientes (Knap *et al.*, 2011). En la figura 4 se presenta una microfotografía electrónica de *Bacillus subtilis* E-44, cepa empleada en el presente trabajo.

Esta especie produce enzimas como proteasas, amilasas, manosidasas y glucosidasas, las cuales descomponen las complejas moléculas presentes en los alimentos y las transforman en nutrientes más simples, los que se absorben por el animal o pueden emplearse por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microbiota intestinal balanceada (Pérez, 2000 y Zoek, 2005).

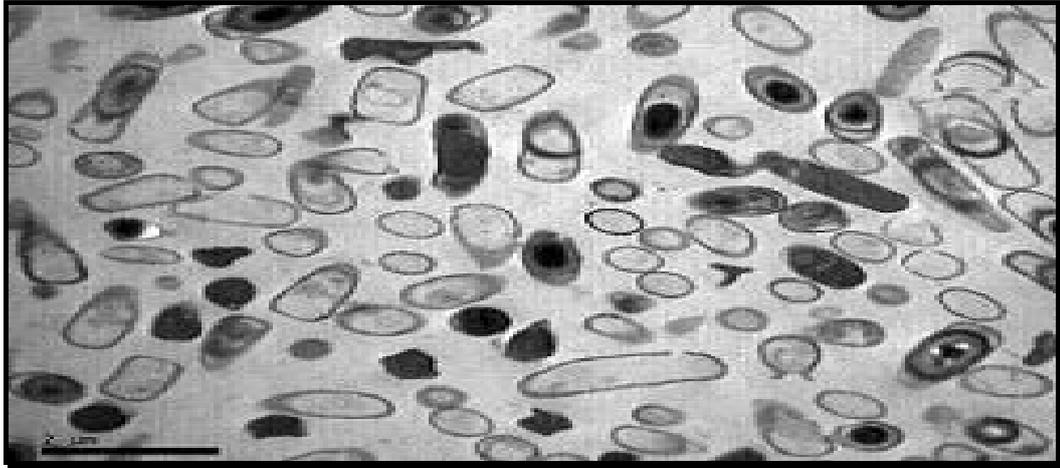


Figura 4. Microfotografía electrónica de la morfología bacteriana de la cepa *Bacillus subtilis* E-44 (Tomado de Milián, 2009).

- ***Lactobacillus salivarius***

En la figura 5 se presenta una imagen de la especie *Lactobacillus salivarius* C-65, la cual se caracteriza por ser una bacteria gram-positiva, no formadora de esporas, con morfología bacilar. Es un organismo homofermentativo (sólo produce un subproducto del metabolismo, ácido láctico) que se encuentra naturalmente en las cavidades orales de los humanos y animales, los intestinos y la vagina. Se considera no patógena y se utiliza a veces para producir ácido láctico en los alimentos fermentados, también se emplea como un probiótico para ayudar a prevenir las infecciones por otros microorganismos (Riboulet *et al.*, 2012).

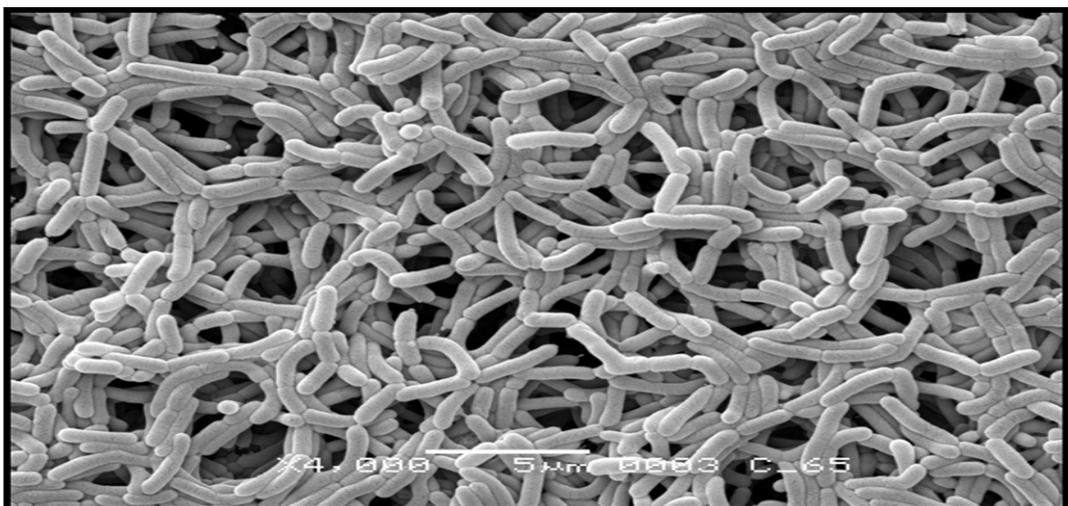


Figura 5. Microfotografía electrónica de la morfología bacteriana de la cepa *Lactobacillus salivarius* C-65 (X4000) (Tomado de Rondón, 2009).

El género *Lactobacillus* es miembro de las bacterias ácidas lácticas e incluye un grupo diverso de bacterias que comprenden actualmente 174 especies (Sang *et al.*, 2011). Los lactobacilos son objeto de estudios de muchos autores, debido a su importancia para la producción de alimentos fermentados (Tannock *et al.*, 2004), además, son microorganismos empleados como probióticos, ya que son capaces de reducir los niveles de bacterias patógenas en el tracto intestinal de los animales (Neville y O' Toole, 2010).

L. salivarius también produce una enzima llamada lactasa, así como bacteriocinas, proteínas o péptidos que son tóxicos para algunos otros tipos de bacterias. Se conoce que es un desafío cultivar a *L. salivarius* en un medio de cultivo con fines de producción; sin embargo, es un microorganismo muy prolífico en el intestino, por lo que es capaz de competir con muchas otras bacterias, entre las que se incluyen los patógenos (Riboulet-Bisson *et al.*, 2012).

L. salivarius se caracteriza por ser una bacteria probiótica muy eficaz, ya que desarrolla un papel muy importante en el mantenimiento del sistema digestivo de forma saludable. Entre sus efectos está mantener el balance microbiano de manera correcta en el intestino, atacando a muchas de las bacterias perjudiciales (Avram, 2010).

1.6.4 Resultados del uso de probióticos con *Lactobacillus spp.* y *Bacillus spp.* en cerdos.

En la literatura se refiere que desde hace años se emplean cepas de lactobacilos y bacilos en monocultivos o en mezclas de ellos, o bien en combinaciones con otros microorganismos de diferentes géneros, para comprobar el efecto de estos productos en diferentes indicadores productivos y de salud en la cría de cerdos.

Faria *et al.* (2006) y Quintero y Huerta (2010) plantearon que el uso de probióticos en cerdos se dirige a mejorar los síntomas de estrés y a actuar como promotores naturales del crecimiento, ya que incrementan la producción y mejoran el estado general de salud de los animales.

Una alternativa al uso de antibióticos, es la utilización de microorganismos vivos con características probióticas en la dieta. En este sentido De Angelys (2007) empleó una cepa de *Lactobacillus plantarum* para el control de bacterias entéricas e influir beneficiosamente en las comunidades gastrointestinales de cerdos.

Marín *et al.* (2007) informaron que cuando se suministró a cerdos una crema de biomasa proteica, con un cultivo mixto de levaduras y bacterias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*), se produjo el incremento de la ganancia de peso y la disminución de la mortalidad y la incidencia de diarreas.

Se plantea que los lactobacilos son altos productores de ácido-láctico y con la ayuda de las enzimas proteolíticas pueden aumentar la digestión de nutrientes en el tracto gastrointestinal (Cho *et al.*, 2011). En este sentido, estos autores demostraron que la eficiencia alimenticia era significativamente mayor en los cerdos suplementados con 3 mL de una mezcla probiótica de *L. amylovorus* y *E. faecium* (10^8 UFC.mL⁻¹), en comparación con los cerdos del tratamiento control.

Ojito (2012) y Rondón *et al.* (2013) aplicaron un probiótico a base de *Lactobacillus salivarius* en cerdos comercial Yorkshire - Landrace x L35, una dosis de 5 mL (10^9 UFC.mL⁻¹) por kg de alimento. Como resultado se mejoró el estado de eubiosis del tracto gastrointestinal, lo cual contribuyó a incrementar ($P \leq 0,05$) el peso vivo de los animales a las cinco semanas y la ganancia de peso diaria. Por otra parte se mejoró la conversión alimenticia y disminuyó la incidencia de diarreas en los animales tratados con el biopreparado.

El género de *Bacillus subtilis* se cita dentro de las bacterias de mayor importancia para su empleo como probiótico en los animales. Entre estas investigaciones se encuentra la realizada por (Milián, 2009), quien utilizó un preparado probiótico que contenía una mezcla de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*, la cual adicionó en el alimento de cerdas y cerdos lactantes en dosis de 0,03 y 0,02%, respectivamente. Este autor concluyó que este producto tenía un efecto positivo en la velocidad de crecimiento (17%), eficiencia de utilización del alimento (7%) y en el equilibrio de la microbiota intestinal, con reducción de las poblaciones de

microorganismos patógenos como *E. coli* y el incremento de *Lactobacillus* spp., con efectos marcados en la salud de los cerdos que consumieron el preparado en comparación con el grupo donde se incluyó la virginiamicina como APC.

Ayala (2010) estudió el efecto de un aditivo alimentario en cerdas y sus crías durante la lactancia y en cerdos destetados, divididos en dos grupos experimentales: un control sin aditivo y uno donde se incluyó *Bacillus subtilis* en la alimentación de las categorías en estudio. Se obtuvieron incrementos de peso de 5% en las crías que consumieron el esporulado y en los cerdos posdestete se alcanzó 8,6%, con respecto al control.

Jiraphocakul *et al.* (1999) y Cortés *et al.* (2000) informaron que las endosporas viables de *Bacillus subtilis* incluidas en el alimento son estables a la acidez gástrica y actúan contra patógenos específicos en el intestino, tales como *E. coli*. Su uso incrementó los conteos de *Lactobacillus* en este ecosistema y mostró efecto promotor del crecimiento.

Estudios realizados por Jorgensen y Curtí (2003) demostraron que el suministro de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* a las cerdas gestantes dos semanas antes del parto y durante la lactación, puede reducir la mortalidad predestete, mejorar la funcionalidad intestinal de los lechones y por consiguiente, un mayor peso al destete (en torno al 7%).

A consecuencia del estrés que se produce después del destete, el empleo de los probióticos es una opción para mejorar esta situación. Al respecto, Yang *et al.* (2003) evaluaron un probiótico a base de *Bacillus* y sus esporas, solo o en combinación con antibióticos, en dietas de cerdos posdestete. Estos autores refieren que se produjo la mejora de la ganancia media diaria y el índice de conversión en los cerdos que consumieron $1,1 \times 10^6$ esporas.g⁻¹ con respecto al control sin aditivo. Se evidenció, que desde el punto de vista práctico, éste es un momento clave en la vida del lechón y que su empleo va a provocar una mejora en los índices técnicos durante el periodo de transición.

Link y Kovac (2006) estudiaron la influencia del preparado probiótico BioPlus 2B, conformado por *Bacillus subtilis* en una concentración 3.2×10^9 ufc.kg⁻¹ de

alimento, en cerdos de 42 días. Los resultados mostraron mejor eficiencia en la utilización del alimento en los grupos de animales donde se suministró el probiótico. Asimismo, al estudiar los índices metabólicos, se encontraron diferencias ($P < 0,05$) al incrementarse los niveles de proteínas totales en los sueros de los cerdos tratados con el probiótico.

Chiquieri *et al.* (2013) determinaron el efecto de tres aditivos: probiótico, prebiótico y antibiótico, sobre el desempeño y la altura de las vellosidades intestinales de lechones destetados a 21 días de edad. Estos autores informaron diferencias en la altura de las vellosidades duodenales, encontrándose un aumento significativo en los tratamientos con probiótico, en comparación con los restantes grupos experimentales.

Wall *et al.* (2012) desarrollaron un experimento con el objetivo de controlar la infección por *Salmonella* spp. en cerdos. Para ello evaluaron la inclusión de una mezcla de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* en el agua de bebida de lechones en crecimiento, en comparación con un antimicrobiano. Estos autores informaron que se observó resistencia de *Salmonella* spp. frente al antibiótico utilizado en el ensayo; así como la no presencia de *Salmonella* en las heces de los animales que consumieron los biopreparados probióticos.

Los cultivos de *Bacillus* esporulados inducen *in vivo* la secreción de IgA e IgG (Nava y Dávila, 2004 y Kaminogawa y Nanno, 2004) y estimulan la síntesis de linfocitos T y citoquinas, para favorecer la destrucción intracelular de patógenos, tales como *Salmonella* spp., *E. coli* y otros (Hosoi *et al.*, 2000 y Hong *et al.*, 2004).

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Comprobación de la calidad microbiológica del SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL®

II.1.1 Elaboración de los biopreparados probióticos®

Material biológico y medios de cultivo

Cepas de *Lactobacillus salivarius* C-65 y *Bacillus subtilis* E-44, procedentes del tracto digestivo de pollos de ceba y jugo de tomate alterado respectivamente. Ambas cepas se obtuvieron del cepario del Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Universidad de Matanzas.

Medios de cultivo

Inóculo:

- Para *Lactobacillus*: Caldo MRS (De Mann *et al.*, 1960) (CONDO, España).
- Para *Bacillus*: Caldo Nutriente (BIOCEN, Cuba).

Medios de cultivo industrial:

- Medio de crecimiento de *Lactobacillus salivarius* (MCLs), elaborado según la metodología de Rondón (2009)
- Medio de crecimiento de *Bacillus subtilis* (McBs), elaborado según la metodología de Milián (2009)

La composición del medio que se diseñó para el crecimiento de *Bacillus subtilis* se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Composición del medio para el crecimiento de *Bacillus subtilis* (Milián, 2009).

Medio para el crecimiento de <i>Bacillus subtilis</i> (McBs)	
Composición	Unidades. L⁻¹
Miel final (50% ART)	50 g (25 g ART)
Hidrolizado de levadura (18% NT)	50 mL (0,9 NT)
Peptona bacteriológica	3 g (0,22 NT)
Cloruro de Sodio	5 g
CaCl₂	0,01 g

ART, Azúcares reductores Totales; NT, Nitrógeno Total. -----pH 7,0 y temperatura de incubación 37 °C.

La composición del medio que se diseñó para el crecimiento de *Lactobacillus salivarius* se presenta en la tabla 3.

Tabla 3. Formulación del medio MCLs

Composición	Unidades.L⁻¹
Miel final de caña (58 % ART)	30 g
HELSc (17 % NT)	210 mL
K₂HPO₄	2 g
Citrato de Amonio	5 g
Acetato de Sodio	5 g
MgSO₄.7H₂O	0,2 g
MnSO₄. H₂O	0,02 g

ART, Azúcares reductores Totales; NT, Nitrógeno Total. pH 6,5 y temperatura de incubación 37 °C.

La elaboración de los aditivos probióticos se realizó de acuerdo a las metodologías descritas por Rondón (2009) para PROBIOLACTIL[®] y Milián (2009) para SUBTILPROBIO[®].

II.1.2 Análisis microbiológico de los biopreparados.

Después de la obtención de los biopreparados, se procedió al análisis microbiológico, para lo cual se tomaron 3 muestras de ambos cultivos y se procedió a realizar el conteo de células viables y de microorganismos contaminantes.

Conteo de viables

Se efectuó el conteo de células viables de *Lactobacillus salivarius* C-65 y *Bacillus subtilis* E-44 a los biopreparados como se describe a continuación:

Lactobacillus salivarius. Para efectuar el conteo se realizaron diluciones seriadas de las muestras en una relación de inoculación de 1:10 (v/v) en agua de peptona

(OXOID), desde 10^{-1} hasta 10^{-12} . Las tres últimas diluciones se inocularon individualmente (1 mL) a profundidad en placas con agar MRS. Esta operación se replicó tres veces y las placas se incubaron a 37 °C en condiciones de anaerobiosis por 48 h. Posteriormente, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determinó bajo lupa por conteo visual de colonias.

Bacillus subtilis: Para efectuar el conteo se realizaron diluciones seriadas de las muestras en una relación de inoculación de 1:10 (v/v) en solución salina (8% NaCl), desde 10^{-1} hasta 10^{-14} . Las tres últimas diluciones se inocularon individualmente (0,1 mL) en placas, en la superficie del medio agar nutriente, con espátula de Drigalski. Esta operación se replicó tres veces y las placas se incubaron a 37 °C en condiciones aerobias por 24 h. Posteriormente, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) se determinó bajo lupa por conteo visual de colonias.

Conteo de contaminantes en los biopreparados

El conteo se realizó de acuerdo con las normas de Microbiología de los Alimentos para Consumo Humano y Animal NC-ISO (Bennett y Lancette, 2007). Se realizaron diluciones seriadas de las muestras según NC-ISO 6887:2002. Todos los datos presentados son valores medios de tres repeticiones por biopreparado (tabla 4).

Tabla 4. Determinación de microorganismos contaminantes.

Pruebas microbiológicas	Referencia NC- ISO
Recuento de coliformes fecales y totales	4832: 2002
Recuento de <i>Pseudomonas auruginosa</i>	4833: 2002
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	6888: 2003
Recuento de <i>Bacillus cereus</i>	4833: 2002
Conteo de <i>Salmonella</i> en 25 mL	6579: 2004
Conteo de Enterobacterias	4832: 2002

II.1.3 Análisis químicos

Determinación del pH: La medición de los valores de pH a las muestras se realizó en un pHmetro digital (Sartorius Meter PP-25).

