



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE ZOOTECNIA

**“*Lactobacillus* PROCEDENTES DEL TRACTO DIGESTIVO DEL CERDO
COMO CEPAS PROBIÓTICAS”**

Trabajo de titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR: PATRICIO ALEJANDRO OROZCO OÑA.

DIRECTOR: ING. LUIS GERARDO FLORES MANCHENO, PhD.

Riobamba – Ecuador

2020

© 2020, PATRICIO ALEJANDRO OROZCO OÑA.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, Patricio Alejandro Orozco Oña, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 22 de Agosto del 2020.

Patricio Alejandro Orozco Oña

010474733-2

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE ZOOTECNIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Trabajo Investigación Bibliográfico “*Lactobacillus* PROCEDENTES DEL TRACTO DIGESTIVO DEL CERDO COMO CEPAS PROBIÓTICAS”, realizado por el señor: **PATRICIO ALEJANDRO OROZCO OÑA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing M.C. Iván Patricio Salgado Tello PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	08/01/2021
Ing. Luis Gerardo Flores Mancheno, PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	_____	08/01/2021
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy, Ph. D. MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	08/01/2021

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE TABLAS.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	3
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	3
1.1. Sistema digestivo del cerdo	3
1.2. Ecología del tracto gastrointestinal del cerdo.....	6
1.2.1. <i>Microorganismos del tracto gastrointestinal del cerdo</i>	6
1.2.2. <i>Contribución de los microorganismos residentes del sistema digestivo a la fisiología del TGI</i> 9	
1.2.3. <i>Factores que afectan a la población microbiana del TGI del cerdo</i>	10
1.3. Probióticos.....	14
1.3.1. <i>Definición</i>	14
1.3.2. <i>Antecedentes</i>	15
1.3.3. <i>Ubicación taxonómica de los probióticos</i>	16
1.3.4. <i>Microorganismos con efectos probióticos.</i>	17
1.3.4.1. <i>Las bacterias ácido lácticas (BAL)</i>	19
1.3.4.2. <i>Características del género Lactobacillus</i>	20
1.3.4.3. <i>Modo de acción de los probióticos</i>	22
1.3.4.4. <i>Selección de las cepas con potencial probióticos</i>	24
1.3.4.5. <i>Efecto de los probióticos elaborados con Lactobacillus</i>	25

1.4. Principales cepas de <i>Lactobacillus</i> como probióticos procedentes del tracto gastrointestinal del cerdo	27
1.4.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	27
1.4.2. <i>Lactobacillus casei</i>	28
1.4.3. <i>Lactobacillus plantarum</i>	28
CAPÍTULO II	29
2. MARCO METODOLÓGICO	30
2.1. Métodos para sistematización de la información	30
2.2. Criterios de selección.....	30
CAPÍTULO III	31
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1. Aislamiento y caracterización de bacterias de género <i>Lactobacillus</i>	32
3.2. Evaluación de la capacidad probiótica.....	2
3.2.1. Resistencia a diferentes pH	2
3.2.2. Tolerancia a sales biliares	34
3.2.3. Crecimiento a diferentes temperaturas.....	35
3.2.4. Actividad antimicrobiana contra patógenos.....	36
3.3. Efecto de <i>Lactobacillus</i> como probióticos en el cerdo	40
3.3.1. Incidencia de diarrea en lechones	40
3.3.2. Ganancia de peso y conversión alimenticia	42
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1-1. Microorganismos que se usan como probióticos.....	18
Tabla 2-1. Microorganismos probióticos utilizados en animales de granja.....	25
Tabla 1-3. Pruebas bioquímicas para identificación de <i>Lactobacillus</i>	32
Tabla 2-3. Resistencia de cepas de <i>Lactobacillus</i> a diferentes pH	34
Tabla 3-3. Crecimiento de cepas de <i>Lactobacillus</i> a diferentes concentraciones de sales biliares.....	35
Tabla 4-3. Crecimiento de cepas de <i>Lactobacillus</i> a diferentes temperaturas.....	36
Tabla 5-3. Actividad antimicrobiana de cepas de <i>Lactobacillus</i> frente a patógenos.....	38
Tabla 6-3. Incidencia de diarreas y mortalidad en cerdos que consumieron cepas de <i>Lactobacillus</i> como aditivo en la dieta.....	40
Tabla 7-3. Comportamiento productivo de cerdos que consumieron aditivos probióticos.....	42

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1-1 Diagrama representativo de las diferentes fases de la colonización del colon distal de los cerdos.....	9
Figura 2-1. Ubicación de los géneros <i>Lactobacillus</i> y <i>Bifidobacterium</i> en los taxones superiores del dominio Bacteria.....	17

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue la revisión descriptiva de las bacterias del género *Lactobacillus* con posible potencial probiótico, mencionando sus características beneficiosas sobre el hospedero a nivel del sistema tracto gastrointestinal principalmente en la etapa de destete y precebo en lechones, en esta etapa presenta el índice más alto de mortalidad por consecuencia del cambio de dieta líquida al alimento sólido, esto provoca el cambio de ambiente a nivel de la microflora del cerdo y disminuye la variedad de microorganismo presente en el tracto gastrointestinal especialmente las bacterias del género *Lactobacillus*. En la antigüedad se utilizaban antibióticos para promover un mayor crecimiento en los animales, controlar los problemas digestivos y mejorar la eficiencia productiva, sin embargo el efecto residual de los antibióticos en los animales fue relacionado con la resistencia a los antimicrobianos en los humanos. Por tal motivo se realizó una búsqueda de alternativas al antibiótico. Una de las alternativas fue el uso de probióticos que son microorganismos nativos del tracto gastrointestinal de los animales que suministrados en cantidades adecuadas como aditivos en la dieta optimizan los rendimientos productivos y mejoran el ámbito de la salud. Las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* son las principales cepas utilizadas como probióticos por su capacidad de resistencia a la acidez gástrica, sales biliares, variables de pH y su capacidad antagonica a microorganismos patógenos. Se ha demostrado que estas cepas producen una mejor digestión y absorción de nutrientes, permitiendo una mayor eficiencia de aprovechamiento de sus nutrimentos, mejoran el equilibrio de la microflora, evitando problemas digestivos como el síndrome diarreico, proporciona una mayor superioridad del sistema inmunológico. En conclusión al utilizar cepas de *Lactobacillus* como aditivo en la dieta animal se logra un incremento en el potencial de crecimiento y estimulación de la respuesta inmune de los lechones.

PALABRAS CLAVE:

< ZOOTECNIA >, < BACTERIA (*Lactobacillus*) > < PROBIÓTICO > < CERDOS > < TRACTO GASTROINTESTINAL >

ABSTRACT

The aim of this study was to carry out a state-of-the-art review of the genera of *Lactobacillus* with probiotic capacity and their benefits on the host's gastrointestinal tract mainly during the weaning and pre-fattening stages of piglets. The highest piglet mortality is observed during these stages due to the shift of liquid to solid feed, disturbing the intestinal microflora balance and decreasing the diversity of microorganisms, especially *Lactobacillus* in the gastrointestinal tract. In the past, antibiotics were used to promote a more efficient animal growth, control intestinal diseases, and improve the production efficiency. However, the residual effect of antibiotics in animals was related to the antimicrobial resistance in humans. Therefore, antibiotic alternatives were sought, and one of them was the use of probiotics that are live microorganisms in the gastrointestinal tract of animals which when administered in adequate amounts as additives in feed increase production and confer a health benefit on the animal. The lactic acid bacteria belonging to *Lactobacillus* are the main strains used as probiotics because of their resistance to gastric acidity, bile salt, various pH levels, and antagonism activity against pathogenic microorganisms. These strains have shown to promote better nutrient digestion and absorption, increase the efficiency of feed utilization, enhance microflora balance, prevent digestive disorders such as diarrhea, and boost the immune system. It is concluded that the addition of *Lactobacillus* as additive to animal feed improves growth performance and stimulates immune response in piglets.

KEYWORDS:

<ANIMAL SCIENCE> <BACTERIUM (*Lactobacillus*)> <PROBIOTICS> <PIGS>
<GASTROINTESTINAL TRACT>

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe la necesidad de maximizar la productividad y mejorar los costos de producción en la explotación porcina. Estas necesidades llevaron al uso de antibióticos a niveles subterapéuticos como promotores de crecimiento con el objetivo de reducir la incidencia de problemas en el tracto gastrointestinal de los animales especialmente en edades tempranas, produciendo desequilibrios en la microbiota intestinal, causando un estrés en el animal afectando negativamente en la salud y disminuyendo la eficiencia productiva.

Sin embargo, estos antibióticos generaron a nivel mundial una preocupación por la viable resistencia de algunos microorganismos a diferentes antibióticos, y existe de manera potencial la posibilidad de transferir genes resistentes desde los animales hacia el ser humano, por tal razón la Unión Europea prohibió su uso desde el año 2006. (Commission of the European Communities, 2003 p.29)

Debido a la prohibición del uso de antibióticos como promotores de crecimiento, los investigadores incrementaron la búsqueda de nuevas alternativas a los antibióticos y han surgido los probióticos como la alternativa más viable para el ganado, debido a sus efectos benéficos más allá de los nutricionales. Las bacterias probióticas, como *Lactobacillus sp.* y *Bacillus subtilis*, se han aplicado con éxito en los animales, ya que fortalecen el sistema inmunológico, restablecen el balance de la microbiota intestinal especialmente en el periodo de destete, y mejoran los indicadores bioproductivos de los animales. (Xing *et al.*, 2004 p. 2601); Abdelqader *et al.*, 2013 p. 1017)

Una alternativa al uso de antibióticos son las bacterias lácticas probióticas suministradas a través de inóculos, con el propósito de equilibrar la microbiota intestinal (Oyetayo, 2005 p. 123). Los probióticos usados en cerdos reducen o eliminan los patógenos en el tracto gastrointestinal, así como residuos de antibióticos y otras sustancias análogas en productos finales, mejorando el índice de conversión y reduciendo la incidencia de diarreas (Figueroa *et al.*, 2006 p. 117).

La utilización de probióticos en la dieta depende en parte de la cepa utilizada; pues, no todas las cepas tienen las mismas características de resistencia, crecimiento, adhesión a las células intestinales y capacidad antimicrobiana (Brizuela, 2003).

Actualmente se buscan compuestos que aumenten la inmunidad del huésped y no tengan efectos secundarios o residuales en los productos de origen animal (Casewell *et al.*, 2003 p. 159); es allí donde los probióticos, prebióticos y simbióticos tienen un gran potencial por su efecto modulador de la microbiota del tracto gastrointestinal, que genera efectos positivos en el huésped (Carmona *et al.*, 2014)

Por lo criterios presentados anteriormente el objetivo general planteado para este proyecto fue investigar sobre las bacterias del género *Lactobacillus* procedentes del tracto digestivo del cerdo como cepas probióticas.

Como objetivos específicos, se propusieron:

- Conocer las características, taxonomía y propiedades de las bacterias del género *Lactobacillus* como posibles cepas probióticas en la producción animal
- Actualizar el estado del arte y conocer las aplicaciones con *Lactobacillus* como cepas probióticas en la producción animal
- Seleccionar las cepas con mayor potencial probiótico que proviniendo del tracto digestivo de los cerdos puedan ser utilizadas en nutrición animal

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Sistema digestivo del cerdo

El sistema digestivo del cerdo tiene la capacidad de transformar la materia vegetal y animal en nutrientes altamente digestibles; su anatomía y fisiología son similares a las de los humanos, el tracto digestivo puede ser considerado como un tubo que comienza en la boca y termina en el recto; la parte posterior de la boca se abre dentro de la faringe la cual es el área común para el paso tanto de pienso como de aire. Una válvula o colgajo de tejido llamado paladar blando se mueve de forma automática para proteger la abertura dentro de la tráquea o cuando se traga (Ramírez, 2017).

- Boca

La boca cumple un papel valioso no solo para consumir el alimento, sino que también sirve para la reducción inicial parcial del tamaño de las partículas a través de la molienda. Mientras que los dientes tienen el papel principal de moler para reducir el tamaño del alimento e incrementar el área de superficie, la primera acción para empezar la reacción química de la comida ocurre cuando el alimento se mezcla con la saliva (DeRouchey, 2014 p. 2).