II.2 Comprobación la calidad microbiológica de los aditivos probióticos SUBTILPROBIO[®] y PROBIOLACTIL[®].

En la figura 6 se muestra el diagrama de la Comprobación la calidad microbiológica de los aditivos probióticos SUBTILPROBIO[®] y PROBIOLACTIL[®].

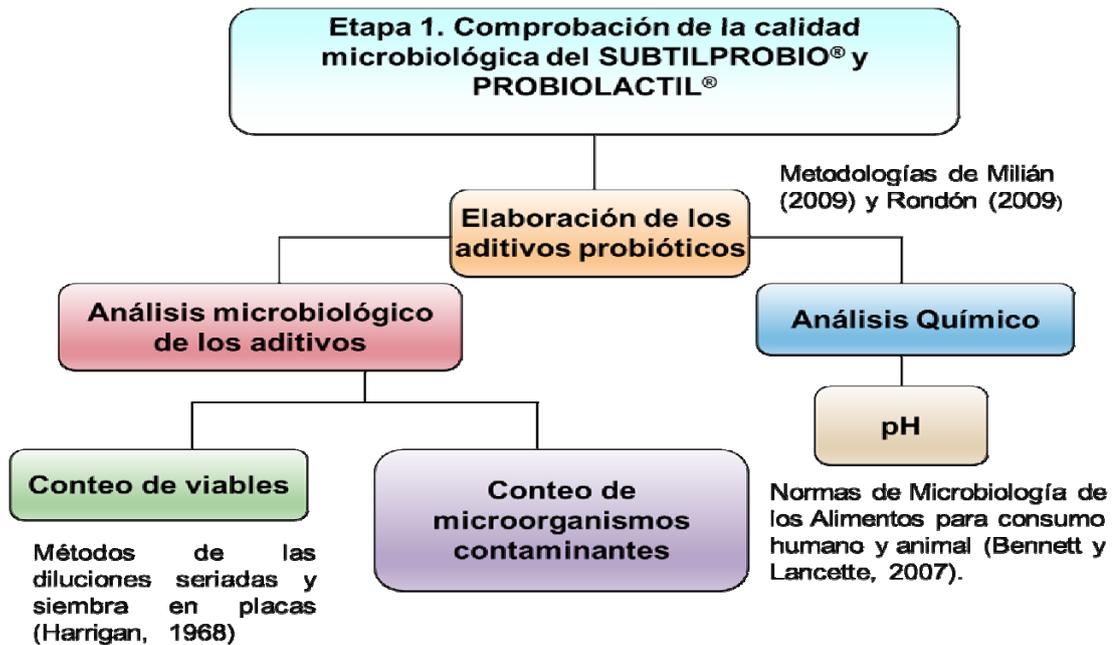


Figura 6. Diagrama de la comprobación de la calidad microbiológica del SUBTILPROBIO[®] y PROBIOLACTIL[®].

II.2.1 Evaluación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO[®], PROBIOLACTIL[®] y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en las etapas de lactancia y preceba.

Para evaluar el comportamiento productivo y la salud de los cerdos con la inclusión de los biopreparados probióticos se desarrollaron dos experimentos, los cuales se describen a continuación:

II.2.2 Experimento 1. Evaluación del efecto probiótico del SUBTILPROBIO[®], PROBIOLACTIL[®] y su mezcla en indicadores productivos y de salud de cerdos en la etapa de lactancia.

- **Tratamientos y condiciones experimentales**

El experimento se desarrolló en la Unidad Porcina Gelpis (Anexo 1) perteneciente a las FAR, situada en el Municipio de Matanzas. El experimento se desarrolló durante 33 días, en el período comprendido del 20 de Septiembre al 15 de octubre del 2014. En este período la humedad relativa promedio fue de 79% y la temperatura mínima (20 °C) y máxima de (27 °C) según reporte del Centro de Meteorología Provincial de Matanzas (Estación Meteorológica, 2015).

Para el desarrollo del experimento se empleó un diseño completamente aleatorizado, en el que se incluyeron cuatro tratamientos:

- Grupo 1. Control, solamente dieta basal (sin la inclusión de aditivos)
- Grupo 2: Dieta basal + aditivo PROBIOLACTIL[®]
- Grupo 3: Dieta basal + aditivo SUBTILPROBIO[®]
- Grupo 4: Dieta basal + la mezcla de los aditivos PROBIOLACTIL[®] + SUBTILPROBIO[®] (50:50).

Se utilizaron 12 camadas de cerditos a partir del primer día de vida y hasta los 33 días de edad, del cruce comercial Yorkshire - Landrace x L35 (Anexo 2), descendientes de cerdas de segundo parto y con camadas ajustadas a un mismo tamaño (10 crías). En cada tratamiento se emplearon 30 cerditos, los cuales constituyen repeticiones en cada uno de los tratamientos. Todos los cerditos fueron pesados en una pesa reloj de 15 kg (precisión ± 5 g).

Los probióticos se diluyeron en agua antes de usarse (1:3), para aumentar volumen, lograr una mayor homogenización y mezcla con el pienso. Los mismos se utilizaron en dosis de 5 mL por kg de alimento. Cada uno contó con una población de 10^9 UFC.mL⁻¹, según lo recomendado por Jin *et al.* (1998) y Griggs y Jacob (2005). Los biopreparados se mezclaron con el concentrado y se suministraron desde los siete días de nacidos hasta el final del experimento. Las camadas de cada tratamiento se ubicaron distantes unas de otras para evitar la autoinoculación.

Además de la leche materna, la alimentación con el concentrado comenzó desde los siete hasta los 33 días de edad, para lo cual se estimó el consumo promedio de 0,06 kg en toda la etapa, según el Manual de crianza porcina del Instituto de Investigaciones Porcinas (IIP, 2008). El concentrado se les suministraba tres veces al día (en horas de la mañana, al mediodía y en horas de la tarde) y el mismo cumplía con los requerimientos de la categoría (tabla 5).

Tabla 5. Composición y aporte en base seca de la dieta consumida por las crías lactantes.

Ingredientes	% de inclusión
Harina de maíz	70,36
Harina de Soya	27,00
Cloruro de sodio	0,50
Carbonato de Calcio	0,50
Fosfato dicálcico	1,00
Premezcla ¹	0,50
Colina	0,14
Aportes	
DM (%)	90,81
CP (%)	19,00
PB (%)	23,22
EM, MJ kg-1	18,97
Ca (%)	0,61
P (%)	0,49
Ash (%)	4,55

¹ Premezcla de vitaminas y minerales por kg de concentrado: vitamina A, 12.000 IU; vitamina D, 2.600 IU; vitamina E, 30 IU; vitamina B₁₂, 12 ug; vitamina K, 3 mg; Pantotenato de calcio 15 mg; Ácido nicotínico 40 mg; choline 400 mg; MN 40 mg; Zn 40 mg; Fe 40 mg; Cu 8,8 mg; I 0,35 mg y Se 0,3 mg.

En la figura 7 se muestra el diagrama de la evaluación del efecto probiótico de los biopreparados de PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y la mezcla de ambos productos en cerdos lactantes.

• **Manejo de los animales**

Antes que las reproductoras fueran trasladadas a la nave de maternidad se bañaron con agua corriente y se desparasitaron de manera externa e interna. La primera se realizó con acaricida (Sebacil) para evitar el contagio de las crías con ectoparásitos.

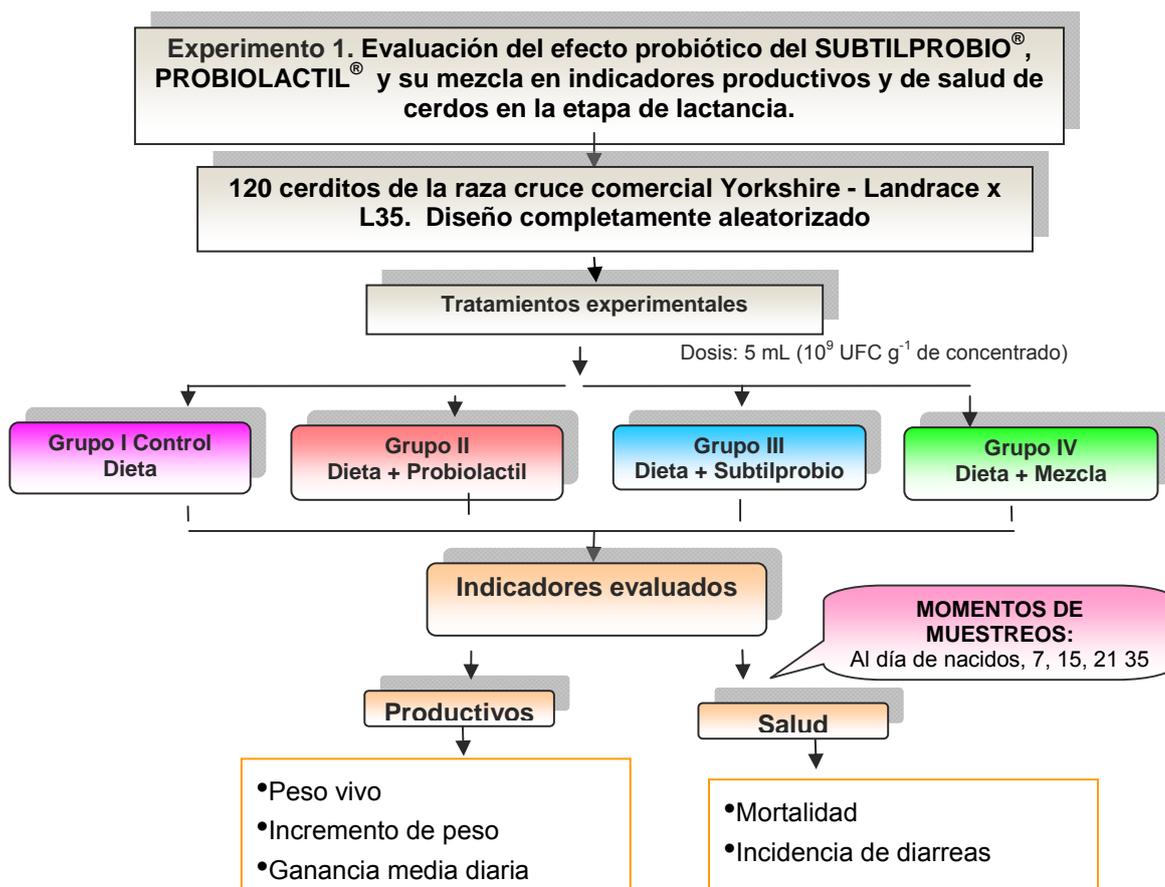


Figura 7. Diagrama de la aplicación de los probióticos en lactantes.

El parto se realizó de manera natural, al finalizar se eliminó la placenta, no hubo crías muertas, obteniéndose un promedio de 10 cerdos por camada. Las crías estuvieron alojadas junto a las cerdas en bóxer de la nave de maternidad hasta el momento del destete (treinta y cinco días de edad). Los biopreparados mezclados con el pienso de inicio se suministraron en comederos situados en una de las esquinas traseras del bóxer.

El agua se les ofreció, tanto a la reproductora como a las crías, en bebederos de tipo tetinas. El agua proviene de un pozo, al cual está acoplada una turbina sumergible, encargada del abastecimiento del tanque principal; este último abastece a las tetinas por gravedad y a dos tanques, los cuales presentan cada uno una turbina horizontal de fregado, conjuntamente con una manguera para cada tanque que son utilizadas para la limpieza a presión de los corrales.

- **Esquema de vacunación**

En la tabla 6 se presenta el esquema de vacunación o los medicamentos empleados en las camadas experimentales durante la etapa de lactancia. Los mismos se les suministraron a los cerdos por vía intramuscular; en el caso de Tylosin 20 H se aplicó durante cinco días en aquellos cerdos que presentaron diarreas.

Tabla 6. Sistema de vacunación y de medicamentos.

Días de edad	Vacunas y medicamentos	Dosis (mL)
1-3	Dextrana con hierro	2
33	Cólera	2
-	Tylosin 20 H	1 / kg de peso

- **Indicadores productivos y de salud**

Semanalmente se registraron los indicadores productivos, peso vivo (PV), incremento de peso (IP) y ganancia media diaria (GMD); así como los indicadores de salud, incidencia de diarreas y mortalidad. Los muestreos se realizaron a los 7, 15, 21 y 33 días de edad. Los parámetros se calcularon según las fórmulas descritas en la tabla 7 (UCAN- IIA, 1998). Para determinar el peso final de cada una de las crías se empleó una balanza digital que puede pesar hasta 15 kg con una precisión de ± 5 g.

Tabla 7. Formulas empleadas para la determinación de indicadores productivos (UCAN- IIA, 1998).

Indicadores	Fórmula
Incremento de peso (IP)	$IP = PF - PI$ (PF: Peso final; PI: Peso inicial)
Ganancia media diaria (GMD)	$GMD = (PF - PI) / 33 \text{ días}$ (PF: Peso final; PI: Peso inicial)

La mortalidad (M) y la incidencia de diarreas (ID), fueron los parámetros de salud que se evaluaron a partir de las observaciones diarias.

II.2.3 Experimento 2. Evaluación del efecto probiótico del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla en indicadores productivos y de salud en cerdos durante la etapa de preceba.

• Tratamientos y condiciones experimentales

El experimento se llevó a cabo en la Unidad Porcina Gelpis. Se emplearon 80 cerdos de la raza Mestiza (Anexo 3), desde los 34 hasta 76 días (42 días), en el período comprendido del 20 de noviembre al 15 de diciembre del 2014. En la etapa, las temperaturas que se registraron fueron: Máxima absoluta promedio 29 ± 7 °C, mínima absoluta promedio 16 ± 5 °C y media promedio 21 ± 4 °C. La humedad relativa promedio estuvo en 81%, según reporte del Centro de Meteorología Provincial de Matanzas (Estación Meteorológica, 2015). Se empleó un diseño completamente aleatorizado, en el que se incluyeron 4 tratamientos. Los muestreos se realizaron a los 34, 45, 60 y 76 días.

- Grupo 1: Solamente dieta basal (sin aditivos)
- Grupo 2: Dieta basal + aditivo PROBIOLACTIL[®].
- Grupo 3: Dieta basal + aditivo SUBTILPROBIO[®].
- Grupo 4: Dieta basal + la mezcla de los aditivos PROBIOLACTIL[®] + SUBTILPROBIO[®] (50:50).

- **Condiciones de manejo y alimentación**

Las naves donde se alojaron las camadas se sometieron a una habilitación sanitaria según lo establecido por el Instructivo Técnico (1998) para la crianza de los cerdos. El suministro de agua fue similar al experimento 1 y el consumo de alimentos fue restringido, con una dieta similar a la utilizada en el experimento anterior (tabla 5).

En la tabla 8 se presenta el suministro de alimento a los animales durante todo el experimento.

La dosis de los aditivos Subtilprobio® y Probiolactil® que se suministraron a los animales fue de 10^9 UFC. mL, mezclándose 5 mL.kg⁻¹ de concentrado. Cada tratamiento presentó 20 repeticiones (cerditos).

Tabla 8. Suministro de alimentos durante el experimento.

Semanas	Consumo de alimento por animal al día (kg)	Consumo de alimento total por corral al día (kg)
Semana 1	0,2	4
Semana 2	0,3	6
Semana 3	0,4	8
Semana 4	0,5	10
Semana 5	0,6	12
Semana 6	0,7	14
Suministro total de alimento durante el experimento	18,9 kg por cerdo	378 kg por corral

- **Esquema de vacunación**

En la tabla 9 se presentan las vacunas y medicamentos que se utilizaron durante el experimento. A los animales se les vacunó contra la Peste Porcina Clásica (Cólera), aplicada a los 45 días de edad según el Instructivo Técnico para la crianza porcina y en aquellos cerdos que presentaron diarrea se les suministró Tylosin 20 H durante cinco días.

Tabla 9. Sistema de vacunación

Días de edad	Vacunas y medicamentos	Dosis (mL)
45	Cólera	2
-	Tylosin 20 H	1 / kg de peso

En la figura 8 se muestra el diagrama de la evaluación del efecto probiótico de los biopreparados de PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® y la mezcla de ambos productos en cerdos en la etapa de preceba.

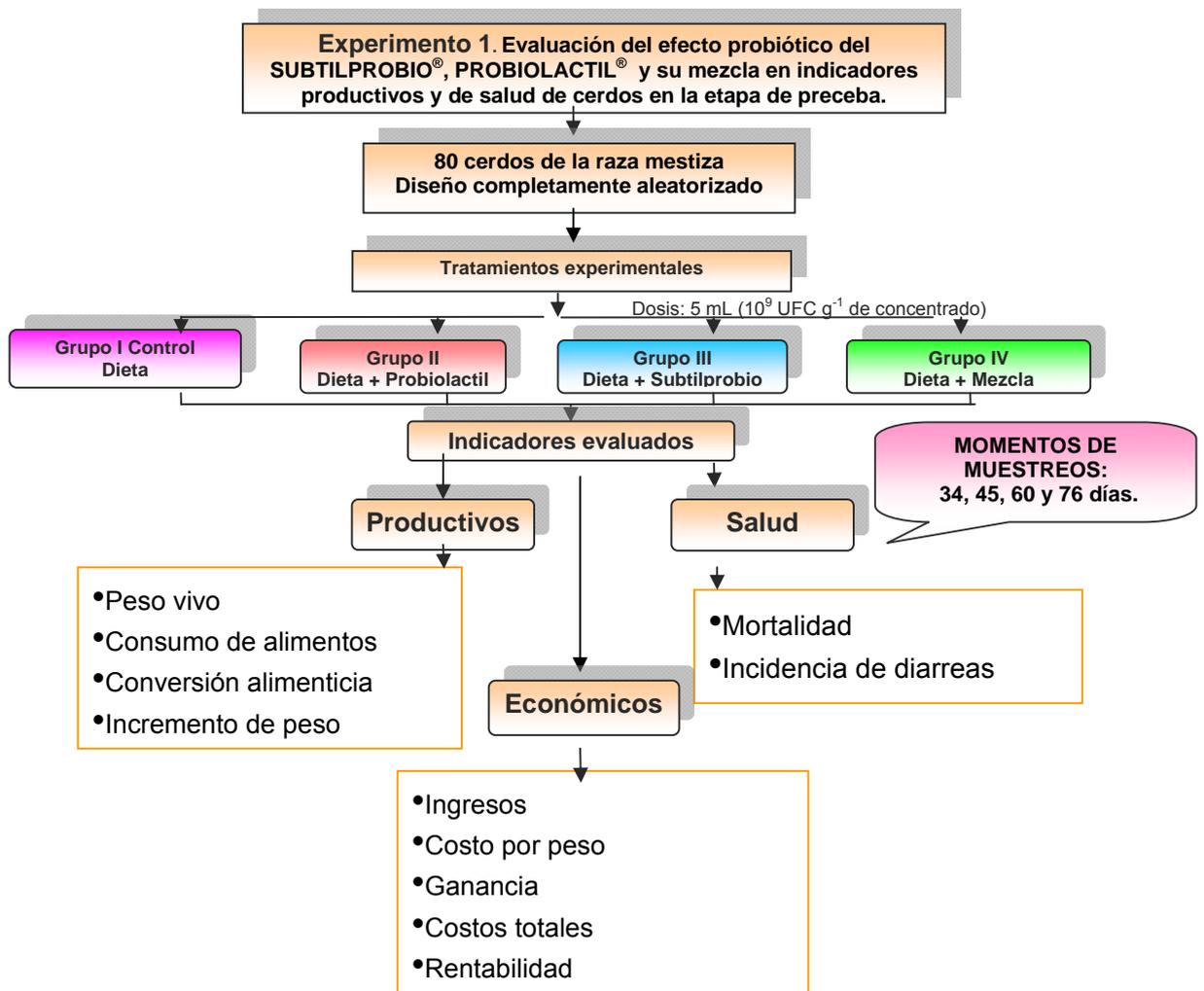


Figura 8. Diagrama de la secuencia del experimento 2.

▪ **Procedimiento experimental para el análisis de las muestras**

El procedimiento para evaluar la actividad biológica, en cada uno de los muestreos, se describe a continuación:

▪ **Indicadores productivos:**

En la tabla 10, se muestra como se midió el peso vivo (PV), el incremento de peso, la conversión alimenticia (CA) y la ganancia media diaria (GMD) de los cerditos para la etapa de preceba, los cuales fueron determinados según las siguientes fórmulas (UCAN- IIA, 1998).

Para determinar el peso final de cada una de las camadas se empleó una balanza de gancho.

Tabla 10. Formulario para determinar los indicadores productivos

Indicadores	Fórmulas
Peso vivo (PV)	En cada momento de muestreo
Conversión alimenticia (CA)	$CA = Ca / IP$ Ca=consumo de alimento IP=incremento de peso
Incremento de peso (IP)	$IP = PF - PI$ (PF: Peso final; PI: Peso inicial)
Ganancia media diaria (GMD)	$GMD = PF - PI / 42 \text{ días}$ PF= peso final PI= peso inicial

▪ **Indicadores de salud**

La mortalidad (M) y la incidencia de diarreas (ID), fueron los indicadores de salud que se evaluaron, donde se realizó la observación diaria para verificar la existencia o no de tales indicadores.

II.3 Evaluación preliminar de la Factibilidad económica del empleo de los biopreparados en cerdos durante la preceba.

Para determinar los beneficios económicos que aporta la aplicación de los aditivos zootécnicos en estos animales se procedió a la búsqueda de la información económica necesaria para cada uno de los elementos o componentes que intervienen en el proceso.

Para calcular los costos de producción se tuvieron en cuenta: el costo del biopreparado, de los cerdos al destete, del concentrado, salario de los trabajadores, precio de los kg de peso vivo, precio de vacunas y antibióticos que se utilizaron.

Se calcularon además los siguientes indicadores (Vega *et al.*, 2001):

Ingresos = Peso vivo x precio de venta

Costo por peso = $\frac{\text{Costo total}}{\text{Ingresos}}$

Ganancia = Ingresos – Costos totales

Costos Totales = costos fijos + costos variables

Rentabilidad = $\frac{\text{Ganancia}}{\text{Costo total}} \times 100$

II.4 Procesamiento estadístico.

En el experimento se realizó un diseño completamente aleatorizado. Las variables peso vivo inicial y final (PV inicial y PV final), incremento de peso vivo (IPV), ganancia media diaria (GMD) y conversión alimenticia (CA), fueron estudiadas mediante la aplicación de un modelo de análisis de varianza simple, previa comprobación de la distribución normal de los datos y de la homogeneidad de varianza. Donde existió diferencia estadística significativa se aplicó la dócima de comparación de Duncan, (1955). Todas las pruebas fueron realizadas mediante el *Software* estadístico Statgraphics Version 5.1 (2002).

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 Comprobación de la calidad microbiológica del SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL®.

Los resultados de la caracterización microbiológica de los cultivos aparecen en la tabla 11. Se puede apreciar que los preparados biológicos alcanzaron altos niveles de lactobacilos y bacilos, sin presencia de contaminantes. Las condiciones de asepsia a nivel de laboratorio y la producción de sustancias antimicrobianas (ácidos y probablemente bacteriocinas) favorecieron la no proliferación de agentes microbianos extraños durante todo el período de conservación. Estos resultados coinciden con lo descrito por Milián (2009) y Rondón (2009), quienes elaboraron la metodología para la obtención de estos productos.

Tabla 11. Caracterización microbiológica de los biopreparados probióticos.

Microorganismos	Probiolactil®	Subtilprobio®
Población microbiana		
<i>Lactobacillus salivarius</i>	12 Log UFC. mL ⁻¹	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	12,8 Log UFC. mL ⁻¹
Microorganismos contaminantes		
Coliformes totales	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹
Coliformes fecales	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹
Hongos	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹
Levaduras	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹
<i>Salmonella</i>	negativo	negativo
<i>Staphylococcus</i>	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹
<i>Bacillus cereus</i>	< 10 UFC. mL ⁻¹	< 10 UFC. mL ⁻¹

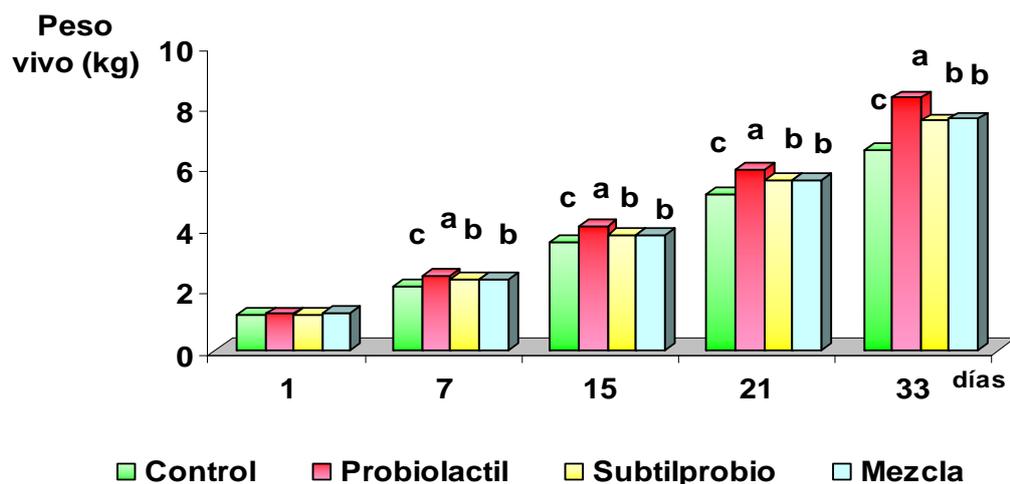
Se comprobó que el pH de los aditivos elaborados se comportó de acuerdo a las normas de calidad que se establecen en las metodologías descritas por Milián (2009) y Rondón (2009). Para el Subtilprobio® se observó un pH de 7,2 (DE: 0,96) y para el Probiolactil® se manifestó un pH de 3,8 (DE: 0,83).

Se comprobó que los dos biopreparados están libres de contaminantes, aspecto que debe ser confirmado antes de suministrar estos aditivos a los animales, no solo por un problema de bioseguridad, también para que no exista

interferencia microbiana en los efectos que éstos puedan causar en el tracto digestivo.

III.2 Determinación del efecto probiótico del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla en cerdos en la etapa de lactancia.

En la figura 9 se aprecia que los cerdos al nacer no manifestaron diferencias en el peso vivo; sin embargo, los pesajes que se realizaron a los 7, 15, 21 y 33 días muestran diferencias entre el peso de los animales del grupo control y los tratamientos donde se aplicaron los biopreparados. El mejor comportamiento se manifestó en el tratamiento 2 (Probiolactil[®]), seguido por el grupo donde se suministró el Subtilprobio[®] y la mezcla.



^{a,b,c} Columnas con letras diferentes difieren para $P < 0,05$ (Duncan, 1955).
(7 días, EE: 0,036; 15 días, EE: 0,044; 21 días, EE: 0,046 y 33 días, EE: 0,063).

Figura 9. Efecto de la actividad probiótica del Probiolactil[®], Subtilprobio[®] y su mezcla, en el comportamiento del peso vivo de cerditos lactantes durante las primeras cinco semanas de vida.

Los microorganismos que residen en el TGI interactúan con el animal hospedero, esta *microbiota* varía con la especie animal, el sitio del TGI donde se aloja, la edad del animal, la dieta que éste recibe y el ambiente.

Según Yeo y Kim (1997) y Patterson y Burkholder (2003) los animales saludables mantienen una población microbiana balanceada, lo que se corresponde con el estado eubiótico del ecosistema gastrointestinal. Se conoce que esta condición se relaciona estrechamente con la productividad y la salud de los animales.

Se comprobó que todos los biopreparados ejercieron su efecto en este indicador, al mejorar el equilibrio de la *microbiota* del TGI con la colonización por microorganismos beneficiosos que actúan en los diferentes procesos digestivos. Se conoce que los cerdos al nacer presentan un sistema digestivo poco desarrollado y que durante las tres primeras semanas de vida la producción de enzimas digestivas está destinada especialmente a digerir la leche materna, principalmente enzimas proteolíticas (pepsina, tripsina y quimiotripsina) encargadas de hidrolizar la fracción proteica del alimento. La *microbiota* del intestino de un cerdo lactante se compone con el ingreso de bacterias provenientes de la interrelación con su medio, bacterias del epitelio de la glándula mamaria, bacterias del ambiente depositadas por las heces de la madre, etc., las cuales si son perjudiciales o están en número elevado y encuentran un sistema inmune débil, podrían producir cuadros diarreicos e inclusive mortalidades importantes en la zona de maternidad (Hester *et al.*, 2012).

Se evidenció que desde la primera semana se produjo una mejora del peso de los animales que consumieron los probióticos. En este sentido, Fuller (1989) refirió que si se provee a los animales de cepas autóctonas del TGI, mediante el uso de probióticos desde las primeras horas de su nacimiento, estas bacterias colonizarán la mucosa intestinal y la protegerán de forma natural contra el crecimiento de otros microorganismos, especialmente de aquellos que son dañinos o indeseables.

Los microorganismos que residen en el TGI interactúan con el animal hospedero. Esta *microbiota* varía con la especie animal, el sitio del TGI donde se aloja, la edad del animal, la dieta que éste recibe y el ambiente. Los

animales saludables mantienen una población microbiana balanceada, lo que se corresponde con el estado eubiótico del ecosistema gastrointestinal. El uso de probióticos en cerdos está dirigido a mejorar los síntomas del estrés, ya que actúan como promotores naturales del crecimiento, aumentan la producción y mejoran el estado general del animal (Quintero y Huerta (2010) .

Se comprobó que el biopreparado Probiolactil® fue el que causó efectos superiores en este indicador. La adición de este biopreparado, que contiene *Lactobacillus salivarius*, debió aumentar la población de estos microorganismos en el TGI, los cuales forman parte de la *microbiota* nativa de este ecosistema. De acuerdo con autores como Piper *et al.* (2006), en los cerdos, las especies *Lactobacillus salivarius*, *L. fermentum* y *L. acidophilus* son los lactobacilos más abundantes de la comunidad microbiana del íleon durante el período del destete.

Estos resultados pueden estar dados porque los lactobacilos, a diferencia de *Bacillus*, tienen la capacidad de colonizar y adherirse a la mucosa intestinal, inhibiendo a los microorganismos potencialmente patógenos, también producen ácidos orgánicos, mantienen la integridad de las células epiteliales y pueden multiplicarse en condiciones anaerobias (Cross, 2002 y Coppola, *et al.* 2004).

Rondón *et al.* (2013) emplearon la cepa *L. salivarius* C65 como aditivo y demostraron que provoca efectos positivos en los indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes. Esta cepa se seleccionó como probiótico por poseer potencial para mejorar los indicadores fisiológicos, productivos y de salud en pollos de ceba (Rondón, 2009).

Martínez (2011) describe que después de los 21 días de lactancia la producción láctea de la cerda disminuye y por su parte los lechones tienen mayor tamaño. En este sentido plantea que los animales al demandar más nutrientes, lo llevan a consumir el alimento de la madre que está disponible y también pequeñas porciones de concentrado, el cual mezclado con el aditivo microbiano, favorece la colonización por estos microorganismos y el desarrollo

de un aparato inmune más fuerte, con una mejor respuesta ante determinadas situaciones.

Estos resultados pudieran atribuirse al papel que desarrollan las bacterias ácido lácticas en el TGI de los cerditos jóvenes, ya que el ácido láctico producido por estos microorganismos provee la acidez necesaria para los procesos digestivos, sobre todo en los primeros días, debido a que la secreción de ácido clorhídrico comienza a ser mayor después de la tercera o cuarta semana de vida. Estas condiciones del estómago en los cerditos también juega un papel muy importante en el control de los gérmenes patógenos y en la actividad de las enzimas, como la pepsina, cuyo rango de pH óptimo está entre 2 y 4 (Mejía *et al.*, 2007).

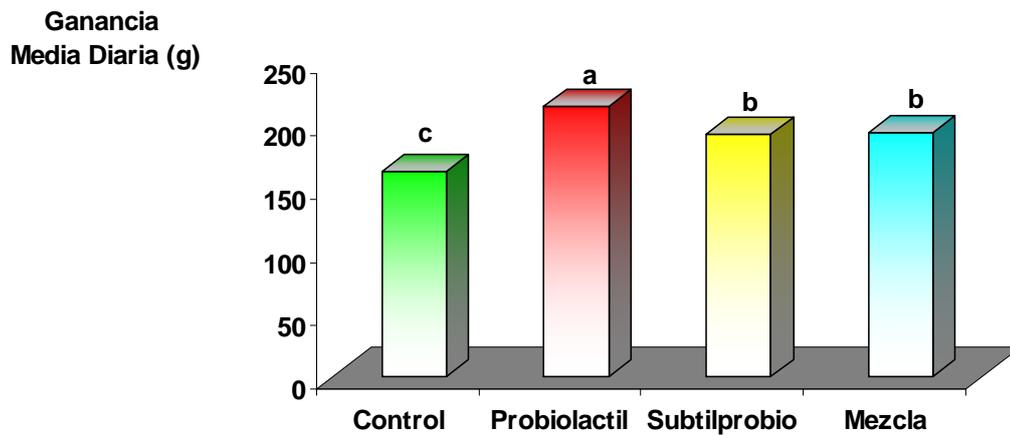
Segura y De Bloss (2000) obtuvieron como resultado que diferentes BAL fueron capaces de fermentar los carbohidratos provenientes de la dieta y produjeron altos niveles de ácido láctico y acético que inhibieron el crecimiento de *E. coli*, *Salmonella thyphimurium* y *Clostridium perfringens*, lo cual aportó beneficios en el incremento de peso al disminuir la incidencia de enfermedades diarreicas.

Por su parte Milián *et al.* (2013) informaron que la inclusión de *B. subtilis* en la dieta de pollos de ceba desencadena diferentes mecanismos de acción que traen como consecuencia el desarrollo de un mejor proceso de digestión y absorción de los nutrientes. Al parecer, en el presente estudio este microorganismo también influyó en la utilización eficiente de los alimentos, ya se produjo un aumento del peso vivo de los animales que consumieron este aditivo en relación al grupo control.

Por su parte Ayala (2014) informó que uno de los posibles mecanismos de acción del *B. subtilis* cuando se incluyó en la dieta de cerdos estuvo relacionado con un mejor proceso de digestión y absorción de los nutrientes. Al parecer, en el presente estudio este microorganismo, también, influyó en la utilización eficiente de los nutrientes presentes en el concentrado.

En la figura 10 se grafican los resultados de la ganancia media diaria, donde se observa, que existen diferencias entre el grupo control con respecto a los

demás tratamientos, con un aumento notable de este indicador en los cerditos que consumieron el biopreparado PROBIOLACTIL[®]. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Giang *et al.* (2011), quienes informaron que al suministrarle en el concentrado una mezcla de probióticos (*E. faecium*, 3×10^{11} ufc.kg⁻¹; *L. acidophilus*, 4×10^9 ufc.kg⁻¹ y *L. plantarum*, 2×10^9 ufc.kg⁻¹) a los cerditos obtuvieron mejores resultados en el aumento de peso diario.