Hay tres glándulas salivares principales, que incluyen las glándulas parótida, mandibular y sublingual. La secreción de saliva es un acto reflejo estimulado por la presencia de comida en la boca. La cantidad de mucosidad presente en la saliva está regulada por la sequedad o humedad del alimento consumido (DeRouchey, 2014 p. 2).

Por lo tanto en una dieta seca, se segrega más mucosidad o saliva mientras que en una dieta húmeda, solo se segrega la cantidad para ayudar a tragar. La saliva generalmente contiene niveles muy bajos de amilasa, la enzima que hidroliza el almidón en maltosa. Lo que la saliva contribuye con enzimas digestivas es muy poco, pero es aún considerable (DeRouchey, 2014 p. 2).

Una vez que se mastica la comida y se mezcla con la saliva, pasa a través de la boca, faringe, y luego del esófago, al estómago. El movimiento a través del esófago requiere perístasis muscular, que es la contracción y relajación de los músculos para mover el alimento (DeRouchey, 2014 p. 2).

- Estómago

El estómago es un órgano muscular responsable de almacenar, iniciar la descomposición de nutrientes, y pasar la digesta hacia el intestino delgado (DeRouchey, 2014 p. 2).

El estómago tiene cuatro áreas diferentes que incluyen la región del esófago, la de las glándulas cardias, y la región de las glándulas fúndicas y pilóricas (DeRouchey, 2014 p. 2).

La región esofágica está ubicada en la entrada del estómago, del esófago.

Esta región del estómago no segrega enzimas digestivas pero su importancia es que aquí es donde ocurre la formación de úlceras en cerdos. La irritación de esta área debida a las partículas finas en tamaño, al estrés u otros factores del medio ambiente, puede contribuir con la formación de úlceras en cerdos. Una vez que la comida pasa por esta región, ingresa a la región cardias (DeRouchey, 2014 p. 2).

En la porción del cardias del estómago se segrega mucosidad y se mezcla con el alimento digerido. El alimento pasa entonces a la región del fundus que es la parte más grande del estómago donde empieza el proceso digestivo. En esta región las glándulas gástricas segregan ácido hidrocórico, lo cual resulta en un pH bajo de 1.5 a 2.5 (DeRouchey, 2014 p. 3).

Este pH bajo elimina la bacteria ingerida con el alimento, otras secreciones en esta región están presentes en forma de enzimas digestivas, específicamente pepsinógeno. Luego el pepsinógeno se descompone con el ácido hidrocórico para formar la pepsina, la cual está involucrada con el catabolismo proteico (DeRouchey, 2014 p. 3).

Finalmente la digesta se mueve hacia el fondo del estómago, que es la región pilórica. Esta región es responsable de segregar mucosidad para alinear las membranas digestivas y prevenir daño de la digesta baja en pH a lo que pasa al intestino delgado. El esfínter pilórico regula la cantidad de quimo (digesta) que pasa al intestino delgado. Esta es una función importante y no se debe sobrecargar en intestino delgado con quimo, para que ocurra una digestión eficiente y se absorban los nutrientes. Además, una vez que el quimo sale del estómago, el material tiene una consistencia bastante líquida (DeRouchey, 2014 p. 3).

- Intestino delgado, páncreas e hígado

El intestino delgado es el lugar principal de absorción de nutrientes, y está dividido en tres secciones. La primera sección es el duodeno.

El duodeno tiene aproximadamente 12 pulgadas de largo y es la porción del intestino delgado con los conductos hacia el páncreas y el hígado (vesícula biliar). El páncreas está involucrado con las excreciones de exocrina y endocrina. Esto significa que el páncreas es responsable de la secreción de insulina y glucagón, en respuesta a los niveles altos o bajos de glucosa en el cuerpo. Así mismo, tiene la función exocrina de segregar enzimas digestivas y bicarbonato de sodio (DeRouche, 2014 p. 4).

Las enzimas digestivas segregadas se descomponen (hidrolizan) en proteínas, grasas, y carbohidratos en el quimo. Además, el bicarbonato de sodio tiene un papel vital en proveer alcalinidad para que el quimo pueda ser transportado a través del intestino delgado sin causar daño a las células debido al bajo pH después de salir del estómago (DeRouche, 2014 p. 4).

El páncreas sirve como el órgano más vital en el proceso digestivo, para producir y segregar enzimas necesarias para la digestión del quimo y la prevención de daño a las células debido al pH (DeRouche, 2014 p. 4).

Además del páncreas que segrega hacia el duodeno, la bilis que se guarda en la vesícula biliar y es producida por el hígado, también es segregada. Las sales biliares, que son la porción activa de la bilis en el proceso de digestión, ayudan principalmente en la digestión y absorción de grasa, pero también ayudan con la absorción de vitaminas solubles en grasa y facilita la lipasa pancreática en el intestino delgado. Finalmente, las sales biliares son necesarias para la absorción de colesterol, que se da lugar en el intestino delgado bajo y circula hacia el hígado vía la vena portal (DeRouche, 2014 p. 5).

Una vez que el quimo pasa a través del duodeno, el proceso de digestión está en pleno desarrollo. Después de salir del duodeno, ingresa a la parte media del intestino delgado, el yeyuno. Esta porción del intestino delgado involucra tanto la descomposición de nutrientes así como el inicio de la absorción de nutrientes. La absorción de nutrientes continúa hacia la sección final del intestino delgado, el íleon. La absorción de nutrientes en el yeyuno y en el íleon ocurre en el área conocida como borde cuticular, o mucosa intestinal (DeRouche, 2014 p. 5).

La mucosa está compuesta por proyecciones que parecen dedos llamadas vellosidades, las cuales a su vez contienen más microproyecciones llamadas microvellosidades. Las puntas de las microvellosidades forman estructuras tipo red llamadas glicocáliz (DeRouche, 2014 p. 5).

- Intestino grueso

El intestino grueso o intestino posterior comprende cuatro secciones más importantes. La primera es la digesta del intestino delgado que pasa al ciego. El ciego tiene dos secciones, la primera sección tiene un final ciego, por donde el material no puede pasar.

El ciego tiene una segunda porción que se conecta con el colon, donde pasa la digesta hacia el recto y ano, por donde se excreta la digesta restante (DeRouchey, 2014 p. 6).

La función principal del intestino grueso es absorber agua. La quimo que pasa por el intestino delgado y al intestino grueso es inicialmente muy fluida. El epitelio del intestino grueso tiene una gran capacidad para absorber agua (DeRouchey, 2014 p. 6).

Una vez que la digesta pasa por el íleon hacia el intestino grueso, no ocurre digestión enzimática. Sin embargo, sí ocurre limitada actividad de enzimas microbianas en el intestino grueso, que forman los ácidos grasos volátiles (AGV). Estos pueden ser bien absorbidos en el intestino grueso. Generalmente estos proveen solo energía suficiente para ayudar en los requerimientos de nutrientes del epitelio del intestino grueso (DeRouchey, 2014 p. 6).

Así mismo, las vitaminas B se sintetizan en el intestino grueso y son absorbidas en una cantidad muy limitada, pero no significativa como para alterar su suplementación nutricional (DeRouchey, 2014 p. 6).

Luego de retirarle la mayor cantidad de agua, la digesta se condensa en un material semi-sólido que pasa por el recto y el ano (DeRouchey, 2014 p. 6).

1.2. Ecología del tracto gastrointestinal del cerdo

1.2.1. *Microorganismos del tracto gastrointestinal del cerdo*

La microbiota digestiva no permanece estable a lo largo de la vida del animal sino que va cambiando hasta llegar a la edad adulta cuando se estabiliza (Odamaki *et al.*, 2016 p. 90).

Estos cambios están influidos por multitud de factores como son la microbiota de la madre, el ambiente o la dieta entre otros, y, aunque la microbiota tiene una gran capacidad de resiliencia, cambios prolongados en algún factor pueden modificar la composición de la misma.

Los cerdos reciben gran parte de su microbiota intestinal de su madre y del ambiente en el que viven durante los primeros días de sus vidas (Quilodrán-Vega *et al.*, 2016 p. 514; Sommer, 2015 p. 127; Chen *et al.*, 2018 p.30).

Aunque para una parte de los investigadores el tracto gastrointestinal de los lechones que no han nacido es estéril, en los últimos años se ha refutado en diversos estudios la esterilidad del meconio y del líquido amniótico al aislarse, mediante cultivo, o identificarse, a través de su material genético, bacterias comensales o patógenas en gestaciones fisiológicas (Jiménez *et al.*, 2008 p. 187; Hong *et al.*, 2010; Mshvildadze *et al.*, 2010 p. 20; Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

Existe, por tanto, un flujo de bacterias desde el intestino de las madres hacia sus crías, por vía sistémica. En un primer momento este flujo sería cualitativa y cuantitativamente pequeño, tanto en el número de especies implicadas como en su concentración, pasando a través de la placenta hacia el intestino prenatal. En un segundo momento, el tránsito sería superior, principalmente a través del calostro y la leche materna, mediante la ruta enteromamaria (Langa, 2006).

La translocación desde el intestino hacia los tejidos extra intestinales es un fenómeno fisiológico beneficioso dirigido por las células dendríticas, que captan las bacterias a través de las zonas de oclusión para introducirlas en la lámina propia sin perder la integridad del epitelio intestinal (Rescigno *et al.*, 2001 p. 361).

Esta translocación está asociada a la estimulación del sistema inmunitario, a la formación del sistema inmunitario neonatal o como vía de comunicación materno-filial, lo que explicaría los efectos extraintestinales que tienen algunos probióticos (Guerra *et al.*, 2007 p. 89).

Además de la colonización por vía uterina o láctea, parte de los microorganismos presentes en la microbiota de los lechones durante los primeros momentos de vida provienen de la microbiota del canal del parto de la madre, que colonizan al lechón durante el nacimiento, y de las bacterias presentes en las heces o sobre la piel de la madre (Guerra *et al.*, 2007 p. 89).

En las primeras 12 horas de vida de los lechones se pueden aislar bacterias como *E. coli*, *Lactobacillus* y *Streptococcus*, en el intestino delgado mientras que las bacterias anaerobias como *Bacteroides* tardan un par de días en aparecer (Tajima & Aminov, 2015 p. 47).

La primera colonización por parte de aerobios y anaerobios facultativos permite reducir la concentración de oxígeno y el potencial redox en el tracto gastrointestinal de los cerdos, creando las condiciones adecuadas para la colonización por anaerobios estrictos (*Clostridium*, *Eubacterium*).

Sin embargo, para otros autores el entorno anaerobio se establece rápidamente tras el nacimiento y las bacterias anaerobias simplemente superan numéricamente a las anaerobias facultativas (Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

Las poblaciones de Lactobacilos presentes en las heces de la madre estaban también presentes en la microbiota del tracto digestivo de los lechones, indicando que las heces de la madre son la mayor fuente de bacterias para la colonización del tracto digestivo de lechones lactantes (Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

De acuerdo a Swords y colaboradores (1993) la colonización del tracto gastrointestinal de los cerdos puede dividirse en 3 fases principales (Figura 1-1):

Durante la primera fase de la colonización, la microbiota del colon está formada mayoritariamente por microorganismos aeróbicos o anaeróbicos facultativos, representando un 80 % de las bacterias totales (Swords *et al.*, 1993 p. 191).

Durante los días posteriores, la cantidad de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas desciende gradualmente siendo reemplazadas por bacterias anaeróbicas estrictas.

Por este motivo, algunos autores han propuesto que las bacterias que colonizan el tracto gastrointestinal durante las primeras horas de vida son las responsables de la reducción del potencial redox del intestino y de la creación de un medio favorable para la posterior colonización de las bacterias anaeróbicas estrictas (Conway, 1995 p. 1; Stewart, 1997 p. 142).

Grupos de bacterias como *Lactobacillus spp* representan uno de los grupos más abundantes en esta fase, pudiendo constituir un 8-10% del total de la población microbiana (Swords *et al.*, 1993 p. 191).