^{a,b,c} Columnas con letras diferentes difieren para $p < 0,05$ (Duncan, 1955). EE: 1,83.

Figura 10. Efecto de la actividad probiótica del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla, en la ganancia media diaria de cerditos lactantes durante las primeras cinco semanas de vida.

Estos resultados coinciden con los observados por Marín *et al.* (2007), quienes desarrollaron dos experimentos con el objetivo de estudiar el efecto probiótico de un cultivo mixto de levaduras y bacterias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*). Este biopreparado se suministró a crías porcinas lactantes directamente en el pienso, lo cual mejoró el incremento de peso y la ganancia media diaria, además disminuyó la incidencia de diarreas y no se presentaron muertes por trastornos digestivos.

Se conoce que los lactobacilos liberan enzimas que mejoran la capacidad digestiva de los animales, inactivan eficazmente los metabolitos tóxicos de la

biota perjudicial y hacen que se incremente el proceso de absorción debido al mejoramiento del estado celular de las vellosidades. También incrementan la síntesis de vitaminas e inhiben a los enteropatógenos por aumento de la secreción de sustancias bacteriostáticas y bactericidas como las bacteriocinas (Segura y De Bloss, 2000). Además, se sabe que la actividad probiótica es multifactorial y puede estar dada por la acción directa del preparado biológico sobre el ecosistema intestinal, o la acción indirecta ejercida por la estimulación de la respuesta inmune animal y también por la activación de la biota benéfica presente en el TGI (Mañosa *et al.*, 2009).

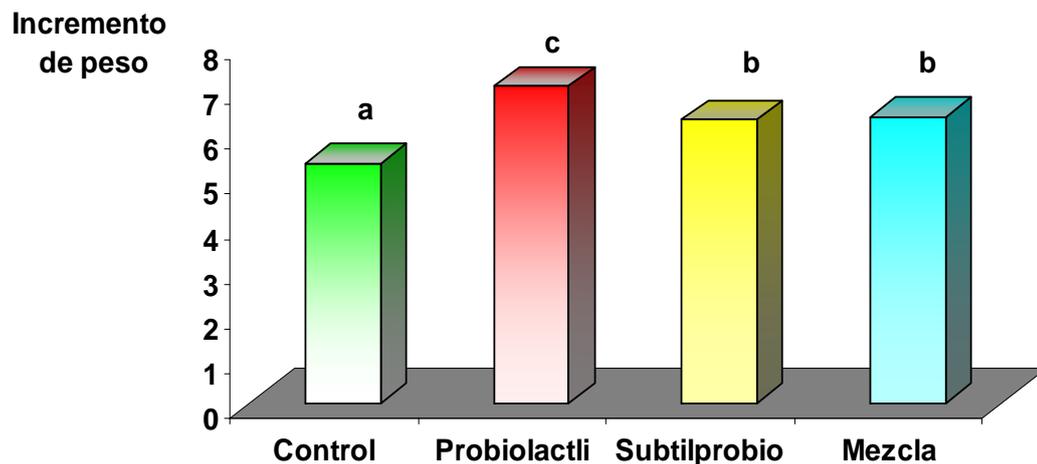
Otra actividad que debió ejercer su influencia en el tracto gastrointestinal de los cerditos es la adherencia de estos microorganismos a la mucosa intestinal de los animales. Íñiguez *et al.* (2011) plantearon que bacterias de la especie *Lactobacillus salivarius* se adhieren a los carbohidratos de la mucosa intestinal a través de proteínas denominadas lectinas presentes en la superficie celular. Otros autores confirman que esta característica contribuye a la protección de la mucosa y a la estimulación de la actividad inmune del organismo (Guerin *et al.*, 2001 y Zhang *et al.*, 2011).

Ganuzza (2012) mencionó que la presencia de *L. salivarius* en el intestino delgado podía asegurar la absorción de proteínas, al hacer más eficiente la capacidad digestiva. Este incremento de la disponibilidad proteica le brinda al organismo los elementos necesarios para producir las hormonas y las enzimas, además de contribuir a la integridad nutritiva de los animales.

Según estudios realizados por Guarner 2007 y Nazef *et al* 2008 Cada vez es mayor el empleo de los probióticos en la crianza intensiva de cerdos, por la amplia diversidad de ventajas que ofrece su uso, en este sentido se determinó que *Lactobacillus salivarius* puede eliminar a las bacterias dañinas, debido a los efectos que causan en el tracto gastrointestinal como son: el descenso de pH, la formación de agregados con otras bacterias que son eliminadas, compitiendo por las proteínas y otros alimentos y por la producción de bacteriocinas.

Simon *et al.* (2003) y .Nazef *et al.* (2008) manifiestan que el efecto en las mejoras de los procesos digestivos del hospedero, son reflejados en los resultados positivos de los probióticos en el TGI, ya que hacen que disminuya el desarrollo de las bacterias patógenas, lo que contribuye al balance de los microorganismos intestinales, proporcionando mejoras en la ganancia de peso vivo y conversión alimenticia.

En la figura 11 se observa cómo se comportó el incremento de peso en los cerditos durante el experimento. Se comprobó que en el tratamiento donde se suministró el Probiolactil[®], las crías presentaron mayor incremento de peso ($P < 0,05$) que el resto de los animales.



Columnas con colores diferentes para $p < 0,05$ (Duncan, 1955). ($P < 0,05$, $EE \pm 0,26$)

Figura 11. Incremento de peso de los cerditos durante el experimento.

Otros autores coinciden en manifestar que los lactobacilos provocan el incremento de peso debido a que estos microorganismos aumentan la disponibilidad de aminoácidos y mejoran la eficiencia en la utilización de energía y otros componentes de la dieta como la fibra (Mroz *et al.*, 2000).

Al proliferar en el TGI los microorganismos probióticos como los lactobacilos, se acentúa la producción de ácidos orgánicos, seguida por la disminución del pH. Esta situación provoca el aumento de la actividad enzimática y absorbiva

por parte del hospedero y el control en potencia de enteropatógenos. La acidificación del lumen también propicia el efecto solubilizador de los minerales con su consecuente biodisponibilidad y mayor aporte nutricional (Nomoto, 2005).

Los productos finales de la fermentación, como ácido láctico y los ácidos grasos volátiles (AGV) (principalmente los ácidos acético, propiónico y butírico) provocan una disminución del pH intestinal y por este mecanismo se inhibe el crecimiento de bacterias patógenas, las cuales compiten por nutrientes y sitios de adhesión en la mucosa (McDonald *et al.*, 2006; Seifert y Watzl, 2007). Por otra parte, con el aumento de los AGV se produce un incremento del butirato. Éste es el ácido graso que constituye la principal fuente energética para los colonocitos. Hay autores que proponen que este aumento es la clave de los efectos positivos para el funcionamiento y la salud intestinal (Roberrfroid, 2007).

Estos resultados pronostican resultados positivos en la producción final de los cerdos. En este sentido Casas (2008) planteó, que los incrementos de peso que se obtengan desde el nacimiento hasta el destete (33 d) ayudan a reducir el tiempo necesario para que los animales alcancen su peso final.

En la tabla 12 se muestran los resultados de la actividad probiótica del PROBIOLACTIL[®], el SUBTILPROBIO[®] y la mezcla de ambos productos en los indicadores de salud de los cerditos lactantes, manifestándose el mejor comportamiento en el tratamiento 2.

Los resultados obtenidos concuerdan con Cajarville *et al.* (2011), quienes refieren que la aplicación de los probióticos en las explotaciones porcinas contribuye a la reducción considerable de trastornos gastrointestinales, menor gasto de medicamentos, especialmente antibióticos, disminución de la mortalidad debido a diarreas, mejor conversión alimentaria y disminución del período de engorda.

Tabla 12. Incidencia de diarreas y mortalidad en la etapa experimental

Tratamientos	Incidencia de diarreas (%)			Mortalidad (%)		
	Prop	±ES	Sig	Prop	±ES	Sig
Control	0,94 ^c	0.04	**	0.05 ^b	0.01	*
Probiolactil [®]	0,04 ^a			0.00 ^a		
Subtilprobio [®]	0,22 ^b			0.01 ^a		
Mezcla	0,20 ^b			0.01 ^a		

Proporciones con diferentes en la misma columna difieren para $p \leq 0.05$ según Duncan (1955)

Otros autores como Casey *et al.* (2007) refirieron que el suministro de una mezcla de *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus pentosus*, *Bacillus subtilis* y *Pediococcus pentosaceo* a lechones destetados, produjo menor incidencia, severidad y duración de diarreas cuando fueron desafiados oralmente con una cepa de *Salmonella typhimurium*. Por su parte Rondón *et al.* (2013), disminuyeron la incidencias de diarreas al incluir un probiótico elaborado con *Lactobacillus salivarius* en la alimentación de cerdos.

Ojito (2012) al usar *Lactobacillus salivarius* en cerdos lactantes, demostró que la ganancia media diaria y el incremento de peso fueron unos de los indicadores con mejor respuesta del efecto probiótico, ya que desde los 28 días se observaron diferencias ($P < 0,05$) entre el grupo control y el tratado con probióticos. Según indican Milián *et al.* (2013), los probióticos generan un balance microbiano beneficioso que se convierte en una mejor salud y en la estimulación de la respuesta inmune del animal, lo que se confirma en esta investigación, al disminuir la incidencia de diarreas y la disminución de los animales enfermos.

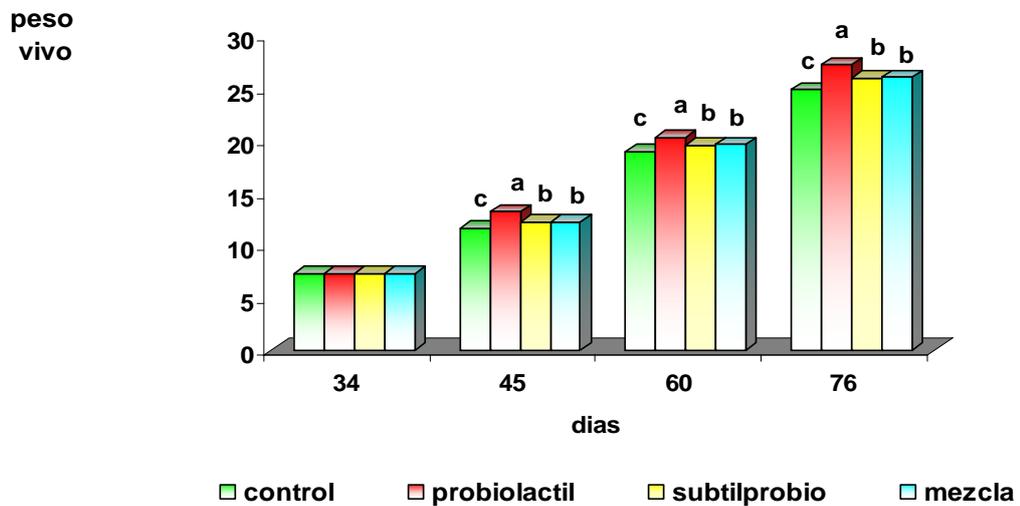
Riboulet-Bisson *et al.* (2012), obtuvieron resultados similares, donde evaluaron el efecto de la bacteriocina Abp, producida por *Lactobacillus salivarius* en la microbiota intestinal de ratones y cerdos. Estos autores comprobaron que esta bacteriocina inhibe el desarrollo de diferentes bacterias gram-negativas, como *E. coli*.

Según Trevisi *et al.* (2011) el ambiente materno es el factor que más influye en la microbiota del TGI de los lechones neonatos. En este sentido, Jurado-Gómez *et al.* (2013) también refieren que las diarreas en crías y precebas provocan el incremento del porciento de mortalidad las unidades porcinas, lo cual se constató en el grupo control de la presente investigación.

También se obtienen diferencias en la incidencia de diarreas entre los tratamientos donde se aplicó el Probiolactil[®] y el control. De igual manera Kritas *et al.* (2006) observaron la disminución de este indicador en crías lactantes suplementadas con *Bacillus subtilis* de manera directa en el alimento.

III.3. Experimento 3. Evaluación del efecto probiótico del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla en cerdos de preceba, en indicadores productivos y de salud.

En la figura 12 se muestra el comportamiento del peso vivo en los animales que se evaluaron, con el uso del Probiolactil[®], el Subtilprobio[®] y su mezcla durante la preceba. Se observó el incremento del peso vivo ($P \leq 0,05$) en los cerdos que se trataron con los biopreparados en relación con el grupo control. Este aumento se observó a partir de los 11 días de aplicado, lo cual se corresponde con los 45 días de nacidos. Se comprobó que a partir de esa edad hasta los 76 días, se produjo el aumento del peso en todos los tratamientos donde se aplicaron los biopreparados en relación al grupo control. Sin embargo, los mejores resultados se obtienen con la aplicación del Probiolactil[®], seguidos por los obtenidos en los animales que consumieron el Subtilprobio[®] y la mezcla de ambos.



EE 34 días: 0,048; EE 45 días: 0,001; EE 60 días: 0,001 y EE 76 días: 0,001 para $P \leq 0,001$.

Figura 12. Comportamiento del peso vivo durante toda la etapa experimental.

En Cuba se elaboraron biopreparados con *Lactobacillus* por Rondón (2009) con efectos positivos en los indicadores productivos de cerdos y aves. El mejor tratamiento resultó donde se aplicó *L. salivarius*. Este microorganismo se encuentra en el tracto digestivo de diferentes animales de interés zootécnico. En este sentido, Iñiguez-Palomares *et al.* (2007) aislaron ocho cepas de *Lactobacillus* del TGI de cerdos que poseían potencial probiótico debido a la resistencia de las mismas a las barreras del tránsito gastrointestinal, propiedades de adherencia y efecto antagónico frente a microorganismos patógenos. Sin embargo, *L. salivarius* fue la especie que cumplió con todos los criterios para ser seleccionada como un probiótico potencial para aplicarse en cerdos recién destetados.

Jurado-Gámez *et al.* (2013) refieren que con el uso de probióticos a base de *Lactobacillus plantarum* en cerdos durante la etapa de preceba, no se presentaron episodios de diarrea y mostraron mayor ganancia de peso vivo final. Estos autores plantean que estos resultados pueden estar dados porque los lechones tratados con probióticos asimilan mayor cantidad de nutrientes y

aumentan su peso vivo más que aquellos que no se trataron. Además, mejoran la absorción de nutrientes, la producción de vitaminas y ácidos grasos de cadena corta, que adicionalmente acidifican el lumen intestinal, todo lo cual mejora la digestibilidad de los alimentos.

Rodríguez (2014) suministró biopreparados con *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis* a cerdos durante la preceba y comprobó que el PROBIOLACTIL® fue el que produjo mayores efectos, ya que mejoró el estado de eubiosis del tracto gastrointestinal, lo cual contribuyó a incrementar ($P \leq 0,05$) el peso vivo y la ganancia de peso diaria de los animales durante la preceba. Por otra parte se produjo la mejora de la conversión alimenticia y la disminución de la incidencia de diarreas en los animales tratados. Con estos resultados se confirma el potencial probiótico que tiene este biopreparado para provocar efectos beneficiosos en el rendimiento productivo de los cerdos.

Černauskienė *et al.* (2011) concluyeron que el producto probiótico que contiene *Enterococcus faecium* DSM 7134 (nombre comercial "Bon Vital") mejora los parámetros de rendimiento de acabado en cerdos. Suitso *et al.* (2014), manifestaron que endosporas *B. smithii* TBM12 son seguras para cerdos en crecimiento, ya que su ingestión no causa cambios significativos en la microbiota o daña la biodiversidad del tracto gastrointestinal. Ihara *et al.* (2013), determinaron que una nueva cepa probiótica, *E. faecium* NHRD IHARA, puede tener efectos beneficiosos sobre el crecimiento porcino mediante la inducción de la producción de IgA y la reducción de las tasas de colonización de patógenos en el cuerpo.

Según Naqid (2015), el uso de *L. plantarum* B2984 es importante como estrategia para contribuir a la protección de los lechones destetados de patógenos bacterianos zoonóticos, como *Salmonella*.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con otros autores que sugieren que la adición a la dieta de *Bacillus* spp determina un incremento en el rendimiento del crecimiento y la salud de los cerdos. Giang *et al.* (2011),

mediante la combinación adecuada de cepas probióticas de *Bacillus*, *Saccharomyces* y bacterias ácido lácticas, obtuvieron efectos positivos en el incremento de peso, conversión alimenticia y digestibilidad, en cerdos de engorde. Davis *et al.* (2008), encontraron que la dieta con adición de un complejo de *Bacillus* mejoró la ganancia de peso diaria y la conversión alimenticia en el período de terminación de cerdos (de 64 kg de peso corporal al peso de mercado).