La segunda fase de la colonización del tracto digestivo coincide con el periodo de lactación. En esta fase se demostró una continua sustitución de bacterias aeróbicas por bacterias anaeróbicas (Swords *et al.*, 1993 p. 191).

Los grupos bacterianos cultivados fueron *Clostridium spp*, *Eubacterium spp*, *Fusobacterium spp*, *Propionibacterium spp*, así como diversas bacterias anaeróbicas del grupo *streptococci*. Sin embargo, bacterias como *Bacteroides spp* fueron detectadas de forma ocasional.

En el momento del destete empieza la tercera fase de colonización del tracto gastrointestinal, que se caracteriza por la sustitución de algunas bacterias anaeróbicas Gram-positivas por bacterias anaeróbicas Gram-negativas del género *Bacteroides spp* (Swords *et al.*, 1993 p. 191).

La tercera fase, comienza con el destete, en el cual los lechones, que tienen en este momento un sistema inmunitario inmaduro, se ven sometidos a un importante estrés causado por la separación de la madre y el cambio del ambiente en el que se encuentran. Además hay un cambio brusco en la alimentación, pasando de una dieta láctea a una dieta sólida, hecho que contribuye al incremento de la diversidad de la microbiota haciendo que ésta se parezca cada vez más a la composición de los animales adultos (Inoue *et al.* P. 257, 2005; Chen *et al.*, 2017 p. 1688).

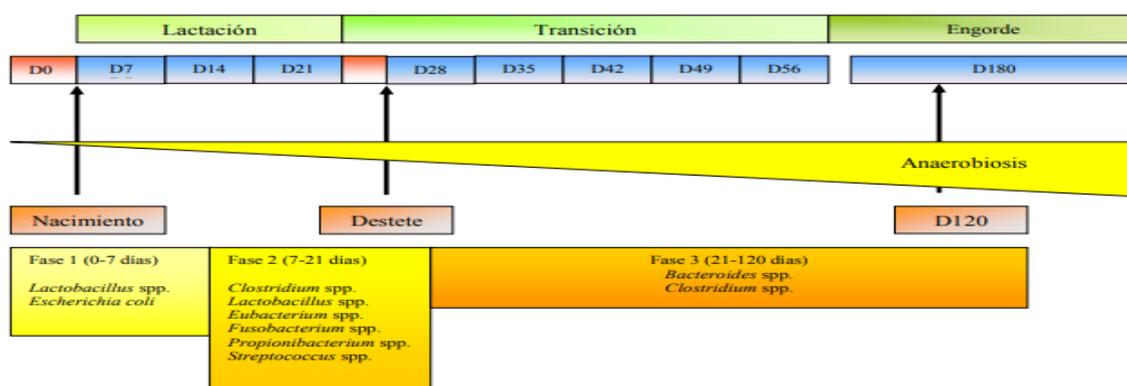


Figura 1-1. Diagrama representativo de las diferentes fases de la colonización del colon distal de los cerdos

Fuente: (Swords *et al.*, 1993).

1.2.2. Contribución de los microorganismos residentes del sistema digestivo a la fisiología del TGI

Las bacterias que conforman la microbiota intestinal proporcionan beneficios a los hospedadores. En este sentido, se ha descrito que la población microbiana que reside en el tracto digestivo tiene un impacto directo sobre la morfología, el sistema inmunitario y las características fisiológicas del tracto gastrointestinal. Parece ser que todos estos efectos dependen en gran medida del tipo de especie bacteriana. (Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

- Efecto de la microbiota sobre parámetros bioquímicos y fisiológicos del tracto gastrointestinal

La microbiota que habita el tracto gastrointestinal ejerce un efecto sobre diferentes parámetros bioquímicos y fisiológicos del mismo, como pueden ser la motilidad intestinal, la síntesis de vitaminas y la capacidad fermentativa de diferentes componentes de la dieta. De esta forma, en animales libres de microorganismos, se ha demostrado una disminución de la motilidad intestinal (Husebye *et al.*, 1994 p. 946). Este hecho parece estar relacionado con ciertos productos finales de la fermentación bacteriana. Por ejemplo, se ha demostrado que el ácido láctico estimula la motilidad intestinal (Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

Los microorganismos del tracto gastrointestinal participan también en la síntesis de la vitamina K, de las vitaminas del complejo B y de determinados aminoácidos.

Por ejemplo, en el caso de la vitamina K, se ha descrito que ésta puede ser producida por una gran variedad de microorganismos que habitan el tracto gastrointestinal (*Bacteroides spp*, *Eubacterium spp*, *Propionibacterium spp*, *Fusobacterium spp*, *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Clostridium spp*, *Enterobacterium spp*, *Veillonella spp*, *Enterococcus spp*, *Enterobacteria spp*, y *Streptococcus spp*). En animales axénicos se ha demostrado una disminución tanto de la síntesis de vitaminas como de determinados aminoácidos (Wostmann, 1996).

Por último, la microbiota del tracto gastrointestinal tiene también como función fisiológica la prevención de la colonización de éste por nuevas especies bacterianas, especialmente especies patógenas (Rolfe, 2000 p. 396).

Este hecho se debe a que las bacterias exógenas deben competir con las bacterias que habitan en el tracto gastrointestinal tanto por la disponibilidad de nutrientes como por los sitios de anclaje a la mucosa. Este fenómeno es conocido con el nombre de “exclusión competitiva” (Fuller, 1977 p. 85).

1.2.3. Factores que afectan a la población microbiana del TGI del cerdo

Los factores que principalmente contribuyen a la colonización de la flora intestinal del lechón se detallan a continuación (Quiles & Hevia, 2003 p. 1):

- ✓ Dieta: la composición de los nutrientes y los productos derivados de su digestión pueden alterar la composición de la flora intestinal y su actividad metabólica. El crecimiento bacteriano del intestino grueso está a expensas de los nutrientes no digeridos y de las

secreciones intestinales. Por lo tanto, la composición de la dieta y el tipo de sustrato que llega al intestino grueso puede favorecer el crecimiento de un determinado tipo de bacteria en detrimento de otras.

- ✓ Parámetros Fisiológicos: tales como el pH, potencial de óxido-reducción y la concentración de oxígeno en las diferentes partes del tubo digestivo, tiene su influencia sobre el crecimiento y multiplicación de la flora Saprofítica.
- ✓ Secreciones Biliares: la presencia de estas favorece el crecimiento bacteriano, principalmente de las bifidobacterias.

- Destete

El periodo de destete en el lechón, representa una etapa crítica, pues a edades tempranas el mecanismo de termorregulación del animal no está desarrollado por completo, piel delgada y casi nula presencia de pelo, el tejido adiposo representa una débil capa subcutánea que no es eficaz para soportar la temperatura ambiente; adicionalmente a esto, el cambio de alimento de leche materna a alimento balanceado provoca una disminución en el consumo de alimento diario y no compensa sus necesidades basales, presentándose los trastornos gastrointestinales, causando un déficit de energía en el animal. Para lo cual se debe realizar una formulación dietética y buenas prácticas de manejo porcino (Cabrera *et al*; 2010 p. 2265).

En la fase post destete ciertos componentes están afectando la supervivencia del lechón, como por ejemplo la alta susceptibilidad de los lechones a las patologías e intolerancias digestivas; esto involucra la necesidad de conocer la fisiología digestiva, inmunológica, ingesta de alimentos y adaptabilidad de los lechones, para optimizar el manejo técnico de la producción porcina (Cabrera *et al*; 2010 p. 2265).

El destete fue asunto de análisis que produce varios puntos basados en la indagación, por su trascendencia en el crecimiento, desarrollo y salud del lechón para las próximas fases fisiológicas antes de finalizar el ciclo productivo (Cabrera *et al*; 2010 p 2265).

- Condiciones fisiológicas post destete

En la fase de post destete existen diversos factores que modifican las condiciones fisiológicas del lechón, entre las cuales se menciona el medio o entorno en el que se desarrolla, la genéticas del animal, el manejo alimenticio y el tipo de destete (precoz, normal o tardío), y son mediados por el comportamiento y nivel de estrés que presente el animal (de Lange *et al.*, 2010p. 124).

Los principales cambios fisiológicos post destete son:

- ✓ Cambios en la fisiología e histología digestiva
- ✓ Fermentación de proteínas en Intestino
- ✓ Baja regulación térmica y deficiencia de energía
- ✓ Activación del Sistema inmunológico
- ✓ Bajo desarrollo del sistema enzimático
- ✓ Baja capacidad de acidificación estomacal o Reducción en la función de absorción de nutrientes
- ✓ Baja capacidad de ingestión
- ✓ Otros Componentes: la rapidez de tránsito del alimento, el sistema inmunitario del lechón, la existencia de determinadas enzimas, etc.

Las principales consecuencias del efecto combinado de dichos cambios en la fisiología y estructura del cerdo en la fase del destete se traducen a una disminución en la ingesta diaria de alimento balanceado, menor crecimiento diario o pérdida de peso; la presencia del síndrome diarreico que puede producir morbilidad en las camadas y terminar en la muerte del animal. Hasta el día 14 post destete existe aproximadamente esta disminución de crecimiento la cual va a presentar una reducción en el peso del lechón de un 25% a un 40% en comparación con lechones que no han sido destetados (Argote *et al.*, 2008 p. 32)

- ✓ Síndrome diarreico

El síndrome diarreico de los lechones, constituye uno de los problemas más comunes en las explotaciones porcinas, que se presenta en la primera semana y posteriormente entre la segunda y tercera semana de edad, según el manejo de la granja, será el número de lechones que presenten diarrea.

Dicha diarrea en general, no es severa, pero implica gastos por tratamiento, mano de obra, y en algunos casos pérdida de peso y mayor mortalidad (Morilla, 2012).

Cepeda *et al.* (2009) reportaron, que la diarrea tiene un sin número de causas entre las que se encuentran el manejo deficiente de los animales, la mala alimentación, las enfermedades por el exceso de leche de la cerda, y otros factores del ambiente que ocasionan en el lechón alteraciones en su microbiota intestinal.

La resistencia del animal lactante a los agentes infecciosos está dada principalmente por dos sistemas: la inmunidad pasiva que la madre le transfiere al lechón a través del calostro y la leche, y la protección que confiere a las mucosas la presencia del microbiota normal (Morilla, 2012).

Como consecuencia, durante la primera semana posterior al destete, la microbiota se vuelve muy inestable y generalmente hay un decremento en la biodiversidad (Wallgren & Melin 2001), la cual se estabilizará después de un período de dos a tres semanas (Jensen *et al.* 1998). En general, se ha observado que durante este período hay una disminución en el número total de bacterias cultivables (Franklin *et al.* 2002 p. 2904).

De manera particular, se ha reportado un decremento de hasta 100 veces en la población de *Lactobacillus* de manera paralela al incremento de hasta 50 veces en el número de enterobacterias (en específico de *Escherichia coli*) durante este período (Castillo *et al.* 2007 p. 239).

Finalmente, como resultado de este desequilibrio en la microbiota intestinal, los lechones se vuelven más susceptibles a enfermedades causadas por patógenos oportunistas tal como se ejemplifica en la Figura 6 (Hopwood & Hampson *et al.* 2003).

- Factores que favorecen la alteración de la flora intestinal

Las dos causas más comunes en los cerdos son: el uso de antibióticos, sulfamidas y antiparasitarios o bien el someter a los animales a situaciones de estrés (condiciones ambientales extremas, vacunaciones, cambios de lotes, ciertas prácticas de manejo, destetes tempranos, densidades elevadas, etc.) (Quiles y Hevia, 2003 p. 1).

Otras causas que pueden alterar la flora son: los cambios bruscos en la dieta o calidad del agua (tanto en las características físico-químicas como microbiológicas), la presencia de microorganismos patógenos, el uso abusivo de desinfectantes, etc.

El síntoma más significativo de la ruptura del equilibrio de la flora intestinal es la diarrea, como consecuencia de la debilidad de las defensas del intestino que permiten a los microorganismos

patógenos implantarse, adherirse y proliferar en las células epiteliales del intestino, para después propagarse; esta patología implica un déficit en la absorción de agua y de nutrientes, y dependiendo del nivel de deshidratación y desequilibrio electrolítico dependerá la gravedad del caso (Quiles y Hevia, 2003 p. 1).