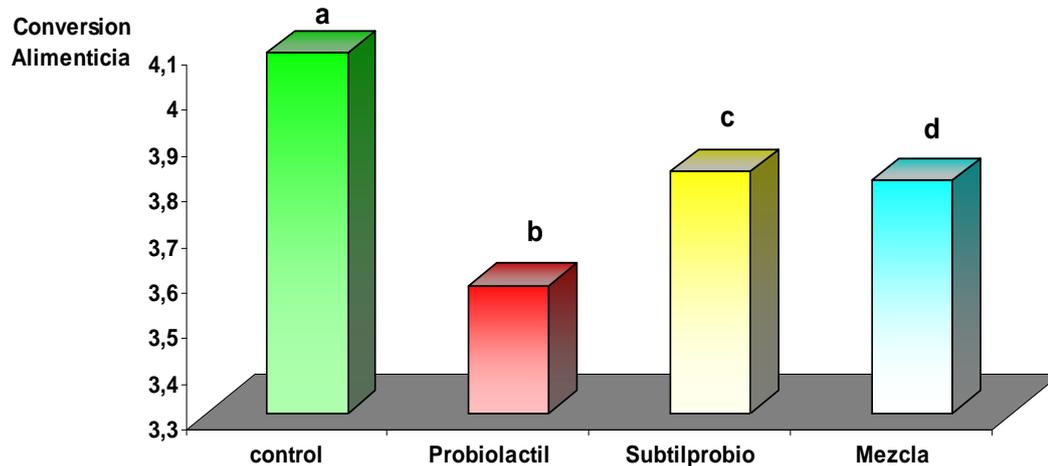
Huang *et al.* (2004) plantean que con la adición de un complejo de BAL a la mezcla de *Bacillus* y *Saccharomyces* (dieta BAL) aumentó la ganancia de peso diaria (5,9%) y mejoró la conversión alimenticia (5,9%) en comparación con el control, a pesar de que el consumo diario no fue diferente. A su vez, Chen *et al.* (2006) determinó un incremento del 0,2% de la ganancia de peso diario en cerdos en crecimiento que consumieron dietas suplementadas con complejos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *B. subtilis*).

Una evaluación de alimentación con probióticos en cerdos de engorde, llevada a cabo por Freitag *et al.* (1998), mostraron un incremento del 6,7% para las ganancias diarias de peso y un decremento de 1.4% para la conversión de alimento, en comparación con el grupo control sin suplementos probióticos.

En un estudio realizado por Simon (2001), determinó que hubo un incremento en la ganancia diaria de peso, una disminución en la tasa de conversión alimenticia. Jerešiūnas *et al.* (2006) observaron una mejora del 6% en las ganancias de peso diarias y una reducción del 12% en la conversión alimenticia.

En la figura 13 se observan los resultados de la conversión alimenticia, donde se aprecia que existen diferencias entre el grupo control con respecto a los demás tratamientos, con una mejora notable de este indicador en los cerdos que se trataron con el biopreparado PROBIOLACTIL® y los tratados con la mezcla de ambos productos. Estos resultados demuestran el efecto de los

aditivos en la fisiología digestiva de los animales, ya que es evidente, que se produce un mejor aprovechamiento de los nutrientes de la dieta.



a,b,c, Columnas con letras diferentes difieren para $p < 0,05$ (Duncan, 1955). EE: 0,04

Figura 13. Comportamiento de la conversión alimenticia en el experimento.

Los efectos de los probióticos en el TGI hacen que disminuya el desarrollo de las bacterias patógenas, mejoran al balance de los microorganismos intestinales, proporcionan mejoras en los procesos digestivos del hospedero, los cuales se reflejan en los resultados zootécnicos, tales como ganancia de peso vivo y conversión alimenticia (Simon *et al.*, 2003 y Nazef *et al.*, 2008).

Festim y Etleva (2013) evaluaron el efecto de una mezcla probiótica (1×10^9 ufc.kg⁻¹ de *E. faecium* DSM7134 y 2×10^9 ufc.kg⁻¹ de *S. cerevisiae* E1703) que se suministró en una dieta basal (dosis: 1g.kg⁻¹ de alimento) a cerdos. Estos autores observaron que la aplicación del probiótico combinado mejoró la ganancia de peso diaria (2,7%) y la conversión de materia seca (4,4%) en los animales. Chang *et al.* (2001), manifestaron que la inclusión de *L. reuteri* BSA131 en una dosis de 2×10^6 UFC.g⁻¹ en lechones destetados mejoró la ganancia de peso, la conversión alimenticia y disminuyó el número de enterobacterias en las heces.

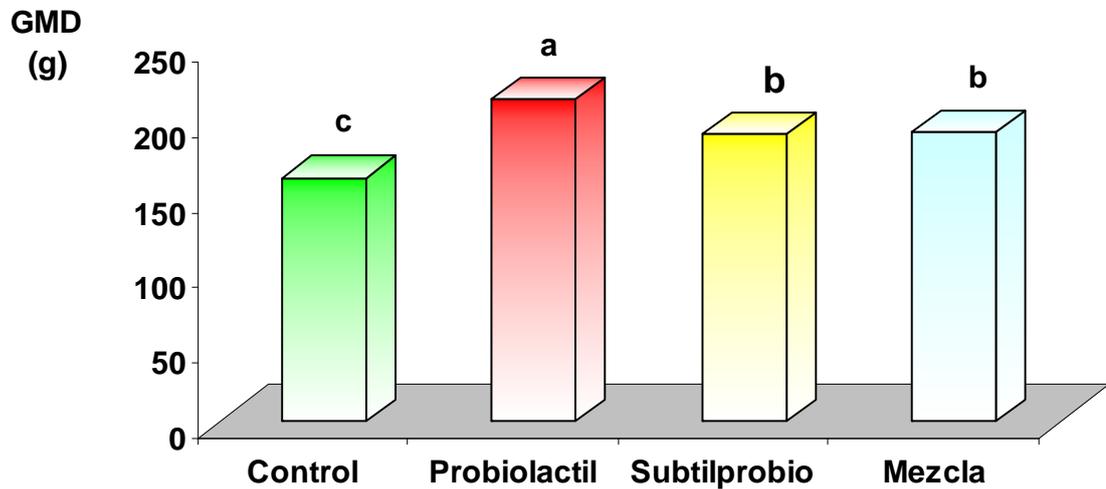
Por otra parte, Ayala *et al.* (2010), al emplear un aditivo probiótico en la dieta de cerdos en crecimiento mejoró los indicadores morfométricos y con ello se logró una mayor eficiencia productiva. Previamente, Alexopoulos *et al.* (2004), manifestaron que el peso vivo se incrementó así como mejoró el índice de conversión y calidad de la canal en cerdos tratados con un probiótico (2B BioPlus), en comparación con los controles, mientras que los efectos beneficiosos de los probióticos fueron más pronunciadas cuando se utilizaron en dosis medias y altas. Además estos aditivos pueden producir cambios morfométricos y fisiológicos, así como incidir en la calidad de la carne.

A consecuencia del estrés que se produce después del destete, el empleo de los probióticos es una opción para hacer frente a esta situación. Al respecto Yang *et al.* (2003) evaluaron un probiótico a base de *Bacillus* y sus esporas solo y en combinación con antibióticos en dietas de cerdos posdestete. Estos autores encontraron una mejora en la ganancia media diaria y el índice de conversión en los cerdos que hicieron consumo $1,1 \times 10^6$ esporas.g⁻¹ con respecto al control sin aditivo. Se evidenció, que desde el punto de vista práctico, éste es un momento clave en la vida del lechón y que su empleo de va a provocar una mejora en los índices técnicos durante el periodo de transición.

Según Wang *et al.* (2009), al utilizar *L. reuteri* I5007 en una dosis de 2×10^9 ufc/d en lechones destetados aumentó la ganancia de peso y la conversión alimenticia; se produjo la disminución de la aparición de diarreas. Esta situación se incrementa a medida que se incrementa la adición del preparado microbiano y puede deberse a que las bacterias ácido lácticas producen una serie de sustancias antimicrobianas como el peróxido de hidrogeno, ácidos orgánicos como el láctico y el acético, que reducen el pH intestinal, lo que evita la proliferación de microorganismos patógenos.

En la figura 14 se muestra el aumento ($P < 0,05$) de la ganancia media diaria (GMD) en el tratamiento donde se aplicó el Probiolactil® con respecto al resto

de los tratamientos, seguido por los resultados del Subtilprobio® y la mezcla de ambos biopreparados en relación al grupo control.



a,b,c, Columnas con letras diferentes difieren para $p < 0,05$ (Duncan, 1955). EE: 0,003

Figura 14. Comportamiento de la ganancia media diaria por tratamientos.

Estos resultados coinciden con los observados por Marín *et al.* (2007), quienes desarrollaron dos experimentos con el objetivo de estudiar el efecto probiótico de una crema de biomasa proteica, obtenida por vía simplificada del cultivo mixto de levaduras y bacterias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*). Este biopreparado se suministró a crías porcinas lactantes directamente por vía oral o en el pienso y se observó la mejora del incremento de peso y la ganancia media diaria, además disminuyó la incidencia de diarreas y no se presentaron muertes por trastornos digestivos, lo cual ratificó el efecto beneficioso del uso de este cultivo mixto de levaduras y bacterias lácticas como probiótico.

Autores como Milián (2009) y García (2011) informaron que los aditivos probióticos al estabilizar la microbiota a nivel del TGI, mejoran la digestibilidad de los nutrientes, incrementan el rango de absorción, renuevan los procesos anabólicos, con incrementos en la ganancia de peso, como resultó en el presente estudio.

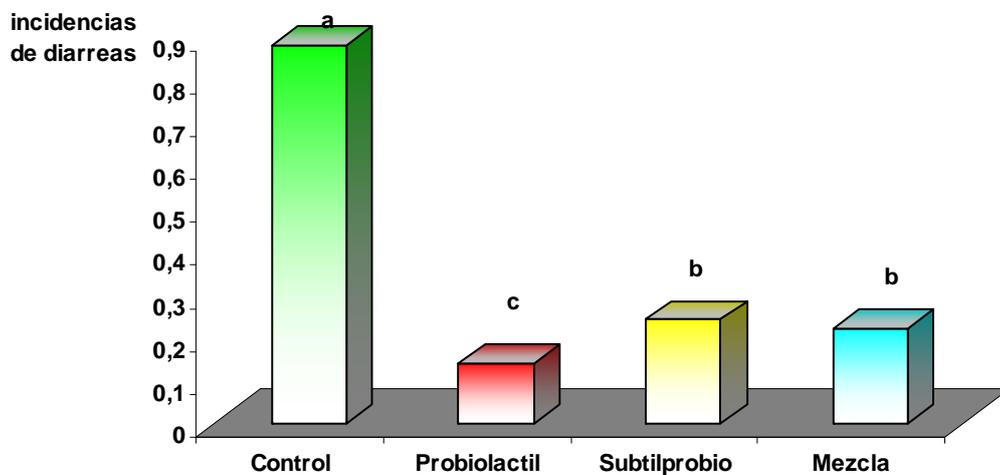
Tabasum *et al.* (2014) indicaron que la suplementación de la dieta con probióticos a base de especies de *Lactobacillus* incide positivamente en la ganancia de peso, mientras que el índice de conversión se mejora con probióticos basados en *Bacillus*. Sin embargo, en el presente trabajo estos indicadores se comportaron mejor en el grupo de animales tratados con el Probiolactil®.

Suo *et al.* (2012) encontraron mejores valores para la ganancia diaria de peso y conversión alimenticia por efecto de *L. plantarum* ZJ316. Mientras que García *et al.* (2014) determinaron que la adición del probiótico (NEUTRO) en la dieta para lechones post-destete no afectó el comportamiento productivo o el peso al sacrificio.

Vrotniakienė y Jatkauskas (2013), manifestaron que los animales tratados con probióticos fueron capaces de defenderse contra *E. coli* y las diarreas, así como producir mayor tasa de crecimiento y eficiencia de la alimentación, que los animales que no eran tratados. Según Price *et al.* (2010), la adición de *Saccharomyces cerevisiae* (producto Diamoud V original XPC) a los cerdos destetados resultaron en mayor ganancia de peso después de la infección con *Salmonella* que en los cerdos alimentados con dietas convencionales.

Por otra parte, Suo *et al.* (2012) informaron que el % de lechones con diarreas disminuyó a 7,06% con el uso de un antibiótico y a 2,17% por efecto de la utilización *L. plantarum* ZJ316. Al igual que Giang *et al.* (2012), demostraron que la adición de *S. boulardii* Sb provocó menor incidencia de diarreas.

En la figura 15 se muestra que la presencia de diarreas fue menor en el grupo tratado con PROBIOLACTIL®, tratamiento donde solamente se presentaron cerdos enfermos durante la primera semana de aplicación del biopreparado, mientras que el grupo control mostró mayor número de cerdos con diarreas y de manera repetitiva durante las primeras semanas del experimento.



EE: 0,05 para $P \leq 0,05$.

Figura 15. Incidencia de diarreas en los animales por tratamientos.

Según Hu *et al.* (2015) las especies de *Lactobacillus* son consideradas bacterias beneficiosas del tracto gastrointestinal de los cerdos destetados y su presencia es importante para mantener una microbiota intestinal equilibrada, debido a sus efectos como promotores de la salud, en la prevención de diarreas e infecciones intestinales.

Jurado-Gómez *et al.* (2013) informan que cuando se aplicaron probióticos elaborados con *L. plantarum*, se obtuvieron efectos favorables en la salud de los lechones, ya que no se presentaron casos de diarrea durante el experimento, debido a que los probióticos poseen actividad inhibitoria frente a bacterias patógenas, refuerzan la inmunidad mucosal y disminuyen el pH en el ciego, incrementándose los *Lactobacillus*. Resultados similares se obtuvieron en el presente experimento cuando se le incluyó en la dieta a los cerditos el Probiolactil®. Estos autores también consideran que cuando el destete ocurre a los 35 días, las vellosidades se reducen de 410 a 299 μm en tan sólo tres días y resulta más dramática cuando se desteta a los cerditos a los 21 y 28 días. De modo que esta situación puede ocasionar la pérdida de área de superficie para la absorción de nutrientes. En tal sentido indican que estos trastornos podrían

ser contrarrestados con la aplicación de inóculos probióticos de *L. plantarum* en la ración de iniciación.

Otros autores como Río-Pérez y Rodríguez-Membrive (2000) sostienen que el efecto de los probióticos se da principalmente a nivel de íleon, con un incremento del número de BAL y en menor proporción, a nivel de ciego y colon proximal.

Thirabunyanon y Thongwittaya (2012) reportaron que una cepa probiótica de *Bacillus subtilis*, NC11, tiene una actividad protectora contra la infección por *S. enteritidis* y es capaz competitivamente de excluirlo en su sitio original del tracto gastrointestinal.

Otros autores como Río-Pérez y Rodríguez-Membrive (2000) sostienen que el efecto de los probióticos se da principalmente a nivel de íleon, con un incremento del número de BAL y en menor proporción a nivel de ciego y colon proximal.

Bocourt *et al.* (2002), Brizuela (2003) y Ayala *et al.* (2012) informaron la disminución de diarreas cuando emplearon en la dieta microorganismos probióticos con cepas de *Lactobacillus* y *Bacillus*. Lo cual indica que con el empleo de estos biopreparados se logra mantener equilibrada la microbiota del TGI con un nivel inmunológico superior y un mayor control de los microorganismos patógenos. Esto demuestra que una alternativa para disminuir este indicador lo constituye sin dudas, el uso de los aditivos probióticos de manera preventiva o profiláctica.

También Liu *et al.* (2014) demostraron que la manifestación de diarreas fue menor en los lechones alimentados con *L. reuteri* I5007 en comparación con el tratamiento control. Por su parte, Vrotniakienė y Jatkauskas (2013) expresaron que los animales tratados con probióticos fueron capaces de defenderse frente a *E. coli* y las diarreas, así como producir mayor tasa de crecimiento y eficiencia de la alimentación, que los animales que no se trataron.

Otros trabajos demuestran que cuando se utilizan bacterias ácido láctico se mejoran los indicadores fisiológicos y de salud. Recientemente Zhao y Kim

(2015) refirieron que al utilizar una mezcla de *L. reuteri* y *L. plantarum* en una concentración de 10^6 ufc/g en cerdos se aumentó la digestibilidad total de nitrógeno, la energía bruta, se produjo mayor tasa de crecimiento y se elevó la eficiencia alimentaria. Por otra parte, la concentración de *Lactobacillus* disminuyó la emisión de gas fecal, la incidencia de diarrea y la concentración de *E. coli* en comparación con los animales que no eran tratados o grupo control.

Ricca *et al.* (2010), determinaron que *E. faecalis* LAB31 benefició el equilibrio de las comunidades del TGI al estimular el crecimiento de microbios beneficiosos. Una vez que se mejora la salud intestinal, la incidencia de diarrea se reducirá y mejora así, el desempeño del crecimiento del huésped. El destete es un período estresante en la vida de los lechones, que se asocia con cambios en la dieta, el medio ambiente y la morfología intestinal.

Pluske (2013), manifestó que luego del destete, los cerdos son altamente susceptibles a enfermedades entéricas y las causadas por *E. coli* (la diarrea post-destete) son responsables de considerables pérdidas económicas en la industria porcina.

En la tabla 13 se exponen los valores de la mortalidad durante el experimento. Se aprecian valores inferiores en los tratamientos donde se aplicaron los aditivos, mientras que el grupo control fue el más afectado.

Tabla 13. Comportamiento de la mortalidad.

Indicador	Tratamientos				EE ±Sign
	Control	PROBIOLACTIL®	SUBTILPROBIO®	Mezcla	
Mortalidad (F=3,85)	0,06	0,00	0,01	0,00	0,02

En estudios anteriores se plantea, que los biopreparados probióticos de *Lactobacillus* y *Bacillus* utilizados en el presente trabajo, contribuyen a disminuir la incidencia de enfermedades en los animales por la estimulación del

sistema inmune (Milián, 2009 y Rondón, 2009). En este sentido Kunavue y Lien (2012) reportaron incrementos de las IgG en el suero de cerdos posdestete que consumían una dieta que contenía un cultivo de *B. subtilis* (10^9 UFC.g⁻¹). Otros autores como Aly *et al.* (2008) informaron cambios en las células humerales que median la respuesta inmune, cuando usaron especies de *Bacillus* y *Lactobacillus* solas o combinadas en peces y cerdos.