Cuando las disfunciones del aparato digestivo son leves podemos recurrir al tratamiento sólo con probióticos, pero cuando el cuadro patológico se agrava (heces excesivamente líquidas y durante mucho tiempo, heces sanguinolentas, aumento de temperatura corporal, postración de los animales, etc.) se debe recurrir a la terapia farmacológica, para hacer frente a la infección. Se pueden realizar una acción conjunta, apoyando al método farmacológico con el uso de probióticos para repoblar de nuevo la flora intestinal, pero no siempre ya que se puede observar en varios estudios cierta resistencia (Quiles y Hevia, 2003 p. 1).

1.3. Probióticos

1.3.1. Definición

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen a los probióticos como organismos vivos que suministrados en la dieta como suplementos alimenticios generan un beneficio en el animal consumidor (FAO/WHO, 2001). Cabe resaltar que, como lo indica esta definición, el término probiótico no está limitado a alimentos o a una administración oral del producto, este término puede utilizarse también en productos de aplicación cutánea, intravenosa, entre otras. Los probióticos son organismos vivos y no está limitado el tipo de organismo, pueden ser bacterias, hongos, entre otros (FAO/WHO, 2001; Reid, 2016 p. 17). Como lo aclara la definición de la OMS y la FAO, los microorganismos empleados deben estar vivos para que puedan ser clasificados como probióticos. No existen probióticos muertos, esto es un mal uso del término.

Otro aspecto importante a la hora de clasificar un producto como probióticos es que debe existir un efecto beneficioso en el animal o persona a la que se le administra, y este efecto debe estar probado y debe superar al efecto dado por el placebo (FAO/WHO, 2002; Hill *et al.*, 2014 p. 506).

Entre los productos comerciales utilizados actualmente como probióticos en la alimentación animal, se encuentra una amplia variedad de presentaciones; algunos emplean una sola especie microbiana,

otros son multiespecie, además, en el mercado se encuentran probióticos a base de bacterias, hongos, microorganismos formadores y no formadores de esporas (Bajagai *et al.*, 2016 p. 179).

Entre esta variedad de productos están los probióticos autóctonos, que son los que utilizan microorganismos que son parte de la flora indígena del tracto gastrointestinal de los animales, como las bacterias pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y los probióticos alóctonos que usan microorganismos que normalmente no están presentes dentro del tubo digestivo de los animales, como es el caso de las levaduras (Bajagai *et al.*, 2016 p. 179).

1.3.2. Antecedentes

El concepto actual de probiótico procede de diversos postulados desde hace más de un siglo. La primera descripción del concepto de probiótico surgió de las observaciones realizadas por el científico ruso Elie Metchnikoff, premio Nobel y profesor del Instituto Pasteur de París, quien postuló la existencia de dos grandes grupos de bacterias intestinales: las bacterias de la putrefacción, nocivas; y las fermentadoras, beneficiosas para la salud. Según Metchnikoff, el balance entre bacterias de la putrefacción y bacterias fermentadoras debía tener gran importancia para la salud, y la ingesta habitual de una cantidad suficiente de las “bacterias fermentadoras” como los lactobacilos presentes en el yogur y otros derivados lácteos fermentados, debería inclinar el balance hacia el lado positivo. (De Vrese y Schrezenmeir, 2008 p. 1; OMGE, 2011).

La palabra probiótico proviene del latín *pro* que significa “para” y del griego *bios* que significa “vida”, en 1965 Lilly y Stillwell utilizaron este término por primera vez para representar sustancias que secretadas por un microorganismo provocan el crecimiento de otro, distinguiéndose del término antibiótico (Schrezenmeir y De Vrese, 2001 p. 361; Binns, 2013).

Aunque el término “probiótico” ha sido usado con distintas acepciones, su significación actual fue establecida por Fuller en 1989, que describe a los probióticos como microorganismos vivos que, dados como suplemento dietético, afectan beneficiosamente al hospedador porque mejoran el balance microbiano en el intestino (Schrezenmeir y de Vrese, 2001 p. 361).

Posteriores definiciones asumen el concepto de Fuller, añadiendo algunos aspectos más precisos, como la importancia de la dosis, o resaltando características obvias como la de que no deben ser microorganismos patógenos. Cabe destacar las definiciones propuestas por Schaafsma y Salminen en

1996. Según Salminen, un probiótico es "un cultivo microbiano vivo o producto lácteo cultivado que influye de manera beneficiosa en la salud y la nutrición del hospedador" y según Schaafsma, "los probióticos orales son microorganismos vivos que, una vez ingeridos en cierto número, ejercen efectos saludables más allá de los inherentes a la nutrición básica" (Binns, 2013).

1.3.3. Ubicación taxonómica de los probióticos

El concepto de probiótico incluye una amplia diversidad microbiana, tanto microorganismos procariontes como eucariotes pueden poseer propiedades probióticas (Ramos-Cormenzana *et al.*, 2005 p. 97).

Sin embargo, la mayoría de los microorganismos más comúnmente usados como probióticos son bacterias del ácido láctico pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Figura 2-1). Otras especies de los géneros *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, así como cepas no patógenas de *E. coli* y ciertas cepas de bacilos y levaduras pueden actuar también como probióticos (Álvarez-Olmos & Oberhelman, 2001 p. 1567; Howarth & Wang, 2013 p. 58).

Los lactobacilos son bacilos o cocobacilos Gram-positivos no esporulados que, como miembros del *Phylum* Firmicutes, tienen un contenido en G+C inferior al 50%; son aerotolerantes o anaerobios, su metabolismo es estrictamente fermentativo, distinguiéndose especies homofermentadoras (el ácido láctico supera el 85% de los productos de fermentación de la glucosa) y heterofermentadoras (producen láctico, CO₂, etanol y/o acético en proporciones equimoleculares). Los complejos requerimientos nutritivos reflejan sus nichos ecológicos ricos en carbohidratos: plantas y residuos vegetales, alimentos fermentados y como componentes de la microbiota de compartimentos del cuerpo de animales, especialmente el intestino (Tannock, 2004 p. 3189).

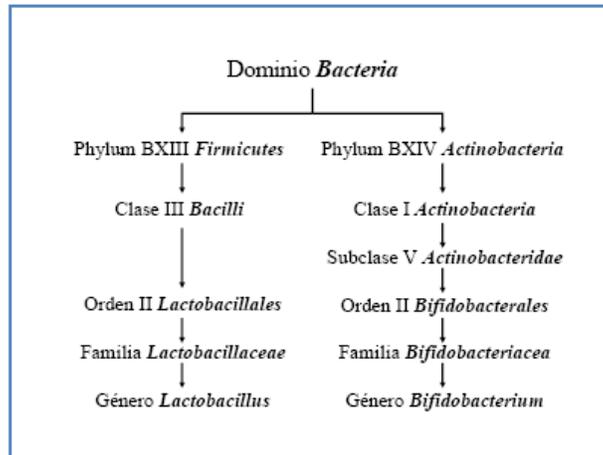


Figura 2-1. Ubicación de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en los taxones superiores del dominio Bacteria.

Fuente: (De Montijo, 2017)

Un aspecto importante del concepto de probiótico, es que se circunscribe a nivel de cepa: dentro de una misma especie, las diferentes cepas pueden distinguirse por propiedades genéticas y fisiológicas únicas, por lo tanto, los efectos saludables demostrados para una cepa microbiana específica no son extrapolables o atribuibles a otras cepas de la misma especie (Schrezenmeir y de Vrese, 2001 p. 361; Reid *et al.*, 2003 p. 658).

La taxonomía y nomenclatura actual de las bacterias ácido lácticas probióticas no sólo está basada en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, sino también en sus características fenotípicas y genotípicas.

El uso de las técnicas de biología molecular no solo han sido útiles en la identificación a nivel de especie, sino que han permitido evaluar la dinámica de los probióticos a través del tracto gastrointestinal y la calidad de los productos que contienen probióticos (Alvarez-Olmos & Oberhelman, 2001 p. 1567).

1.3.4. Microorganismos con efectos probióticos.

Para la elaboración y utilización de probióticos como aditivos en la dieta animal se han utilizado cepas de diferentes tipos de microorganismos. Las bacterias ácido lácticas son las más utilizadas como probióticos, como *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium* (FAO/WHO, 2002).

Los probióticos comerciales presentan características generales entre las cuales deben tener origen del consumidor deseado (por ejemplo: humano, bovinos, porcinos, aves) y deben cumplir pruebas de resistencias y crecimiento a diferentes niveles de sales biliares y ácidos estomacales, crecimiento a diferentes pH y temperaturas, como la capacidad de colonizar la zona intestinal y poseer la capacidad antimicrobiana frente a patógenos potenciales (Dunne *et al.*, 2001 p. 386).

Las bacterias del género ácido láctico utilizadas como probióticos (Tabla 1-1) han incluido: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus intermedius*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*, etc (Verdenelli *et al.*, 2009 p. 355).

Actualmente para la elaboración de aditivos probióticos se utilizan diferentes bacterias del género ácido láctico, incluyendo especies de *Bacillus* y algunas levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*).

La mayoría de las especies de *Bacillus* son microorganismos del suelo; ciertos de los cuales se usan para la producción de sustancias antibióticas y no son elementos normales de la microflora indígena (Sekhon & Jairath, 2010 p. 13).

Los productos elaborados a partir de las bacterias del género *Bacillus* podrían competir con otros microorganismos de la microflora intestinal del cerdo por nutrientes (Jonsson & Conway, 1992 p. 260) o en el caso de competencia continua de los productos por la alimentación podrían generar una sustancia antibacteriana. Dentro de las bacterias más utilizadas como probióticos son las del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* que se las puede aislar de la microflora endémica de los animales (Hentges, 1992 p. 87).

Tabla 1-1. Microorganismos que se usan como probióticos.

<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. boulardii</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>					

Fuente: (Batista, 2006).

1.3.4.1. *Las bacterias ácido lácticas (BAL)*

Actualmente las bacterias ácido lácticas son utilizadas en diferentes procesos de fermentación de alimentos para el consume humano y animal por su gran potencial biotecnológico, en productos lácteos, vegetales, bebidas alcohólicas y diferentes ensilados. Estas bacterias contribuyen al mayor desarrollo de las propiedades organolépticas de los alimentos, además por la gran propiedad antagonista frente a patógenos potenciales genera ambientes poco favorables para su desarrollo y crecimiento (Samaniego *et al.*, 2004 p. 59).

En 1919 Orla-Jensen en un primer intento para organizar a las bacterias ácido lácticas (BAL) para clasificarlas utilizó características fisiológicas, morfológicas y bioquímicas.

Las principales características morfológicas de las bacterias del genero *Bacillus* se presentan en forma de bacilos largos o cortos, aunque también se han encontrado en forma de cocos que se dividen en coco-bacilos, produciendo cadenas o tétradas de forma ocasional, denominados ramificados. Generalmente este tipo de bacterias son Gram positivos y no presentan movimiento

A partir de la perspectiva fisiológica, tienen un metabolismo exclusivamente fermentativo, desde la glucosa generan porciones considerables de ácido láctico, en compañía de otros metabolitos como ácidos orgánicos, etanol y CO₂. Según Saloff, C. (1994), son altamente sacarolíticos y teniendo presente al producto final se ordenan en homo fermentativos (producen ácido láctico primordialmente, entre un 70 y 80%) y heterofermentativos (producen ácido láctico en un 50%, más ácido acético, etanol y CO₂). No generan catalasa, nitrato reductasa, ni citocromo oxidasa. Consideradas principalmente anaerobias, aun cuando ciertos tienen la posibilidad de tolerar bajas tensiones de oxígeno en el medio, lo cual las hace aerotolerantes o microaerófilas. La nutrición podría ser heterótrofa o quimiorganótrofa y tienen la posibilidad de vivir en diferentes hábitat ricos en nutrientes como vegetales, leche, carne, suelo. Ciertos están en ambientes más especiales como vagina, boca e intestinos de los animales y el ser humano (Saloff, 1994).