Marubashi *et al.* (2012) determinaron el efecto de un aditivo probiótico para piensos (Calsporin®) en lechones destetados y comprobaron que la mortalidad era normal dentro de los modelos experimentales utilizados y no se vio afectada por el tratamiento.

Riboulet-Bisson *et al.* (2012) obtuvieron resultados similares al presente trabajo, donde evaluaron el efecto de la bacteriocina Abp, producida por *Lactobacillus salivarius*, en la microbiota intestinal de ratones y cerdos. Estos autores comprobaron que esta bacteriocina inhibe el desarrollo de diferentes bacterias gram-negativas, como *E. coli*.

III.4 Determinación de los beneficios económicos del uso de los aditivos probióticos en cerdos durante la etapa de preceba.

Valoración de la factibilidad económica del empleo de los biopreparados en cerdos.

En el presente trabajo se realizó la determinación del costo de producción, de los biopreparados a escala de laboratorio. En las tablas 14 y 15 se presenta una actualización de los recursos necesarios y el costo de producción para el PROBIOLACTIL® y el SUBTILPROBIO® en condiciones de laboratorio.

Como se puede apreciar, los medios de cultivo empleados inciden en los bajos costos de los biopreparados. El costo para producir 1 L de PROBIOLACTIL® fue de 2,28 CUP y 0,63 CUC y el SUBTILPROBIO® fue de 2,34 CUP y 0,54 CUC a escala de laboratorio. Estos valores son bajos, ya que los medios de cultivo para ambos biopreparados se formulan con componentes nacionales y

de bajo costo de producción. En estos medios se sustituye la glucosa, la peptona, el extracto de levadura y el extracto de carne, que son productos más costosos y de menor disponibilidad por miel final de caña de azúcar y levadura procedente de la destilación de alcohol (Pérez, 2000; Rondón, 2009; Milián, 2009 y Laurencio, 2010).

Tabla 14. Costo de producción del PROBIOLACTIL® a escala de laboratorio (5L).

Descripción		UM	Precio CUP	Precio CUC	Cantidad	UM	Importe CUP	Importe CUC
Componentes de los biopreparados								
Miel final	1000	kg	60,00	-	0,15	kg	0,009	-
HELSc	1	L	0,03	0,05	1,050	L	0,031	0,0525
Fosfato de potasio	500	g	-	2,79	10	g	-	0,061
Citrato de amonio	500	g	-	2,79	25	g	-	0,153
Acetato de sodio	1	kg	-	1,27	0,025	kg	-	0,034
Sulfato de Manganeso	1	kg	-	0,66	0,0010	kg	-	0,0007
Sulfato de Magnesio	1	kg	-	0,62	0,00020	kg	-	0,00013
TOTAL							0,04	0,30
Elementos del proceso								
Energía	-	-	-	-	-	-	0,83	
Salario	-	-	-	-	-	-	9,52	
Depreciación	-	-	-	-	-	-	-	0,33
Seguridad social	-	-	-	-	-	-	1,02	
Total (5 L)	-	-	-	-	-	-	11,41	0,63
Total (1 L)							2,28	0,13

Unidad de medida, **UM**; Moneda Nacional, **CUP**; **CUC**.

Tabla 15. Costo de producción del SUBTILPROBIO® en condiciones de laboratorio (5 L).

Materias primas y elementos	UM	Precio MN	Precio USD	Cantidad	Importe MN	Importe USD
Componentes del biopreparado						
Miel final	1000 kg	60,00	-	0,225 kg	0,072	-
Hidrolizado de levadura	1L	0,03	0,05	0,225 L	0,036	0,06
Cloruro de calcio	500 g	-	12,50	0,1 g	-	0,071
Peptona bacteriológica	500 g	-	24,22	18 g	-	2,325
Costo	-	-	-	-	0,11	2,46
Elementos del proceso						
Energía	-	-	-	-	1,07	-
Salario	-	-	-	-	9,52	-
Depreciación	-	-	-	-	-	0,28
Seguridad social	-	-	-	-	1,02	-
Total (5 L)					11,71	2,73
Total (1 L)					2,34	0,54

UM: unidad de medida; **precio en MN:** precio en moneda nacional de los reactivos utilizados; **precio en USD:** precio en dólares estadounidenses de los reactivos utilizados; **cantidad:** la cantidad de kg, L y g que se usaron para los 5 L; **importe en MN y USD:** precio total para cada reactivo usado en la elaboración de los 5 L de biopreparados.

En la tabla16 se muestra un resumen de los aspectos que se tuvieron en cuenta para la determinación de los costos fijos, los costos variables, los ingresos y la ganancia total que se produjo en cada uno de los grupos de animales, mientras duró el experimento. Se puede apreciar que durante las seis semanas, con la aplicación de los probióticos, se obtuvieron mayores ingresos con estos tratamientos.

Tabla 16. Ganancia Total que se produjo durante el experimento.

Grupos		Control			POBIOLACTIL			SUBTILPROBIO			Mezcla		
COSTOS FIJOS													
Conceptos	UM	Cantidad	Precio CUP	Importe CUP	Cantidad	Precio CUP	Importe CUP	Cantidad	Precio	Importe CUP	Cantidad	Precio	Importe
Cerdos Ubicados	u	20	110,5	2210	20	110,5	2210	20	110,5	2210	20	110,5	2210
Consumo de Alimentos	kg	264,6	0,5	133	378	0,5	189	359,3	0,5	179,65	378	0,5	189
Probiótico (5mL/kg/alim)					2	2,41	4,82	2	2,34	4,68	2	2,41+2,34	4,75
Vacuna	mL	80	0,87	69,6	80	0,87	69,6	80	0,87	69,6	80	0,87	69,6
Salario	CUP	1	330	330	1	330	330	1	330	330	1	330	330
Total de costos fijos				2742,6			2803,42			2793,93			2803,35
COSTOS VARIABLES													
Antibióticos	mL	85	0,35	29,75	15	0,35	5,25	25	0,35	8,75	20	0,35	7
Total de costos variables	CUP			29,75			5,25			8,75			7
TOTAL				2772,35			2808,67			2802,68			2810,35
INGRESOS													
Peso Vivo Promedio por animal	kg	24,82	8,5	210,97	27,21	8,5	231,28	25,96	8,5	220,66	26,01	8,5	221,08
Peso Vivo total	kg	347,48	8,5	2953,58	544,2	8,5	4625,7	493,24	8,5	4192,54	520,2	8,5	4421,7
Total de ingresos	CUP			2953,58			4625,7			4192,54			4421,7
Ganancia (Ingresos-Costos totales)				125,23			1817,43			1380,51			1611,35

Estos resultados indican que sería factible emplear estos productos en las granjas porcinas de la provincia y de todo el país. Se puede estimar que los costos variables están en correspondencia con la cantidad de antibióticos que se aplicó a los animales que presentaron diarreas en cada tratamiento. Se observa que el grupo control fue el más afectado, por lo que el costo por concepto de utilización de medicamentos fue superior a los restantes, donde se aplicaron los biopreparados. Sin embargo, los costos totales del grupo control son más bajos, por una disminución de los costos por utilización de alimentos, debido a la muerte de los animales en la primera semana, después del destete.

En la figura 16 se presentan los resultados de los ingresos que se obtuvieron en cada uno de los tratamientos. Se puede observar que el valor más bajo se presentó en el grupo control, debido a que en este tratamiento se presentaron 6 muertes y la ganancia de peso fue inferior a los grupos tratados con los probióticos.

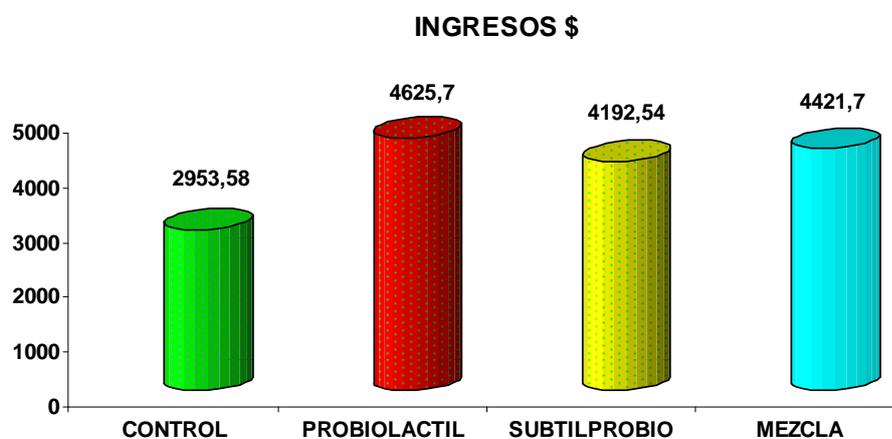


Figura 16. Total de ingresos que se obtuvieron en el experimento.

En la figura 17 se observan los resultados del cálculo del costo por peso en cada tratamiento. Se comprobó que los mejores resultados se corresponden con los obtenidos con el biopreparado Probiolactil[®], ya que se necesita gastar 0,61 CUP para obtener 1 CUP. Estos resultados, aunque preliminares,

demuestran que podrá producirse un mejor comportamiento de estos indicadores económicos en la etapa final de la crianza.

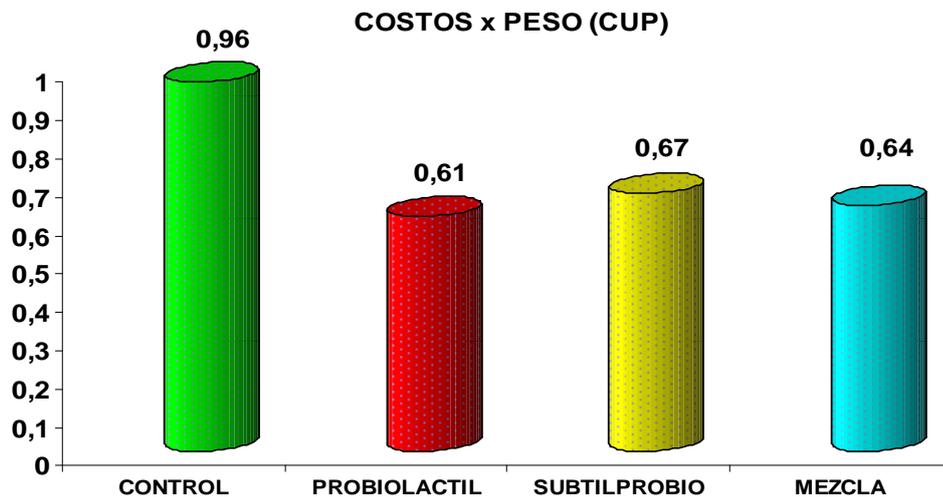


Figura 17. Costo por peso de cada uno de los tratamientos empleados en el experimento.

En el grupo control, de los 20 cerdos iniciales terminaron el ciclo 14, para un 70% de viabilidad, mientras que en los tratamientos que incluían el uso de los aditivos, este indicador se comportó entre un 95 y 100%. Los animales que mueren inciden directamente en el resultado económico de la producción total. Con estos resultados no sólo se afectan los gastos, sino que al perder animales, los ingresos previstos disminuyen y hacen que la pérdida sea superior, con afectaciones en la rentabilidad del sistema. Estas consideraciones se aprecian en los resultados del cálculo de la rentabilidad (figura 18), donde se observa que en el grupo control este indicador alcanzó solamente el valor de 4,43, mientras que en los tratamientos, donde se suministraron los biopreparados fue superior.

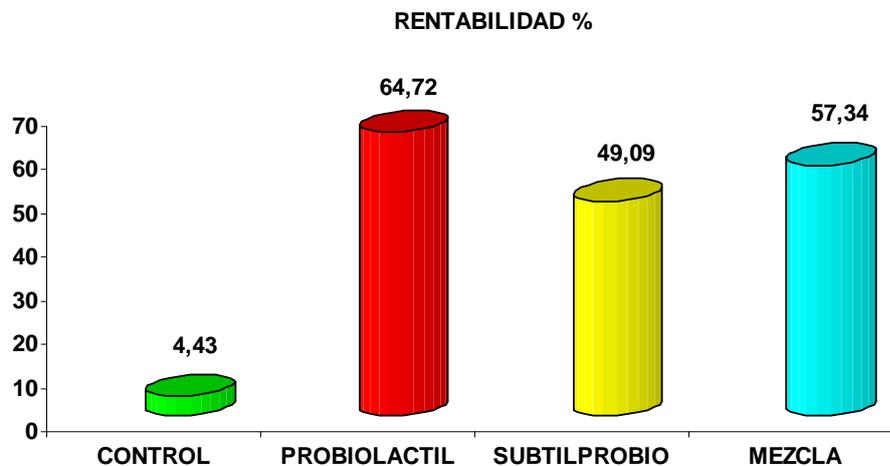


Figura 18. Rentabilidad de cada uno de los tratamientos empleados en el experimento.

Estos resultados tienen gran importancia desde el punto de vista económico y social, ya que se produce un aumento de la producción, que propicia mayor fuente de ingresos para la entidad porcina, pero además aportan alimento de gran valor proteico para la población.

En el grupo control, de los 20 cerdos iniciales terminaron el ciclo 14, para un 70% de viabilidad, mientras que en los tratamientos que incluían el uso de aditivos, este indicador se comportó al 100%, excepto para el grupo que consumió *Bacillus subtilis*, donde hubo una muerte. Los animales que mueren inciden directamente en el resultado económico de la producción total. Éste no solo se afecta en los gastos, sino que al perder animales, los ingresos previstos disminuyen y hacen que la pérdida sea superior con afectaciones en la rentabilidad del sistema. Resultados similares fueron obtenidos por López (2014), quien refiere que cuando ocurre la muerte de los animales en la categoría de lactante se producen pérdidas económicas irreversibles. Por otra parte, también inciden los beneficios que se obtienen por el aumento del peso vivo en los animales que consumieron los biopreparados.

CONCLUSIONES

1. Los aditivos probióticos SUBTILPROBIO® y PROBIOLACTIL® mantienen su estabilidad en los indicadores microbiológicos, al contener alta viabilidad de los microorganismos probióticos y ausencia de contaminantes.
2. Los aditivos zotécnicos PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® y su mezcla mejoraron los indicadores productivos y de salud de cerdos durante las etapas de lactancia y preceba, expresándose mayores efectos en los cerdos que consumieron el biopreparado a base de *Lactobacillus salivarius*.
3. La aplicación de los biopreparados SUBTILPROBIO® PROBIOLACTIL® en cerdos durante la etapa de preceba le confieren a la crianza de los animales beneficios económicos por concepto de mejora de los indicadores productivos y la disminución de gastos en medicamentos.
4. Los resultados positivos del consumo de estos biopreparados por los cerdos en lactancia y preceba, avala su utilización como probiótico en la crianza de estos animales.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar diferentes dosis del PROBIOLACTIL® para optimizar la aplicación del biopreparado.
2. Evaluar el efecto de los biopreparados en indicadores inmunológicos.
3. Proponer que el biopreparado probiótico PROBIOLACTIL® se emplee en la crianza de cerdos para mejorar los indicadores productivos y de salud.
4. Desarrollar un experimento donde se evalúen los indicadores productivos, de salud y económicos, con la aplicación del aditivo desde las cerdas gestantes hasta la ceba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexopoulos, C.; Georgoulakis, A.; Tzivara, A.; Kyriakis, C.; Govaris, A. y Kyriakis, S. 2004. Field Evaluation of the Effect of a Probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* Spores on the Health Status, Performance, and Carcass Quality of Grower and Finisher Pigs. *Journal of Veterinary Medicine*. 51 : 306-312.
- Álvarez-Olmos, M.I. y Oberhelman, R.A. 2001. Probiotic agents and infectious diseases: A modern perspective on a traditional therapy. *Clin. Infect. Diseases* 32 : 1567-1576.
- Aly, S.M.; Abdel-Galil, A.Y.; Abdel-Aziz, G.A.; Mohamed, M.F. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immun.* 25:128.
- Angel, R., Dalloul, R.A. y Doerr, J. 2005. Metabolism and nutrition: Performance of broiler chickens fed diets supplemented with a direct-fed microbial. *Poult. Sci.* 84 : 1222-1231.
- Ariğ, N.; Süzer, C.; Gökvardar, A.; Başaran, F.; Çoban, D.; Yıldırım, S.; Kamacı, H. O.; Firat K. y Saka, S. 2013. Effects of Probiotic (*Bacillus* sp.) Supplementation during Larval Development of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*, L.) *Turk J of Fish and Aqua Sci.* 13 : 407.
- Avram, A. 2010. Products for the gaden within us. *Lactobacillus salivarius*. *Rev. Porcicultura Iberoam* 1: 2.
- Awad, W.; Ghareeb, K.; Abdel-Raheem, S y Böhm, J. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poult Sci.* 88: 49.
- Ayala L.; Bocourt, R.; Castro, M.; Martínez, M.; Dihigo, L.; Hernández, L. y García, E. 2010. El rol de los probióticos en indicadores morfométricos de órganos internos en cerdos en crecimiento. *Revista Computadorizada de Producción Porcina.* 17 : 32-34.
- Ayala, Lázara. 2014. Respuesta biológica de cerdas y su descendencia al consumo del aditivo Subtilprobio. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias, INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL Departamento de Manejo y Alimentación de Animales Monogástricos.
- Ayala, L.; Bocourt, R.; Castro, M.; Milián, G.; Oliva, D.; Herrera, M. 2012. Suministro de un cultivo de *Bacillus subtilis* a cerdas gestantes. Respuesta productiva en su descendencia *Revista Computadorizada de Producción Porcina.* 19 : 260.