La resistencia a la acidez gástrica, sales biliares y variables de pH son características importantes en la determinación de una BAL como inóculo en la producción animal, puesto que es necesario que lleguen vivos al final del intestino delgado y ciego para ejercer efectos inmunomodulador del epitelio intestinal (Ramasamy *et al.*, 2010 p. 65).

Para la elaboración de los aditivos probióticos se han utilizado bacterias ácido lácticas entre las especies más importantes, de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* Y *Streptococcus*, estos microorganismos se encuentran presentes en la microflora normal del tracto intestinal de los animales y del hombre (Gosalbes *et al.*, 2013 p. 198).

- Efecto de las BAL sobre la nutrición

Las bacterias ácido lácticas, son las responsables del proceso de fermentación láctica en la primera porción de tracto gastrointestinal, de esta forma se aumenta la disponibilidad de proteínas, aminoácidos y péptidos por su acción proteolítica la cual es limitada (Fooks *et al.*, 1999 p. 53); debido a esta razón, la utilización de bacterias para aumentar la asimilación de los alimentos, que al ser consumidos por el hombre o animal no son muy aprovechables, como pacientes intolerantes a la lactosa los cuales, corren el riesgo de disminuir los niveles de calcio y vitamina D existiendo predisposición a sufrir enfermedades como la osteoporosis. Según estudios aproximadamente entre un 65 – 75% de la población mundial posee problemas digestivos con la intolerancia a la lactosa, esto provoca que las bacterias ácido lácticas sean una solución confiable. (McCray, 2003 p. 21).

Las bacterias productoras de ácido acético y d-galactosidasa son capaces de aumentar la actividad de la lactasa, reduciendo los posibles problemas de asimilación (Fooks *et al.*, 1999 p. 53; Vesa *et al.*, 2000 p. 165).

Los lechones están expuestos a diario a millones de microorganismos patógenos, cuando consumen la cama, suelo o el estiércol de sus compañeros de camada (Vesa *et al.*, 2000 p. 165). Bacterias, tales como la *Escherichia coli*, *Clostridium* y *Salmonella* son patógenas, causales de enfermedades cuando se consumen debido a que viajan a través del tracto digestivo infectando las células epiteliales del intestino del hospedero (Ferket, 2002 p. 21).

1.3.4.2. Características del género *Lactobacillus*

Taxonómicamente, el género *Lactobacillus* se ubica en la familia *Lactobacillaceae* (Kandler & Weiss 1986; Garrity *et al.*, 2004). Y sus integrantes se caracterizan porque:

- ✓ Presentan células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos y comúnmente forman cadenas.

- ✓ No son motiles en general, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación peritrica.
- ✓ Son Gram-positivos y solo las células viejas o muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram.
- ✓ No esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato.
- ✓ Su metabolismo es fermentativo. Producen lactato como producto final; además pueden formar acetato, formiato, CO₂ y etanol.
- ✓ Generalmente no reducen los nitratos, no lucían la gelatina, no producen indol ni H₂S.
- ✓ Tienen requerimientos nutricionales complejos. Los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los aminoácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables.
- ✓ Viven en un rango de temperatura entre 2-53 °C, con una temperatura óptima entre 30-40 °C.
- ✓ Crecen bien en medios ligeramente ácidos, con un pH inicial entre 4,5 – 6,4 y con un pH óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2.
- ✓ Son generalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerofílicas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO₂ (de aproximadamente 5% o hasta 10%) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos.

- Hábitat

Los *Lactobacillus* forma parte de la microflora normal de la boca, el tracto gastrointestinal y urogenital de animales homotérmicos incluyendo al hombre (Sneath *et al.* 1986), además se puede encontrar en un gran número de alimentos fermentados en productos lácteos, vegetales y cárnicos.

De hecho, sus requerimientos nutricionales se ven reflejados en sus hábitats, que se caracterizan por ser ricos en carbohidratos y otros nutrientes como amino ácidos, péptidos, derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, y ácidos grasos o esteres de ácidos grasos. *Lactobacillus* ha sido muy importante en la producción de alimentos, entre los productos fermentados más conocidos están el yogurt, quesos, vegetales como las aceitunas y en embutidos como el salami (Tannock 2004 p. 3189).

Los miembros de este género, crecen a temperaturas que van de 2 a 53 °C aunque las óptimas son generalmente de 30 a 40 °C y su pH óptimo de crecimiento es de entre 5.5 y 6.2 aunque pueden crecer a pH de 5 o incluso más ácidos (Sneath *et al.* 1986).

- Adhesión

En la naturaleza se ha observado que las bacterias prefieren desarrollarse en comunidades sedentarias adheridas preferentemente a una superficie (Dunne 2002 p. 155). Desde el punto de vista ecológico, esta tendencia representa una ventaja que permite a los microorganismos el poder iniciar una relación simbiótica con su hospedador.

Ejemplos de este tipo abundan en la naturaleza y un ejemplo clásico es el que se observa en la microflora que habita el tracto digestivo de rumiantes, la cual promueve la degradación y el reciclaje de materiales insolubles (Cheng *et al.*, 1995 p. 221).

Desde el punto de vista evolutivo, la adhesión bacteriana favorece la localización de una superficie que le provea de nutrientes, que le brinde protección del medio hostil circundante y que al mismo tiempo le sirva de protección para evitar la predación externa (Costerton & Lappin, 1995 p. 1). En microorganismos que habitan superficies gastrointestinales, la adhesión previene que estos sean excretados del cuerpo debido al continuo paso de fluidos a través de la superficie epitelial.

La adhesión bacteriana por tanto puede ser deseable o no y esto dependerá de la bacteria que se adhiera, la superficie a la que se adhiera y el tipo de interacción entre ambas partes. En el caso de bacterias benéficas este proceso es deseable y por tanto el estudio de los mecanismos involucrados en este proceso de adhesión es de gran interés (Rodríguez, 2008).

1.3.4.3. *Modo de acción de los probióticos*

La literatura científica propone numerosas ocupaciones de los probióticos, aun cuando son desconocidas con precisión los mecanismos por los que se generan los efectos. Se dice que dichos microorganismos crean un complejo con las bacterias propias del animal para favorecer los mecanismos de custodia, la producción de sustancias antimicrobianas, el decrecimiento del pH intestinal, la reducción del incremento de patógenos, la estimulación de la actividad de macrófagos y linfocitos, lo cual influye en superiores rendimientos productivos (Vasiljevic, 2008 p. 714).

Además, tienen la posibilidad de utilizar acción hipocolesterolémica y variación del metabolismo microbiano y del hospedero, de esta forma como excitar la respuesta inmunitaria.

Todavía se hallan en análisis los mecanismos precisos por medio de los cuales los probióticos tienen la posibilidad de disminuir los tenores de colesterol.

No obstante Bengmark, (1996) propuso que la implementación de *Lactobacillus* permite la producción de caprostenol (esteroides de colesterol) en el colon y ayuda a minimizar sus valores en sangre pues éste se excreta.

La FAO/WHO indica que las bacterias ácido lácticas provocan incremento en la cantidad de sales biliares desconjugadas, las que son menos solubles en agua y más de forma sencilla excretadas por las heces fecales, por consiguiente, reduce el retorno al hígado y se incrementa la conversión de colesterol en sales biliares. Otros estudios con probióticos confirmaron que se reduce la absorción de ácidos biliares lo cual tiene impacto inhibitorio en la absorción de micelas de colesterol por el intestino delgado (Shah, 2008 p. 99).

La adición de probióticos en el alimento puede incrementar los valores de ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Lo cual fundamentalmente el ácido propiónico inhibirá la enzima hidroximetilglutaril-CoA reductasa provocando disminución de la concentración de colesterol (Kiessling *et al.*, 2002 p. 843).

De forma general, los probióticos disminuyen los tenores de colesterol (Hara *et al.*, 1999 p. 942), lo que posibilita la obtención de canales de animales más saludables para el consumo del ser humano. Sin embargo, es necesario profundizar en la actividad hipocolesterolémica que presentan estos productos para utilizarlos con más grande eficiencia.

- Supresión de microorganismos patógenos

Una gran serie de sustancias antimicrobianas son generadas por las bacterias ácido lácticas en medio de las que se hallan el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el diacetilo, la reuterina, los ácidos orgánicos como el láctico y el acético, y las sustancias de naturaleza proteica conocidas como bacteriocinas, que son péptidos, proteínas o complejos proteicos, elaboradas por bacterias. En medio de éstos compuestos se hallan la nisina, acidolina, bulgaricina, diplococina, lactococina y enterococina, entre otros (Nakano *et al.*, 1999 p. 1569).

La capacidad producción de H₂O₂ lo realizan la mayoría de bacterias del género *Lactobacillus*, por medio de la acción de oxidación del lactato (González *et al.*, 2003).

El peróxido de hidrógeno se crea como mecanismo de protección frente al oxígeno, por medio de la acción de oxidasas o NADH (dinucleótido de nicotinamina y adenina) peroxidasas.

Una de las características de las bacterias del género *Lactobacillus* es la nula producción de catalasa, el H₂O₂ se acumula en el medio de crecimiento de las bacterias lácticas. La acción bactericida de esta sustancia se atribuye a su impacto altamente oxidante, por medio de peroxidación de los lípidos de la membrana y la eliminación de la composición básica molecular de proteínas celulares (González *et al.*, 2003).

Por otro lado, muestran un impacto inhibitorio variable las bacteriocinas. La mayor parte actúa contra bacterias Gram positivas, en especial contra microorganismos involucrados taxonómicamente. No obstante, hay bacteriocinas como la acidolina que inhibe bacterias Gram positivas y Gram negativas. Ejemplificando, *Lactobacillus acidophilus*, entre otras muchas especies del género *Lactobacillus*, poseen características antimicrobianas y pueden generar sustancias bacteriocinas en altas proporciones con importante impacto contra patógenos como coliformes y bacterias de los géneros *Salmonella* y *Campylobacter* (Ammor & Mayo, 2007 p. 138).

1.3.4.4. Selección de las cepas con potencial probióticos

Numerosos autores han propuesto diversos criterios generales para la selección de un microorganismo probiótico, entre los que se mencionan:

- Tolerancia al tracto gastrointestinal: Los probióticos deben resistir las enzimas salivales, el ácido del estómago, la secreción de sales biliares y enzimas pancreáticas, así como cambios de pH e ingredientes de alimentos y bebidas que se encuentren a su paso a lo largo del tracto gastrointestinal.
- Capacidad para adherirse a las células epiteliales y a las superficies mucosas lo que prolonga su tiempo de permanencia en el tracto gastrointestinal y reduce la adhesión de microorganismos patógenos.
- Ser seguros: No deben tener antecedentes de ser patógenos ni estar asociados con otras enfermedades tales como endocarditis infecciosa o desordenes gastrointestinales.
- Modulación del sistema inmune asociado al tracto gastrointestinal del hospedador, sin producir inflamación.

- Ausencia de resistencia transferible frente a antibióticos de interés clínico: No deben actuar como fuente de genes de resistencia a antibióticos para miembros microbianos menos inocuos del ecosistema intestinal y se debe verificar la ausencia de genes transferibles.
- Finalmente, una cepa probiótica debe cumplir una serie de requisitos tecnológicos como el cultivo a gran escala, la estabilidad genética y el mantenimiento de su viabilidad dentro del producto alimenticio o suplemento, además de poseer buenas cualidades sensoriales (Saarela *et al.*, 2000 p. 197; Salminen *et al.*, 2005 p. 1294; Mejía *et al.*, 2006 p. 178; Sanders *et al.*, 2010 p. 164; Binns, 2013).

1.3.4.5. Efecto de los probióticos elaborados con *Lactobacillus*

A pesar de que se ha demostrado experimentalmente la eficacia de un gran número de microorganismos probióticos para prevenir o controlar enfermedades sobre todo de tipo bacteriano en animales de granja (Tabla 2-1), aún existe escepticismo entre los productores quienes se resisten a abandonar las viejas prácticas de producción.

Tabla 2-1. Microorganismos probióticos utilizados en animales de granja.

Probiótico	Organismo blanco	Beneficio	Referencia
Probiótico comercial "Toyocerin", contiene esporas de <i>Bacillus toyi</i>	Cerdos	Reducción en el número de células bacterianas de <i>E. coli</i> enterotoxigénicas, ganancia de peso significativa y mejora en la conversión alimenticia	Kyriakiss <i>et al.</i> 2003
Mezcla de <i>L. salivarius</i> , <i>L. pentosus</i> y <i>P. pentosaceus</i>	Cerdos	Reducción en el número de bacterias del género <i>Enterobacteriaceae</i> después de 21 días de administración del probiótico	Gardiner <i>et al.</i> 2004
<i>Enterococcus faecium</i>	Cerdos	Reducción en la frecuencia de casos de chlamydia en cerdos en crecimiento	Pollmann <i>et al.</i> 2005
Mezcla de <i>Bifidobacterium bifidum</i> y <i>L. acidophilus</i>	Pollos	Incrementa la respuesta sistémica ante diversos antígenos	Haghighi <i>et al.</i> 2005
Mezcla de <i>L. murinus</i> , <i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i> , <i>L. pentosus</i> y <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Cerdos	Reduce la incidencia, la severidad y la duración de diarrea causada por <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	Casey <i>et al.</i> 2007

Fuente: (Rodríguez, 2008 p. 21)

- Los probióticos en la alimentación de cerdos

En un principio, el concepto probiótico, se definía como sustancias elaboradas por cualquier microorganismo para estimular el crecimiento de otro. Su motivo radica en usar microorganismos beneficiosos para organismo consumidor, o en añadir aditivos que promuevan de manera específica el crecimiento de estos microorganismos, para generar una colonización óptima de bacterias beneficiosas para el organismo y que controlen el crecimiento y desarrollo de poblaciones bacterias con potencial patógeno. El mecanismo de acción se desconoce con precisión. Entre otras maneras se contemplan las siguientes:

- ✓ Potenciación de la respuesta inmune del hospedador.
- ✓ Agregación física de patógenos con los organismos Probióticos (adhesión de organismos probióticos a enterocitos evitando que se adhieran los patógenos).
- ✓ Competencia por nutrientes tales como energía y minerales.
- ✓ Enmascaramiento de los receptores intestinales para las enterotoxinas (Vilatuña, 2014 p. 16).

NRC en el 2009, menciona existente la probabilidad de suplementar de manera directa el pienso con microorganismos vivos como por ejemplo *Bacillus toyoi*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*, etc., con el objeto de generar una población estable de los mismos en el tracto digestivo y eludir de esta forma la proliferación de otros microorganismos de carácter patógeno.

En condiciones prácticas y situaciones de estrés, existe un aumento de efectividad de mencionados aditivos. Otros de los beneficios de los aditivos probióticos es la disminución de la mortalidad por efectos de la bacteria *E. coli* y un aumento de crecimiento de la longitud de las microvellosidades de las paredes del intestino (Vilatuña, 2014 p. 16).

- Empleo de los probióticos en cerdos

Según Paéz (2014), El uso de aditivos probióticos en la dieta genera un mejor rendimiento productivo en los animales consumidores. Los probióticos poseen un efecto en las poblaciones bacterianas del intestino y su actividad dependerá del estatus microbiano de un conjunto de animales y del individuo. En producción porcina éste tipo de aditivos se usan generalmente en lechones para minimizar la morbilidad y mortalidad por efecto de diarreas que aparecen a lo largo de las primeras semanas tras el destete.

Según los resultados de diversos estudios, alrededor en el 80% de los experimentos realizados, los probióticos han incidido de manera significativa sobre la incidencia de diarreas.

Éste impacto ha sido sin dependencia del tipo de microorganismo utilizado

Gonzales, (2009) recopiló resultados de diversas investigaciones realizadas en cerdos en distintas etapas fisiológicas y diferentes condiciones, pese a la variabilidad de datos encontrados la gran mayoría demostraban un efecto beneficioso sobre el hospedero, manifestando que la administración de bifidobacterias y lactibacilos mejoraban aspectos productivos como una mayor ganancia de peso y una eficiente conversión alimenticia.

La flora intestinal de los cerdos tiene la función de resistir el establecimiento de ciertos patógenos del intestino y fue demostrado constantemente que ciertas bacterias ácido lácticas (BAL) en la flora intestinal tienen una actividad inhibitoria contra los coliformes patógenos.

Lyons, (2006) menciona que los microorganismos poseen la capacidad de estabilizar la microflora intestinal y de inhibir a los microorganismos patógenos. .

Investigadores de todo el mundo afirman la teoría del impacto antagonista que poseen los probióticos frente a los microorganismos con potencial patógeno. Se demostró el impacto defensor de la microbiota intestinal contra Salmonelas además se ha visto que los *Lactobacillus* son activos contra E. coli.

1.4. Principales cepas de *Lactobacillus* como probióticos procedentes del tracto gastrointestinal del cerdo

1.4.1. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus es una bacteria Gram positiva que tiene como característica ser la especie principal en producción de ácido láctico a partir de azúcar. En la industria es uno de los microorganismos más usados, ya que forma parte de la formulación de alimentos fermentativos, escogido por sus funciones probióticas y organolépticas que proporciona al alimento (Bull *et al.*, 2014 p. 1).

Una pequeña parte de la industria utiliza *L. acidophilus* como maquinaria energética, por su capacidad de generar etanol y otros biocombustibles. Sin embargo, la aplicación industrial de la bacteria recae en procesos industriales lácteos.

Debido a las propiedades probióticas que esta posee; además su metabolismo azúcares permite obtener productos de importancia en la salud, es por esto que su uso es en una gama diversa de fármacos destinados a enfermedades gastrointestinales (Senanayake *et al.*, 2013 p. 1)

La actividad probiótica de la bacteria ha demostrado que evita la adherencia de *Candida albicans* en el tracto digestivo y aparato sexual, impidiendo que produzca biofilm; además reduce la capacidad filamentosa de la levadura y por ende su potencial infeccioso. La habilidad anti fúngica de *L.acidophilus* se basa en la interacción que tiene la bacteria con las células epiteliales del intestino, ya que promueve la liberación de citoquinas que regulan inmunológicamente al sistema digestivo (Viela *et al.*, 2015 p. 29).

1.4.2. *Lactobacillus casei*.

Lactobacillus casei es una bacteria ácido láctica Gram positiva, cuyo uso industrial es de gran importancia ya que forma parte de la formulación de alimentos probióticos, mejorando procesos de digestión de leche y por ende su tolerancia (Guarner *et al.*, 2011 p. 19).

La actividad metabólica de la bacteria permite obtener ácido láctico como componente principal, su aplicación se centra en el uso de diferentes fuentes de carbono como desechos orgánicos con el fin de producir una fermentación con uso industrial del ácido; así mismo su uso principal es ser componente fermentativo en productos alimenticios (Chooklin *et al.*, 2011 p. 83).

1.4.3. *Lactobacillus plantarum*.

Las especies de *L. plantarum* pertenecen a uno de los grupos taxonómicos descritos por primera vez dentro del género *Lactobacillus*.

Como su nombre lo indica, se encuentra comúnmente en el material vegetal, pero también en una variedad de ambientes, como los productos lácteos, humanos, aguas residuales, etc. Esta flexibilidad determina también la heterogeneidad genética y fenotípica de las especies, en el que una subespecie nueva ha sido recientemente delineada.

En general, la morfología de las células es un bastón con extremos redondeados, el metabolismo es facultativamente heterofermentativo, contenido del genoma de GC está en el rango de 44-46% y los dos isómeros de ácido láctico son producidos a partir de carbohidratos. Desde un punto de vista filogenético, *L. plantarum* incluye las especies *L. pentosus* y *L. paraplantarum*, y las tres especies forman una línea distinta de la descendencia en el género *Lactobacillus* (Jurado, 2013 p. 3648).

CAPÍTULO II.

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Métodos para sistematización de la información

Para la presente investigación se realizó una revisión descriptiva de diferentes investigaciones publicadas con la herramienta tecnológica (internet), revistas científicas con base de resultados reconocidos, tesis experimentales, artículos científicos, documentos online, libros web, referencias que detallen la fisiología digestiva del cerdo y sus microorganismos, principales bacterias ácido lácticas, probióticos en la alimentación animal y principales bacterias del género *Lactobacillus*.

El método de investigación utilizada asumirán tendrán como base que las referencias consultadas traten sobre los principales microorganismos del tracto digestivo del cerdo, sus diferentes funciones y alteraciones metabólicos principalmente en la etapa fisiológica del destete en lechones, principales bacterias ácido lácticas, taxonomía, características, principales funciones y beneficios de las BAL en los animales.

Utilización de probióticos en los animales, diferentes características y criterios de selección de un microorganismo con potencial probiótico y bacterias del género *Lactobacillus*, características, taxonomía y la utilización de las principales bacterias del género *Lactobacillus* en probióticos en la producción animal.

2.2. Criterios de selección

Las primordiales referencias analizadas en cada ítem, en los siguientes subapartados fueron los siguientes:

En lo que concierne a la fisiología del cerdo: Ramirez, (2017): sistema digestivo porcino; Rodriguez, (2016): Consideraciones sobre el destete en lechones; Serrano *et al*: Microbiota gastrointestinal y utilización de probióticos en lechones en transición.

En la fundamentación de las bacterias ácido lácticas (BAL) y principales bacterias del género *Lactobacillus*: Rebolledo, (2014): Aislamiento, selección y caracterización de una bacteria ácido láctica porcina como probiótico en lechones post destete; Macías, (2008): Selección de cepas de

Lactobacillus probióticas y caracterización de sus adhesinas de superficie; René *et al.*, (2018): Efecto de *Lactobacillus plantarum* como probiótico en cerdos al destete; Sun *et al.*, (2007): Factors involved in binding of *Lactobacillus plantarum* Lp6 to rat small intestinal mucus.; Jurado *et al.*, (2013): In vivo evaluation of *Lactobacillus plantarum* as an alternative to antibiotics uses in piglets.

Sobre los probióticos: Vilatuña, (2014): Evaluación de diferentes niveles de vitafert en crecimiento – engorde de cerdos; De Montijo, (2017): estudio del potencial probiótico de *Lactobacillus plantarum* C4; Carmona *et al.*, (2015): Probióticos en cerdos: resultados contradictorios; Verdenelli *et al.*, (2014): Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces;

Sekhon *et al.*, (2010): Prebiotics, probiotics and synbiotics: An overview; Morrow *et al.*, (2014): Probiotic, prebiotic, and Synbiotic use in critically ill patients.; Sánchez *et al.*, (2012): Probióticos y salud.; Sanz, (2003): Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo; FAO, (2002): Guidelines for the evaluation of probiotics in food.

CAPÍTULO III.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Aislamiento y caracterización de bacterias de género *Lactobacillus*

En el sistema digestivo se encuentra una microbiota natural la cual contribuye al proceso de digestión; la preservación y balance de los microorganismos intestinales.

Esta microbiota es importante tanto para procesos de nutrición como control de enfermedades, los ejemplos más comunes de alimentos funcionales son aquellos que contienen probióticos, estos son microorganismos beneficiosos que tienen la habilidad de modificar la microbiota intestinal evitando la generación de microorganismos patógenos en el sistema digestivo (Papadimitriou *et al.*, 2015 p. 1).

Posteriormente, la parte de mayor actividad de fermentación microbiana en el intestino del cerdo lo constituyen el ciego y el colon, además en dichas partes se da a la formación y establecimiento de una muy alta carga de variedad poblacional bacteriana.

La importancia del aislamiento y caracterización de las bacterias es la diferenciación de las características que presentan los distintos géneros de bacterias para poder identificarlos y caracterizarlos por medio de diferentes pruebas como:

- Morfología de colonias.
- Tinción de Gram.
- Prueba de la catalasa.
- Capacidad fermentativa.