- Aymerich, T.; Artigas, M.G.; Monfort, J.M. y Hugas, M. 2009. Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* 88:686-694.
- Bennett, R.W. y Lancette, G. A.2007. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual. On-line <http://www.fda.gov/oc/sapnish/> . Consultada en Enero 2015.
- Bocourt, R.; Savón, L. y Díaz, J. 2002. Efecto de la actividad probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* en indicadores fisiológicos, productivos y de salud de cerdos jóvenes. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Palacio de las Convenciones. Ciudad de la Habana, Cuba. p. 135.
- Brizuela, M.A. 2003. Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos. Tesis presentada en opción al título académico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Buchanan, R. E. y Gibbons, N. E. 1997. *Bergey Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Edition. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. U.S.A.
- Cajarville, C.; Brambillasca, S. y Zunino, P. 2011. Utilización de probióticos en monogástricos: aspectos fisiológicos y productivos relacionados al uso de sub-productos de agroindustrias y de pasturas en lechones. *Revista Porcicultura Iberoam* 1: 2.
- Campabadal, C. M. y Navarro, H.1994. Manejo y alimentación del lechón pre y posdestete. *Asociación Americana de Soya* N0. 92: 21.
- Casas, X. 2008. Los lechones pequeños: un problema en maternidades. Disponible en: www.engormix.com/Articulos/tecnicos/Genetica/Reproduccion/. Consultado: 08/04/2015.
- Casey, P.; Gardiner, G.; Casey, G.; Bradshaw, B.; Lawlor, P.; Lynch, P.; Leonard, F.; Stanton, C.; Ross, R.; Fitzgerald, G. y Hill, C. 2007. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 1858-1863.
- Černauskienė, J.; Bartkevičiūtė, Z.; Hammerer, J.; Kozłowski, K. y Jeroch, H. 2011. The effect of "Bonvital", a probiotic product containing *Enterococcus faecium* on the fattening performance, carcass characteristics and meat quality of pigs under production conditions. *Veterinarija Ir Zootechnika*. 54:20-25.

- Chen, Y.; Min, B.; Cho, J.; Kwon, O.; Son, K.; Kim, H. y Kim, I. 2006. Effects of dietary *Bacillus*-based probiotic on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and fecal noxious gas content in finishing pigs. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 19:587–592.
- Chikindas, M.L.; García, G.; Driesessen M.J.; Ledebor A.J.M.; Nissen, M, J.; Nes, I.F.; Abee, T.; Konings, W.N. y Venema, G. 1993. PediocinPA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:3577-3584.
- Chiquieri, J.; Nobre-Soares, R.; Michelle Sant', A L. y Hurtado-Nery, V. 2010. Pronutrientes en la Alimentación de Lechones Destetos. *Rev. Orrinoquia*, 14(2) : 140 Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx>. (Fecha de consulta: Enero 2015).
- Chang, Y.; Kim, J.; Kim, H.; Kim, W. y Kim, Y. 2001. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent in vivo studies. *Antonie Van Leeuwenhoek* 80:193–199.
- Cho, J.H.; Zhao, P.Y. y Kim, I.H. 2011. Probiotics as a Dietary Additive for Pigs. *10 (16): 2127-2134.*
- Coppola, M.M.; Canceicao, F.R. y Gil-Turners, C. 2004. Effect of *Saccharomyces boulardi* and *Bacillus cereus* var *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. *Rev Food Agricultural Immunology*. Pág.16.
- Cortés, C.; Casauboa, H. y Carrillo, D. 2000. El efecto de *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorde. *Rev Vet México*. 31: 308.
- Cross, M.L. 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic against microbial pathogens. *FEMS Immun med microl.* 34: 245.
- De Angelys M.; Siragusa S.; Caputo L.; Ragni A.; Burzigotti R. and Gobetti M. 2007. Persistence of *Lactobacillus Plantarum* 4.1 and *Lactobacillus reuteri* 3S7 IN the gastrointestinal tract of pigs. *Vet Microbiol* 123(1-3):133-144.
- De Mann, J.C.; Rogosa, M. y Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Bacteriol.* 23:130-135.
- Duncan, B. 1955. Multiple ranges and multiple F. Test *Biometrics* 11:1
- Eamonn, Q.; Rodrigo, Q.P. y Madrid, A M. 2005. El rol de los probióticos, prebióticos y simbióticos en gastroenterología. *Rev Gastr Lat.* 16: 218.

- Easter, R. A. 1995. Growth, body composition and nutrition. En: Memorias Curso de Lance. San José, Costa Rica. 17. effects of probiotic and food borne yeast on human health. *Nutrients* 2: 449.
- EFSA. 2007. European Food Safety Authority. Introduction of a Qualified Presumption of Safety, QPS approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA Opinion of the Scientific Committee. Qu.
- English, R.; Smith, W. y Maclean, A. 1985. La cerda: cómo mejorar su productividad. Editorial el manual moderno .S.A. CV de México. 391 p.
- Escalante, A. 2001. El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. *Enfermedades Infecciosas Microbiol. Clín.* 21:106-114
- FAO. 2012. Caracterización Regional de la Producción Porcina y Análisis de la Situación Epidemiológica. Disponible en:
<http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/ppc/pdf/enppc.pdf>.
Consultado: 15/3/2016.
- FAO. 2014. Caracterización Regional de la Producción Porcina y Análisis de la Situación Epidemiológica. Disponible en:
<http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/ppc/pdf/enppc.pdf>.
Consultado: 23/4/2016.
- Faria D, E.; Torres,K.A.A.; Campos, D.M. y Bosa, P.S. 2006. *Probiotics* for broiler chickens in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Rev. Bras. Ciencia Avícola* 8(2) Campinas Apr/June.
- Ferreira, A.J.P.; Ferreira C.S.A.; Knobl T.; Moreno,A.M.; Bacarro, M. R.; Chen, M.; Robach, M., y Mead, G. C. 2003. Comparison of three commercial competitive-exclusion products for controlling *Salmonella* colonization of broilers in Brazil. *Journal of Food Protection*, 66: 490–492.
- Festim, S.; Etleva, D. 2013. Using feed additives as a way to improve growth performance in weaned piglets. *Albanian J. Agric. Sci.* 12:725-728.
- Flores, E:T y Escobar,C:H. 2012. Sistema Digestivo Monogastrico. Disponible en: [http:// Sistemadigestivomonogastrico.blogspot.com/](http://Sistemadigestivomonogastrico.blogspot.com/). Consultado: febrero 4 de 2016.
- Freitag, M.; Hensche, H. U.; Schulte-Sienbeck, H.; Reichelt, B. 1998.Kritische Betrachtung des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tierernährung.Forschungsbericht des Fachbereiches Agrarwirtschaft Soest, Universität-Gesamthochschule Paderborn.p.199.
- Fuller, R.1989.Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66 (5):365-378.
- Fuller, R. 1999. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365.

- Ganuja, P. 2012. Suplementos de Probiotics del R – jardín. Disponible en: <http://www.wholeearthhealth.com/enzymes>. Fecha de consulta: 12/4/2016.
- García, R.; Hernández, K.; Kawas, J.; Salinas, J.; Vega, A.; Ruiloba, M.; Fimbres, H. 2014. Efecto de nucleótidos y péptidos de *Saccharomyces cerevisiae* (NUTRO) en la alimentación de cerdos post destete. *Revista Científica, FCV- LUZ.* 24 (1): 29-37.
- García, Y. 2011. Obtención de microorganismos con actividad probiótica a partir de excretas de pollo de ceba fermentada. Tesis en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal, San José de las Lajas. Pág.133.
- Gatnau, R.; Mateos, G. y Lázaro, R. 1995. Utilización de proteínas plasmáticas de origen porcino en dietas para lechones. En: *Avances en Nutrición y Alimentación Animal.* (eds.). FEDNA. Barcelona, España. Pág. 169.
- Giang, H.; Viet, T.; Ogle, B. y Lindberg, J. 2012. Effects of Supplementation of Probiotics on the Performance, Nutrient Digestibility and Faecal Microflora in Growing-finishing Pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24:655-661.
- Giang, H.; Viet, T.; Ogle, B.; Lindberg, J. 2011. Effects of Supplementation of Probiotics on the Performance, Nutrient Digestibility and Faecal.
- Gibson, G. R. y Roberfroid, M.B. 2008. *Handbook of prebiotics.* Group. London. New York. ISBN 978-0-8493-8171-3, disponible en:<http://www.taylorandfrancis.com>. 506 p. Consultado [15/3/2016].
- Gómez, A. S.; Vergara, D. y Argote, F. 2008. Efecto de la dieta y edad del destete sobre la fisiología digestiva del lechón. *Facultad de Ciencias Agropecuarias.* 6:32.
- Grigg, L. y Jacob, J. P. 2005. Alternatives to Antibiotics for Organic. *Poultry Production. J. Appl. Poult. Res.* 14: 750–756.
- GRUPOR 2013. *Categorización Año 2013.* MINAG, Enero/204. Pág. 81.
- Guarner, F. 2007. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutri. Hosp.* 22 (2): 14-19.
- Guerin, C. ; Meslin, J. ; Chambard, A. ; Charpiliense, A. ; Relano, P. ; Bouley, C. ; Cohen, J. y Andrieux, C. 2001. Food supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* DN - 114 001 protects suckling rats from rotavirus associated diarrhea. *J. Nutr.*, 131(1): 111-117.
- Harrigan, W.F. y McCance, M. 1968. *Métodos de laboratorio de Microbiología.* Editorial Academia. León, España.

- Herpin, P.; Le Dividich, J.; Hulin, J.C.; Fillaut, M., De Marco, F. & Bertin, R. 1996. Effects of the level of asphyxia during delivery on viability at birth and early postnatal vitality of newborn pigs. *J Anim Sci.* 74: 2067.
- Hester, N.S.; Comstock, S.S.; Thorum, S.C.; Monaco, H. M.; Pence, D. B.; Woods, J. A. y Donovan, S.M. 2012. Intestinal and systemic immune development and response to vaccination are unaffected by dietary (1,3/1,6)- β -d-Glucan supplementation in neonatal piglets. *Clin Vacc Immunol.* 19: 1499.
- Hong, H. A.; Duc, L. H.; Barbosa, T. M.; Henriquez, A. O. y Cutting, S. M. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:2161-2171.
- Hosoi, T.; Ametani, A.; Kiuchi, K. y Kaminogawa, S. 2000. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (*natto*), catalase, or subtilisina. *Can. J. Microbiol.* 46: 892-897.
- Hu, Y.; Dun, Y.; Li, Sh.; Zhang, D.; Peng, N.; Zhao, Sh.; Liang, Y. 2015. Dietary Enterococcus faecalis LAB31 Improves Growth Performance, Reduces Diarrhea, and Increases Fecal Lactobacillus Number of Weaned Piglets. *PLoS ONE.* 10: 1-16.
- Statgraphics. 2002. Statgraphics Plus version 5.1. Statgraphic Technical Support Center. Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, USA
- Huang, C.; Qiao, S.; Li, D.; Piao, S. y Ren, J. 2004. Effects of *Lactobacillus* on the performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs. *Asian-Aust J Anim Sci.* 17:401-409.
- Ihara, Y.; Hyodo, H.; Sukegawa, S.; Murakami, H. y Morimatsu, F. 2013. Isolation, characterization, and effect of administration *in vivo*, a novel probiotic strain from pig feces. *Animal Science Journal.* 84: 434-441.
- IIP. 2008. Manual de procedimientos técnicos para la crianza porcina. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana. Pág. 136
- De Roos, N. y Katan, M.B. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am. J. Clin. Nutr.* 71:405-411
- Iñiguez, C.; Jiménez, R.; Vázquez, L.; Ramos, G. y Acedo, E. 2011. Protein-carbohydrate interactions between *Lactobacillus salivarius* and pig mucins. *Animal Feed Sci. Tech.* 60: 19-20
- Iñiguez-Palomares, C.; Pérez-Morales, R.; Acedo-Félix, E. 2007. Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Rev Latinoam Microbiol* 49 (3-4): 46-54.
- Jerešūnas A.; Kulpis J.; Stankevicius R. 2006. The influence of probiotic Enterococcus faecium on pigs fattening. *Vet. Zoot.* Vol. 35:53-57.

- Jin, L.Z.; Ho, Y.W.; Abdullah, N.; Alí, M.A. y Jalaludin, S. 1998. Effects of adherents *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. *Animal Feed Sci. Tech.* 70: 197-209.
- Jiraphocakul, S.; Sullivan, W.T. y Shahani, M.K. 1999. Influence of dried *B subtilis* culture and antibiotics as performance and intestinal microflora in Turkey. *Rev Poultry Science.* 9: 1966.
- Jorgensen, J. y Kürti, P. 2003. Novel approach to reduce preweaning mortality. *International Pig Tropics*, 19: 11.
- Jurado-Gámez, H.; Ramírez, C.; Martínez, J. 2013. In vivo evaluation of *Lactobacillus plantarum* as an alternative to antibiotics uses in piglets. *Rev. MVZ Córdoba* 18 (Supl):3648-3657.
- Rodríguez, Z.; Martínez, M.; Dihigo, L.E.; Albelo, N. y Nuñez, O. 2013. Efecto de niveles crecientes de Subproductos de Destilería de Etanol con solubles de maíz en indicadores microbiológicos cecales de cerdos en crecimiento. *Revista Computadorizada de Producción Porcina.* 20: 316-320.
- Davis, M.; T. Parrott, D.; Brown, B.; de Rodas, Z.; Johnson, C.; Maxwell y Rehberger, T. 2008. Effect of a *Bacillus*-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 86:1459-1467.
- Kaminogawa, S. y Nanno, M. 2004. Modulation of immune functions by food. *Cam* 3: 241-250.
- Knap, I.; Kehlet, A.; Bennedson, M.; Mathis, G.F.; Hofacre, L.; Lumpkins, B.; Jensen, M.; Raun, M. y Lay, A. 2011. *Bacillus subtilis* (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. *Poult. Sci.* 90: 1690.
- Kolb, E. 1976. *Fisiología Veterinaria* 1. Editorial Acribia, Zaragoza. Pág. 472
- Kritas, S.; Alexopoulos, C. y Kyriakis, S. 2006. The effect of an EU-registered probiotic on the health status and performance of sows and their litters. In: 3º Congreso Latinoamericano de Suinocultura CD-ROOM Pág. 737-740.
- Kunavue, N.; Lien, T.F. 2012. Effects of fulvic acid and probiotic on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and immunity of. *J. Anim Sci Adv.* 2: 711.
- Lambert, G.P. 2009. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J Anim Sci.* 87: 101.
- Lata, J.; Jurankova, J.; Danbek, J.; Pribramska, V.; Fric, P.; Dite, P.; Kolar, M.; Scheer, P. y Kosakova, D. 2006. Labelling and content evaluation of commercial veterinary probiotics. *Acta veterinaria .BRNO*, 75 :139.

- Laurencio, M. 2010. Obtención y caracterización de una mezcla de exclusión competitiva de microorganismos sécales de pollos de ceba y evaluación in vivo de su efecto probiótico. Tesis en opción de MSc. Instituto de Ciencia Animal.
- Li, D.F.; Nelssen, J.L.; Reddy, P.G.; Blecha, F.; Hancock, J.D.; Alle, G.L.; Goodband, R.D y Klemm, R.D. 1990. Interrelationship between hypersensitivity to soybeans proteins and growth performance in early-weaned pigs J. Anim. Sci. 68: 1790.
- Lilly, D.M. y Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: Growth promotion factor produced by microorganisms. Science New York. 147: 747-748.
- Link, R. y Kovac, G. 2006. The effect of probiotic BioPlus 2B on feed efficiency and metabolic parameters in swine, 61: 783.
- Liu, H.; Zhang, J.; Zhang, S.; Yang, F.; Thacker, P.A.; Zhang, G. 2014. Oral administration of *L. fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets. J Agric Food Chem. 62:860-866.
- López O.; Pérez J. M.; García, A. y Dieguez F. J. 2008. Manual de procedimientos técnicos para la crianza porcina. Instituto de Investigaciones Porcinas. La Habana. Cuba.
- López, D. 2014. Evaluación de la inclusión de *Lactobacillus Salivarius*, *Bacillus subtilis* y la mezcla de estos en la alimentación de cerdos de la categoría de lactantes. Trabajo Científico Técnico para el Examen Estatal de Salud y Producción Porcina. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Agraria de La Habana, Fructuoso Rodríguez Pérez.
- López-Brea y D. Domingo. 2007. Sociedad Española de Quimioterapia Rev. Esp Quimioterap, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid Vol. 20: 170-180.
- Ma, Y.L.; Xu, Z.R. y You, P. 2004. Adhesion of some bacteria to broiler intestinal mucus. ACTA Microbiol. Clín. 44:361-364.
- Mañosa, M.; Domènech, E.; Cabré, E. 2009. Servei d'Aparell Digestiu. Hospital Universitari Germans Trias Pujol. Badalona. Unitat de Malalties Inflamatòries Intestinals. Servei d'Aparell digestiu. Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd).
- Marín, A.; García, A.; Marrero, L.; Manso, M.J. y González, M. 2007. Uso de pro biótico a partir de levaduras en cerdos lactantes. Livestock Research for Rural Development 19 (12).