Tabla 1-3. Pruebas bioquímicas para identificación de *Lactobacillus*

Porción del Tracto gastrointestinal	Morfología de las colonias	Gram	Catalasa	Especie	Autor
Estómago, intestino delgado e intestino grueso	Bacilos	+	-	<i>Lactobacillus jhonsonii</i> , <i>Lactobacillus brevis</i>	(Suarez <i>et al.</i> , 2017)
Ciego, colon e ileon	Cocos, cocobacilos y bacilos	+	-	<i>Lactobacillus sp.</i>	(Eyeralde, 2018)
Intestino delgado	Bacilos	+	-	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	(Ávila, 2010)
Intestino delgado (ileon)	Bacilos	+	-	<i>Lactobacillus jhonsonii</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus agili</i> , <i>Lactobacillus ruminis</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	(Bertozzi, 2012)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

En la investigación Suárez *et al.*, (2017) extrajo cepas por medio de una laparotomía en la cual tomaron muestras con hisopos estériles a partir de la mucosa epitelial del estómago, intestino delgado, intestino grueso y ciego de un cerdo destetado a los 21 días de edad.

La cual tuvo como resultados la identificación de bacterias ácido lácticas por medio de evaluaciones de las características fenotípicas (bacilos Gram positivos sin presencia de esporas, catalasa negativa), posteriormente se caracterizó a través de la identificación molecular mediante secuenciación del Gen 16S ARNr dos géneros de *Lactobacillus* (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus johnsonii*)

Eyeralde, (2018) aisló muestras del intestino (ciego, colon e íleon) del cerdo y caracterizó las muestras extraídas mediante pruebas bioquímicas las que presentaron en la observación al microscopio óptico distintas morfologías bacterianas: cocos, cocobacilos y bacilos, tanto Gram + (Tabla 1-3.), también obtuvo resultados negativos de las cepas seleccionadas en la prueba de catalasa (Tabla 1-3.), características distintivas de las bacterias del género *Lactobacillus* con una posible selección como cepas de potencial probiótico.

Con una metodología similar Ávila (2010), donde las muestras extraídas de diferentes animales de granja se aislaron y caracterizaron cepas con posible potencial probiótico en el caso de los cerdos las muestras se obtuvieron del intestino delgado por medio de una enterotomía. Caracterizó las muestras con diferentes pruebas bioquímicas las cuales fueron productoras de ácido láctico, Gram positivas, catalasa negativa y no presentar esporas (Tabla 1-3.). Las cepas seleccionadas presentaron morfología bacilar y fueron sometidas a las pruebas de fermentación de carbohidratos y derivados por parte de los microorganismos (API 50 CHL) el cual identificó las bacterias del género *Lactobacillus acidophilus* procedentes del tracto digestivo del cerdo.

Bertozi, (2012) aisló microorganismos mediante un raspaje de la mucosa intestinal de 6 cerdos en la cual mediante las pruebas de identificación bioquímica los resultados de las características fenotípicas de las bacterias fueron Gram positivos y catalasa negativos. Respecto a su morfología fueron bacilos solos, a través de la caracterización molecular mediante secuenciación del Gen 16S rDNA identificó diferentes especies de *Lactobacillus* (*Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus agili*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius*).

De los resultados observados podemos afirmar que en las diferentes porciones del tracto gastrointestinal del cerdo se encuentran bacterias ácido lácticas y mediante las pruebas bioquímicas

se puede evidenciar características como la morfología bacilar, tinción Gram positiva, producción de la enzima catalasa negativa que son distintivas del género *Lactobacillus*, estas bacterias en conjunto con las del género *Bifidobacterium* son las principales colonizadoras del tracto gastrointestinal del cerdo, de las cuales se producen los aditivos probióticos.

3.2. Evaluación de la capacidad probiótica

3.2.1. Resistencia a diferentes pH

Una de las características más importantes para que un microorganismo sea considerado como probiótico, es su capacidad para resistir niveles drásticos de pH.

El estudio de Vélez, (2014) observó que las cepas no eran afectadas por estos pHs (3-8) ya que con una dilución de 10^7 se contaron entre 15-20 UFC/mL. Estos resultados indican que si el lechón consume el alimento, hasta las cuatro horas las bacterias lácticas del inóculo mantienen una viabilidad alta, por lo tanto su acción probiótica será eficaz contra los microorganismos patógenos presentes en el intestino del animal. Además permiten comprobar si los microorganismos son susceptibles a ser caracterizados como probióticos, tienen una viabilidad alta a las concentraciones acidas del estómago como lo es en el caso en el estómago del lechón, (Piateket *et al.*, 2012 p. 99).

Tabla 2-3. Resistencia de cepas de *Lactobacillus* a diferentes pH.

pH	Resistencia	Autor
3	Alta	(Vélez, 2014)
8	Alta	(Vélez, 2014)
3	Alta	(Jurado, 2009)
4,5	Débil	(Villarreal, 2002)
5,5	Alta	(Villarreal, 2002)
2	Media	(Eyeralde, 2018)
4	Alta	(Eyeralde, 2018)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Una similitud de resultados presenta Jurado, (2009) en el cual menciona, los resultados obtenidos demostraron que si el lechón consume el alimento, hasta las tres horas las bacterias lácticas del inóculo mantienen una viabilidad alta (mayor a 3.0×10^8 UFC/ml), por lo tanto su acción probiótica será eficaz contra los microorganismos patógenos presentes en el intestino del animal. De otro modo, esta resistencia a pH bajos, favorece la inhibición de patógenos a lo largo del tracto intestinal, favoreciendo los sitios de adhesión de los microorganismos lácticos (Iñiguez *et al.*, 2007 p. 175)

Villarreal, (2002) en sus resultados presenta una variación poco afectada de la viabilidad en sus aislamientos intestinales en la resistencia a pH de 4,5 y 5,5 en las cuales solo al nivel de pH de 4,5 mostró una débil inhibición.

En la investigación realizada por Eyeralde, (2018) los resultados son semejantes a los expresados anteriormente e indica, a las 24 horas de incubación a pH 2, se observó crecimiento en dos muestras de cepas con posible potencial probiótico, mientras que a pH 4 todas las cepas tuvieron crecimiento.

3.2.2. Tolerancia a sales biliares

Esta característica es imprescindible para selección de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico ya que permite a los microorganismos no modifiquen su comportamiento fisiológico al pasar por el tracto gastrointestinal y tengan una buena acción metabólica al momento de colonizar el intestino delgado. En el estudio de Ávila, (2010), demuestra un crecimiento medio de las cepas de *Lactobacillus acidophilus* proveniente del tracto digestivo del cerdo a la concentración de 0,15% de sales biliares medio al cual fueron sometidas las cepas.

Tabla 3-3. Crecimiento de cepas de *Lactobacillus* a diferentes concentraciones de sales biliares

Concentración (%)	Crecimiento	Autor
0,15%	Alto	(Ávila, 2010)
0,05%	Alto	(Jurado, 2009)
0,10%	Alto	(Jurado, 2009)
0,15%	Alto	(Brizuela, 2003)
0,3%	Alto	(Vélez, 2014)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Datos similares reporta la investigación de Jurado, (2009), en el cual en su investigación señala *L. plantarum* 1H1 y *L. plantarum* 1H2 demostraron que son capaces de crecer a altas concentraciones de sales biliares (5 y 10%).

Según Brizuela, (2003) esta capacidad de crecer en presencia de altas concentraciones de bilis a las que pueden encontrarse en el intestino (0,15%) es un parámetro importante para los microorganismos que componen los preparados probióticos para ser administrados por vía oral a animales.

La tolerancia de los probióticos de crecer en presencia de altas concentraciones de bilis, mayores a las que pueden encontrar en el intestino (0.15%); parámetro importante para los probióticos que vayan a ser suministrados por vía oral. Característica que se puede correlacionar con la supervivencia in vivo a través del tracto gastrointestinal, después de la permanencia de 4 horas en caldo MRS, que es el tiempo más extremo de permanencia en el sistema gastrointestinal. Vélez (2014) presentó resultados de crecimiento y resistencia a concentraciones de 0,3% de sales biliares se observó que las cuatro cepas en su estudio no fueron afectadas por la concentración de sales biliares ya que con una dilución de 107 se contaron entre 15-20 UFC/mL (Vélez, 2014 p. 64)

3.2.3. Crecimiento a diferentes temperaturas

En el estudio de Ávila, (2010) demuestra una comparación de viabilidad de crecimiento de microorganismos de diferentes animales a varias temperaturas de estudio, en el caso del crecimiento de *Lactobacillus* procedentes del tracto digestivo del cerdo presentó un aumento mientras la temperatura subía desde los 15°C hasta los 45°C que conformaron su estudio.

Tabla 4-3. Crecimiento de cepas de *Lactobacillus* a diferentes temperaturas

Temperatura (° C)	Crecimiento	Autor
15	Medio	Ávila, (2010)
45	Alto	Ávila, (2010)
12	Medio	Velez, (2014)
37	Alto	Velez, (2014)
32	Alto	Jurado, (2009)
15	Medio	Eyeralde, (2018)
37	Alto	Eyeralde, (2018)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Datos similares se reporta Vélez, (2014) indica que se sometieron bacterias ácido lácticas a diferentes temperaturas y en un ambiente de anaerobiosis para comprobar su resistencia y viabilidad de crecimiento eficiente para su posterior elaboración de manera industrial, todas las cepas de estudio tuvieron éxito de crecimiento a temperaturas de 12 a 37°C.

Jurado, (2009) presenta dos cepas de *Lactobacillus plantarum* en el cual analizaron el crecimiento de las cepas a diferentes temperaturas y determinaron que la temperatura ideal para el crecimiento de las cepas es de 32°C pero que las bacterias ácido lácticas en estudio demostraron termo resistencia a la temperatura de 38°C teniendo una buena característica para ser seleccionadas como cepas probióticas.

Eyerlalde, (2018) en su trabajo experimental obtuvo resultados similares al medir el crecimiento y resistencia de cepas de género *Lactobacillus* extraídas del ciego, colon e íleon del intestino del cerdo, mostrando un crecimiento de colonias pequeñas a los 15°C y 45°C, indicando como conclusión que la temperatura ideal para el crecimiento óptimo es a los 37°C.

3.2.4. Actividad antimicrobiana contra patógenos

Las especies animales en su tracto gastrointestinal existe una gran variedad de actividad microbiana la cual puede verse afectada por agentes patógenos entre las principales bacterias del género, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytógenes*, *Salmonella*, esta última causantes del síndrome diarreico en la etapa de destete en cerdos, por tal motivo la característica de actividad antimicrobiana es fundamental para que un organismo sea considerado como probiótico.

Tabla 5-3. Actividad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus* frente a patógenos

Especie de <i>Lactobacillus</i>	Patógenos inhibidos	Halo de inhibición (cm)	Autor
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Salmonella</i>	0,94	Villareal, (2002)
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,81	Villareal, (2002)
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Escherichia coli</i> V517	0,73	Villareal, (2002)
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Listeria monocytógenes</i> ATCC 15313	0,99	Villareal, (2002)
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Salmonella Enteritidis</i>	1,55	Eyeralde, (2018)
<i>Lactobacillus casei</i>	de <i>Salmonella</i> <i>Thipymurium</i>	1,2	Vélez, (2014)
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Bacillus cereus</i>	2,53	Sánchez, (2014)
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,57	Sánchez, (2014)
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	1,33	Sánchez, (2014)
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	2,51	Sánchez, (2014)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Villareal, (2002) en su estudio indica que todos los aislamientos de estudio tuvieron actividad total contra patógenos *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* V517, *Listeria monocytógenes* ATCC 15313, estableciendo diámetros de halos de inhibición de 0.94 ± 0.23 cm, 0.81 ± 0.27 cm, 0.73 ± 0.24 cm, 0.99 ± 0.27 cm, respectivamente para cada bacteria, exceptuando el aislado del género *Lactobacillus rhamnosus* que tuvo un poder de inhibición parcial o casi nulo frente a las bacterias patógenas.

Eyeralde, (2018) utilizó un cultivo bacteriano de género *Lactobacillus* para evaluar su capacidad inhibitoria contra patógenos productores de ETA`s como *Salmonella Enteritidis*, en el cual obtuvo un resultado similar al tener un efecto de inhibición provocando halos con promedios de diámetro para el cultivo bacteriano de *Lactobacillus* de 1,55 cm

Existiendo una comparación de la actividad bactericida del trabajo realizado por Vélez, (2014) en donde presentó la formación de halos de inhibición de diámetro entre los 6 y 18 mm, con una media de 12 mm de zonas claras sin crecimiento de colonias de *Salmonella Thipymurium* alrededor de los pozos en los que se usó el extracto probiótico.