- Marteau, P.; Minekus, M.; Havaneaar, R. y Veld, J. 1997. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine. Validation and the effects of bile. *J. Dairy Sci.* 80: 1031.
- Martínez, M. 2011. Evaluación de los granos de destilería secos con solubles en la alimentación de cerdos en crecimiento y reproductoras porcinas. Tesis presentada en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Mayabeque, Cuba Pág. 120.
- Marubashi, T.; Gracia, M.I.; Vila, B.; Bontempo, V.; Kritas, S.K.; Piskoríková, M. 2012. The efficacy of the probiotic feed additive Calsporin® (*Bacillus subtilis*C-3102) in weaned piglets: combined analysis of four different studies. *Journal of Applied Animal Nutrition.* 1:1-5
- McDonald, P.; Edwards, R.A.; Greenhalgh, J.F.; Morgan, C.A. 2006. Nutrición animal. Zaragoza. 6ta. ed Acribia S.A. Pág. 58.
- Mejía, W.; Rubio, J.; Calatayud, D.; Rodríguez, A. y Quintero, A. 2007. Evaluación de dos probióticos sobre parámetros productivos en lechones lactantes. *Zootécnia Tropical.* 25 (4): 301-7269.
- Mennickent, S y Green, K. 2009. Los probióticos y su utilidad terapéutica. *Ciencia Ahora* 24: 31.
- Metges, C. 2000. Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host. *J. Nut.* 130: 132
- Milián, G. 2009. Obtención de cultivos de *Bacillus* spp. y sus endosporas. Evaluación de su actividad probiótica en pollos (*Gallus gallus domesticus*). Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba.
- Milián, G.; Pérez, M. y Bocourt, R. 2008. Empleo de probióticos a base de *Bacillus* sp y sus endosporas en la producción avícola. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 42 (2): 117- 120.
- Milián, G.; Rondón, J.A.; Pérez, M.; Bocourt, R.; Rodríguez, Z.; Ranilla, J.M.; Rodríguez, M. y Carro, D.M. 2013. Evaluation of *Bacillus subtilis* biopreparations as growth promoters in chickens. *J. Anim. Sci.* 47: 61.
- Moran, E.T. 2002. Comparative nutrition of fowls and swine. The gastrointestinal system. Office for educational Practice. University of Guelph. Guelph, Ontario, Canadá. Pág. 253.
- Morilla, G.A. 1991. Control inmunológico de las diarreas de los cerdos lactantes. *Cienc Vet.* 5: 89.
- Mroz, J.; Onagbloed A.; Partanen, K.; Vreman, K.; Kemme, P. y Kogut, J. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *J. Anim. Sci.*, 78(10):2622–2632.

- Naqid, I.; Owen, J.; Maddison, B.; Gardner, D.; Foster, N.; Tchórzewska, M.; La Ragione, R. y Gough, K. 2015. Prebiotic and probiotic agents enhance antibody-based immune responses to *Salmonella Typhimurium* infection in pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 201:57-65.
- Nava, G .M. y Dávila, M. 2004. Nuevas perspectivas en la selección y evaluación de probióticos. *Rev. Chil. Nutr.* (21): 184-185.
- Nazef,L.; Belguesmia, Y.; Tani, A.; Prévost, H. y Drider, D. 2008. Identification of lactic acid bacteria from poultry feces: evidence on anti-*Campylobacter* and anti-*Listeria* activities. *Poult. Sci.* 87: 329-334.
- Neville, B.A. y O'Toole, P.W. 2010. Probiotic properties of *Lactobacillus salivarius* and closely related *Lactobacillus* species. *Future Microbiol.* 5: 759-774.
- Nomoto, K. 2005. Immunoregulatory functions of probiotics. *Biorci. Microflora.* 19:1.
- Ojito, L. Y., 2012. Evaluación de la actividad probiótica de *Lactobacillus salivarius* en indicadores productivos y de salud en cerdos lactantes. Tesis presentada en opción al Título Académico de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos" Facultad de Agronomía.
- Olazábal, Raquel. 2000. Ceba porcina no especializada en la provincia de Camagüey, tesis presentada en opción al título de Master en producción porcina sostenible, Universidad de Camagüey, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Camagüey, Cuba. Pág. 82.
- Orta, R.Y. 2014. Producción porcina en Cuba Mesa Redonda. Disponible en: <http://mesaredonda.cubadebate.cu/mesaredonda/2014/04/09/produccion-porcina-en-cuba/revisado>
Consultado: 4/2/2016.
- Ortiz, C. 2015. Creció la producción porcina en Cuba durante el 2014. Radio Cadena Agramante. Camaguey Cuba. Disponible en: <http://www.cadenagramonte.cu/articulos/ver/47996:creci-la-produccion-porcina-en-cuba-durante-el-2014>.
Consultado: 15/1/2015.
- Parker, R.B.; Pelczar, M. J. y Reid, R. D. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Heath*, 29: 4-81966. Microbiología. Ed. Castilla. España.
- Patterson, J. A. y Burkholder, K. M. 2003. Application of Prebiotics and Probiotics in Poultry Production. *Rev. Poultry Science*, 82: 627-631.
- Pérez de Rozas, A.M.; Roca, M.; Carabaño, R.; de Blas, C., Francesca, M.; Brufau, J.; Martín-Orúe, S.; Gasa, J.; Campoy, S.; Barbé, J. y Badiola, I. 2003. El estudio de la diversidad intestinal por RFLP. XIX Curso de Especialización FEDNA. 23 y 24 de Octubre, Madrid. Pág. 31-45.

- Pérez, M. 2000. Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- Pérez, M.; Piad, R.; Milián, G.; Felipe, G. M., Ferreira, A.; Mancilla, I.; Laurencio, M. y Almeida, J. 2007. Preparation of a crude enzymatic from *Bacillus licheniformis* E-44 and its evaluation in the hydrolysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Rev enzyme and microbial technology*. 40: 452.
- Pieper, R.; Janczyk, P.; Schumann, R. y Souffrant, W. B. 2006. The intestinal microflora of piglets around weaning – with emphasis on lactobacilli. *Archiva Zootechnica* 9: 29-40.
- Pluske, J. 2013. Feed and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. *J Anim Sci Biotechnol*. 4: 1-7.
- Powell, J.E.; Witthuhn, R.C.; Todorov, S.D. y Dicks, L.M.T. 2007. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *Intern. Dairy J*. 17:190-198.
- Price, K.; Totty, H.; Lee, H.; Utt, M.; Fitzner, G.; Yoon, I.; Ponder, M. y Escobar, J. 2010. Use of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on growth performance and microbiota of weaned pigs during *Salmonella* infection. *J. Anim. Sci*. 88:3896–3908.
- Quiles, A. 2008. Características de la flora intestinal de lechón: Efecto de los probióticos. *Edipor*: 102: 19.
- Quiles, H. y Hevia, M. 2016. Características de la flora intestinal del lechón: efecto de los probióticos. Disponible en: www.edicionestecnicasreunidas.com. Fecha de consulta: abril de 2015
- Quintero, A. y Huerta, N. 2010. Uso de probióticos en la nutrición de cerdos. Faltan datos
- Revolledo, L.A.; Ferreira, J.P. y Mead, G.C. 2006. Prospects in *Salmonella* Control: competitive exclusion, probiotics, and enhancement of avian intestinal immunity. *J. Appl. Poult. Research* 15:341-351.
- Riboulet-Bisson, E.; Sturme, M.; Jeffery, I.; O'Donnell, M.; Neville, B.; Forde, B.; Claesson, M.; Harris, H.; Gardiner, G.; Casey, P.; Lawlor, P.; O'Toole, P. y Ross, R. 2012. Effect of *Lactobacillus salivarius* bacteriocin Abp118 on the mouse and pig intestinal microbiota. *PLoS One*. 7(2): P 31113.
- Ricca, D. Ziemer, C.J. y Kerr B.J. (2010). Changes in bacterial communities from swine feces during continuous culture with starch. *Anaerobe*. 16: 516–521.

- Río Pérez, J.; Rodríguez-Membrive, ML. 2000. Probióticos: Alternativa en la porcina. Rev Mundo Ganadero: 38-42.
- Roberrfroid, M.B.; Makelainen, H.; Saarinen, M.; Stowell, J.; Rautonen, N. y Ouwehand, A.C. 2007. Xylo-oligosaccharides and lactitol promote the growth of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus* species in pure culture alimentación. Beneficial Microbes. 139-148.
- Rondón, A.J. 2009. Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación integral de las respuestas de tipo probióticas provocadas en estos animales. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba. Pág. 28.
- Rondón, A.J.; Samaniego, L.M.; Bocourt, R.; Rodríguez, S.; Milián, G.; Ranilla, M.J.; Laurencio, M. y Pérez, M. 2008. Aislamiento e identificación parcial de cepas de *Lactobacillus* spp en monogástricos. Revista de Ciencias Agrícolas. 24 : P32-34.
- Rondón, A J; Ojito, Y.; Arteaga, F; Laurencio, M.; Milián, G Y. Pérez. 2013. Probiotic effect of *Lactobacillus salivarius* C 65 on productive and health indicators of lactating piglets. Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 47, Number 4, 401.
- Sablon, E.; Contreras, B. y Vandamme, E. 2000. Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of Action, Genetic and Biosynthesis. En: González, B. E., Gómez, M., Jiménez, Z. 2003. Bacteriocinas de probióticos. Rev. Salud Pública y Nutr. 4 (2):1-6.Consultada 6/4/2016.
- Salminen, S.; A. von Wright, A. Ouwehand. 2004. Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential in functional foods: a nordic and european approach. BioSci. Microflora 15. (3):61-70 consulted 23/4/2015.
- Sang, J.; Wook, H.; Hwan, K.; Jang, A.; Geun, S.; Hwa, M.; Hun, D.; Kyung, D.; Bae, G.; Jun, J. 2011. Genome Sequence of *Lactobacillus salivarius* NIAS840, Isolated from Chicken Intestine. Journal of bacteriology. 193(19):5551. Sitar en: <http://jb.asm.org/> on March 9, 2012.
- Sanz, Y.; Collado, M.C.; Haros, M. y Dalmau, J. 2004. Funciones metabólico nutritivas de la microbiota intestinal y su modulación a través de la dieta: probióticos y prebióticos. Nutrición infantil. 62 (11): 520-526.
- Savón, L. 2005. Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibras. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. Unellez, Guanare, Venezuela. p. 30.
- Segura, A. y De Bloss, M. 2000. La alternativa a los promotores del crecimiento. III Congreso Nacional de Avicultura. Memorias. Centro de Convenciones Plaza América. Varadero. Cuba. p. 37-44

- Seifert, S.; Watzl, B. 2007. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. *J. Nutr.* 137: 2563S-2567S
- Sigrid M. y Green, K. 2009. Los Probióticos y su Utilidad Terapéutica, *Ciencia Ahora*, nº 24. Departamento de Medicina Interna. Universidad de Concepción.
- Simon, O. 2001. Probiotika aus der Sicht der Tierernährung. *Vitamine und Zusatzstoffe in Ernährung von Mensch und Tier.* 8. Symposium. 26 –27 September 2001. Jena,Thüringen. p. 118,119.
- Simon, O.; Vahjen, W.; Scharek, L. 2003. Microorganisms as feed additives – probiotics. *Proc 9th Intl Symp Dig Physiol in Pigs* (BallRO, ed). University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. Pág: 295-318.
- Smolander, M.; Alakomi, H.L.; Jukka, T.R. y Ahvenainen, R. 2004. Monitoring the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cut stored in different temperature conditions. A Time- temperature indicators as quality-indicating tools. *Food Control.* 15: 217.
- Sorrondegui, M.; Varona, Y.L.; Vera, Á.C. 2012. Empleo de probióticos en los animales *Engormix.com.* www.produccion-animal.com.ar. Consultado 24/2/2015.
- Stanier, R.Y.; Ingraham, J.L.; Wheelis, M.L. y Painter, P.R. 1996. *Microbiología.* Ed. Reverté S.A. p. 195.
- Suitso, I.; Jõgi, E.; Orro, T.; Kavak, H.; Kalmus, K.; Viltrop, A. y Nurk, A. 2014. *Bacillus Smithii Tbm12* Endospores as a Potential Component of Probiotic Feed Additive for Pigs. *Veterinarija Ir Zootechnika.* 66:64-68.
- Sulabo, R.C.; Jacela, J.Y.; Tokach, M.D.; Dritz, S.S.; Goodband, R.D.; DeRouchey, J.M. y Nelssen, J.L. 2010. Effects of lactation feed intake and creep feeding on sow and piglet performance. *J. Anim. Sci.* 88:3145.
- Suo, Ch.; Yin, Y.; Wang, X.; Lou, X.; Song, D.; Wang, X.; Gu, Q. 2012. Effects of *Lactobacillus plantarum* ZJ316 on pig growth and pork quality. *BMC Veterinary Research.* 8:1-12.
- Tabasum, S.; Hoon, J.; Mun, H.; Yang, Ch. 2014. Evaluation of *Lactobacillus* and *Bacillus*-based probiotics as alternatives to antibiotics in enteric microbial challenged weaned piglets. *African Journal of Microbiology Research.* 8:96-104.
- Tannoc G.W. 2004. A special fondness for lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(7): P 3189–3194.
- Taranto, M.P.; Medici, M.; Perdigón, G.; Ruiz, A.P. y Valdez, G.F. 2000. Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypocholesterolemia in mice. *J. Dairy Sci.* 83(18):P 401.

- Taverner, M. R. y Campbell, R. G. 1988. Proc. 4th Intern. Sem. Physiol. Dig. Pig. Teo, A. & Tan, H.M. 2007. Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broiler fed on corn-soy diets supplemented with *Bacillus subtilis* PB6, CloSTAT. J. Appl. Poult. Res. 16: 296.
- Terzolo Horacio R. 2009. La Guía Online de Empresas, Productos y Servicios. EEA INTA Balcarce. consulted el: 20/03/2016
- Thirabunyanon, M y Thonwittaya, N. 2012. Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* Enteritidis infection. Research in Veterinary Science. 93(34):P 74-83.
- Tim, J.; Dumonceaux, Janet E.; Hill, Sean M.; Hemmingsen, Andrew G.; Van Kessel, E. 2006. Characterization of Intestinal Microbiota and Response to Dietary Virginiamycin Supplementation in the Broiler Chicken. Appl. Environ. Microbiol, 72 (4):P 2815–2823.
- Trevisi, E.; Grossi, P.; Piccioli, C.F.; Cogrossi, S. y Bertoni, G. 2011. Tenuation of inflammatory response phenomena in periparturient dairy cows by the administration of and rumen protected supplement containing vitamin E. Italian J Anim Sci. 100(57):P 277.
- Tsai, C.C.; Hsieh, H.Y.; Chiu, H.H.; Lai, Y.Y.; Liu, J.H.; Yu, B. y Tsen, H.Y. 2005. Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. Intern. J. Food Microbiol. In Press
- Tsai, Y.T.; Cheng, P.C.; Fan, C.K. y Pan, T M. 2008. Time dependent persistence of enhanced immune response by a potential probiotic strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTV 101. Int. J. Food microbial. 128(31):P 219.
- UCAN-IIA. 1998. Instructivo Técnico. Producción avícola. Pollos de engorde. Tecnología de crianza y regulaciones sanitarias generales
- USDA-FAS (United States Department of Agriculture. Foreign Agriculture Service (USDA. FAS). 2009. Livestock and poultry; world markets and trade. Disponible en: http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf Fecha de consulta: 16 de Marzo de 2014.
- Vega, J.A.; Jiménez, Y.; Angarica, L. y Trujillo, C.M. 2001. La economía en el sector agropecuario. Universidad Agraria de La Habana.
- Vrotniakienė, V.; Jatkauskas, J. 2013. Effects of probiotics dietary supplementation on diarrhea incidence, fecal shedding of *Escherichia coli* and growth performance in post-weaned piglets. Veterinarija Ir Zootechnika 62(43):P 81-88.
- Wall, M. C.; Rostagno, M. H.; Gardiner, G. E.; Sutton, A. L.; Richert, B. T. y Radcliffe, J. S. 2012. Controlling *Salmonella* infection in weanling pigs

- through water delivery of direct-fedmicrobials or organic acids. Part I: Effects on growth performance, microbial populations, and immune status. *J.Anim.Sci.* 92(45):P 261.
- Wang, Y.; Cho, J.; Chen, Y.; Yoo, J.; Huang, Y.; Kim, H y Kim, I.2009.The effect of probiotic BioPlus 2B®on growth performance, dry matter and nitrogen digestibility andslurry noxious gas emission in growing pigs.*Livest. Sci.*120(32) :P 35-42.
- Yang,H.; Lopez, J.; Risley, C.; Radke, T. y Holzgraefe, D. 2003. Effect of adding a *Bacillus* based direct fed microbial on performance of nurse piglets fed diets with or without antibiotics. *J. Anim .Sci.*1: 165.
- Yeo,J. y Kim, K. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broilerchicks. *Poult. Sci.* 76(24): P 381-385.
- Zhang, J.; Deng, J.; Wang, Z.; Che, C.; Li, Y. y Yang, Q. 2011. Modulatory effects of *Lactobacillus salivarius* on intestinal mucosal immunity of piglets.*Current Microbiology* 62 (5): P1623-1631.
- Zhao, P.; Kim I. 2015. Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200 (7):P 86-92.
- Zoek, M. 2005. Coproduction of Alfa- amylase and beta-galatosidase by *Bacillus subtilis* in complex organic substrates. *Rev. Bioresource Technology*: 150.

ANEXOS

Anexo 1



Figura 19. Entrada del centro Porcino Integral Gelpis (Granja Matanzas de la Empresa Agropecuaria FAR).

Anexo 2



Figura 20. Cerdos en lactancia utilizados durante el experimento.

Anexo 3



Figura 21. Cerdos en preceba utilizados durante el experimento.