Sánchez, (2014) corrobora la información mediante los resultados del estudio de “Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico” en donde menciona que las bacterias del género *Lactobacillus sp.* de su estudio presentaron actividad antimicrobiana casi en su totalidad frente a diferentes bacterias patógenas; estableciendo halos de inhibición de 25,3 mm para *Bacillus cereus*, 15,7 mm para *Staphylococcus aureus*, el 13,33 mm frente a *Salmonella typhimurium* y el 25,12 mm a *Pseudomonas aeruginosa*.

3.3. Efecto de *Lactobacillus* como probióticos en el cerdo

3.3.1. Incidencia de diarrea en lechones

En el periodo de destete y precebo de los cerdos se presenta una serie de cambios a nivel del TGI, la dieta líquida a base de leche materna cambia al alimento sólido balanceado, este cambio disminuye el porcentaje y el ambiente de la microbiota intestinal y se puede producir el síndrome diarreico, que es uno de la factores más influyentes en la muerte al destete.

Tabla 6-3. Incidencia de diarreas y mortalidad en cerdos que consumieron cepas de *Lactobacillus* como aditivo en la dieta

Tratamiento	Aditivo bacteriano	Concentración de <i>Lactobacillus</i> (UFC)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)	Autor
Control	Sin aditivo		57,14	0,00	Bermúdez, (2016)
Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 ¹⁰ UFC.mL ¹	14,29	0,00	Bermúdez, (2016)
Control	Sin aditivo		50,00	0,00	Jurado, (2013)
Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 ⁹ UFC/mL	0,00	0,00	Jurado, (2013)
Control	Sin aditivo		52,33	9,47	Miranda <i>et al.</i> ,(2018)
Probiótico	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	8.2 x 10 ⁷ UFC/mL	16,91	0,00	Miranda <i>et al.</i> ,(2018)
Control	Sin aditivo		8,55	5,98	Ayala <i>et al.</i> ,(2008)
Probiótico	Probiótico (<i>Lactobacillus acidophilus, rhamnosus</i>)	10 ⁹ UFC/mL	2,42	0,00	Ayala <i>et al.</i> , (2008)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Bermúdez, (2016) al utilizar *Lactobacillus plantarum* en dosis de 20 mL (1010 UFC.mL1) como probiótico disminuyó la incidencia de diarreas en un 14,29% en cerdos de 32 a 150 días de edad en comparación a un tratamiento control sin la utilización de probióticos que presentó un 57,14% de diarreas en los cerdos (tabla10). En la investigación realizada por Jurado, (2013) menciona que en los cerdos de 28 días de edad tratados en su alimentación con *Lactobacillus plantarum* como probiótico no presentaron episodios de diarrea contribuyendo a la mejora de la salud de los animales tratados, logrando un incremento en el potencial de crecimiento y estimulación de la respuesta inmune de los lechones.

Miranda *et al.*, (2018) reporta en la adición de *Lactobacillus acidophilus* como probiótico en cerdos destetados la incidencia de diarrea a partir de 49 días de edad menor ($p < 0.05$) y no presentaron muertes en comparación con el tratamiento control sin la adición de probióticos. Resultados similares presentados por Ayala *et al.*, (2008) mencionan que no hubo mortalidad por diarreas en grupos donde se administró el probiótico, debido a un equilibrio de microflora gastrointestinal, mayor superioridad en el sistema inmunológico y mejor control de los microorganismos perjudiciales.

3.3.2. Ganancia de peso y conversión alimenticia

Los resultados obtenidos por Miranda *et al.*, (2018) en cuanto a los parámetros productivos de los lechones destetados presenta un mayor peso final y una mejor conversión alimenticia en los animales suplementados con aditivo probiótico que se dieron posiblemente a la acción del *L. acidophilus*, debido a que estos organismos ayudan a mejorar en los procesos de digestión y absorción de los nutrientes, permitiéndoles realizar un mejor aprovechamiento de sus nutrimentos, en efecto favorece al aumento de ganancia de peso del animal, resultado observado en el presente estudio, al lograr un mejor comportamiento productivo en los cerdos.

Tabla 7-3. Comportamiento productivo de cerdos que consumieron aditivos probióticos

Tratamiento	Aditivo bacteriano	Edad (días)	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Ganancia de peso (kg)	Conversión alimenticia	Autor
Control	Sin aditivo	33 - 73	9,50	18,60	6,20	2,17	Miranda <i>et al.</i> ,(2018)
Probiótico	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	33 - 73	9,45	21,40	7,13	1,78	Miranda <i>et al.</i> ,(2018)
Control	Sin aditivo	32 - 119	8,06	39,04	4,71	2,34	Bermúdez <i>et al.</i> , (2016)
Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i>	32 - 119	7,53	40,77	4,66	2,15	Bermúdez <i>et al.</i> , (2016)
Control	Sin aditivo	28 - 42	8,05	25,75	2,95	1,59	Jurado, (2013)
Probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i>	28 - 42	8,10	29,00	3,48	1,35	Jurado, (2013)
Control	Sin aditivo	2 - 28	1,46	9,32	0,32	-	Arce, (2017)
Probiótico	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2 - 28	1,46	9,96	0,35	-	Arce, (2017)

Elaborado por: Orozco, Alejandro, 2020

Resultados similares reporta Bermúdez *et al.*, (2016) en donde la adición de dosis de probiótico (*Lactobacillus plantarum*)= 20 mL (1010 UFC.mL) mejoró la ganancia de peso con una mejor conversión ($p < 0,05$) lo cual es corroborado por Shim *et al.*, (2005) y Rodríguez *et al.*, (2009) quienes afirman que los lechones tratados con probióticos asimilan mayor cantidad de nutrientes y aumentan su peso vivo más que aquellos que no fueron tratados.

Jurado, (2013) en su investigación obtuvo resultados positivos al utilizar en la dieta de lechones destetados probióticos (*Lactobacillus plantarum*) en el cual los tratamientos T1 y T2 (dieta con probióticos) obtuvieron diferencias estadísticas significativas en la ganancia de peso y el peso final de los animales frente a los tratamientos sin aditivos probióticos demostrando el efecto de los probióticos en la fisiología digestiva de los animales, evidenciando un mejor aprovechamiento de los nutrientes de la dieta. Giang *et al.*, (2011) refirieron que al suministrar a los lechones un complejo de probióticos en el concentrado (*E. faecium*, 3 x10¹¹ ufc/kg, *L. acidophilus*, 4x10⁹ ufc/kg y *L. plantarum*, 2 x10⁹ ufc/kg) obtuvieron mejores resultados en la ganancia diaria de peso y una mejor conversión durante la primera y segunda semana después del destete.

Arce, (2017) indica que el suministro de probióticos a partir del día 14 de vida de los cerdos lactantes es importante en la alimentación, porque los mejores resultados de su investigación (356.21 g en toda la crianza) se obtuvieron en las crías porcinas que consumieron 7 mL de leche, con 2.50 x 10⁵ppm de lactobacilos (*Lactobacillus acidophilus*).

CONCLUSIONES

Las bacterias del género *Lactobacillus* poseen gran potencial como cepas probióticas al tener características de adhesión al tracto gastrointestinal del cerdo, una gran capacidad de resistencia y crecimiento a diferentes niveles de pH y sales biliares producidas por el cerdo y la actividad microbiana ante patógenos como *Salmonella* y *E. coli* causantes de trastornos digestivos y diarreas especialmente en la etapa de destete del lechón.

Las bacterias del género *Lactobacillus* como aditivos probióticos en dietas suministradas a los lechones manifiesta un aumento en la eficiencia productiva en un mayor consumo de alimento, mejor asimilación de los nutrientes de la dieta, superior ganancia media diaria, mayor peso vivo final, y mejoras en los índices de conversión. Se ha evidenciado que la inclusión de estos aditivos probióticos provoca efectos beneficiosos sobre la salud de los animales.

Las principales cepas de género *Lactobacillus* utilizados como cepas probióticas son *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, los cuales al ser bacterias nativas del tracto gastrointestinal del cerdo son utilizados como aditivos en la dieta de los animales generando beneficios sobre su hospedador, mejora de la digestibilidad de la materia seca, la proteína y la energía metabolizable en los cerdos y poseen gran capacidad antagónica sobre bacterias patógenas del tracto gastrointestinal del cerdo.

RECOMENDACIONES

Utilizar las bacterias del género *Lactobacillus* como aditivo en las dietas de los lechones en la etapa de destete producirá una mejor asimilación de los nutrientes, disminuirá o evitará los trastornos gastrointestinales como la diarrea en lechones que son la principal causa de muerte en esta etapa fisiológica y aumentará el consumo de alimento, ganancias de peso media y final.

La adición de *Lactobacillus* como probióticos en la dieta de los lechones en la etapa de destete representará una solución a los problemas gastrointestinales y de salud de los animales, es una alternativa viable a los antibióticos debido al efecto residual y altos costos que representan el uso de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

ABDELQADER, A., IRSHAD, R. & Al-Fataftah, AR. *Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production.* Trop Anim Health Prod., 2013. 45:1017-1024.

ALVAREZ-OLMOS, M. & OBERHELMAN, R. *Probiotics agents and infectious diseases: A modern Perspective on a traditional therapy.* Clin Infect Dis. 2001. No.32: 1567-1576.

AMMOR, M. & MAYO, B. (2007). *Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update.* Meat Science. 2001. 76: 138-146.

ARCE V. *Utilización del probiótico Lactobacillus acidophilus, como aditivo en la alimentación de cerdos lactantes.* Tesis previa a la obtención del título de: Médica Veterinaria Zootecnista, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2017. pp 33-35

ARGOTE, Vergara. *“Efecto de La Dieta Y Edad Del Destete Sobre La Fisiología Digestiva Del Lechón.”* Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad del Cauca. 2008. 6:32– 41.

ÁVILA, J., et al. *Capacidad probiótica de cepas del género Lactobacillus extraídas del tracto intestinal de animales de granja,* Rev. cient. Maracaibo. 2010. v.20 pp.2

AYALA, L., et al. *Respuesta Productiva, Hematológica y Morfométrica de un probiótico comercial en cerdos jóvenes.* Rev. Cubana de Ciencia Agrícola. 2008. Vol. 42. p 182

BAJAGAI, Y., et al. *Probiotics in animal nutrition: Production, impact and regulation.* paper 179. FAO Animal Production and Health, Rome, ITA. 2016.

BATISTA, M., MIUKI, A. & JACOB, C. *The role of probiotic and probiotic in pediatric practice.* Jornal de pediatria. 2006. 82: S189 – 97

BENGMARK, S. *Econutrition and health maintenance. An new concept to prevent GI inflamation, ulceration and sepsis.* Clin. Nutr. 1996. 15: 1-10.

BERMÚDEZ, J., QUISIRUMBAY, T. *Evaluación de Lactobacillus plantarum en la alimentación de cerdos para producción.* Tesis previa la obtención del título de médico veterinario, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta, Ecuador, ESPAMMFL. 2016. pp 25-27

BINNS, N. *Probiotics, Prebiotics and Gut Microbiota*. Monografías del Instituto Internacional de Ciencias de la Vida de Europa/ “Europa International Life Sciences Institute - ILSI”. 2013. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <http://ilsi.org/publication/probiotics-prebiotics-and-the-gut-microbiota/>

BRIZUELA, M. *Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos*. [Tesis doctoral] La Habana: Instituto Cubano de los Derivados de la Caña de Azúcar, ICIDCA, Facultad de Ciencias Veterinarias. 2003.

BULL, M., et al. *The domestication of the probiotic bacterium Lactobacillus acidophilus*, Revista Scientific Reports. 2014. 4 (7202), 1- 4.

CABRERA, R., et al. *Impact of lactation length and piglet weaning weight on long-term growth and viability of progeny*. Journal of Animal Science. 2010. Vol. 88 No. 7, p. 2265-2276.

CARMONA, Jhon, SOLARTE, William & LÓPEZ, Elvis *PROBIÓTICOS EN CERDOS: RESULTADOS CONTRADICTORIOS*. Scielo. 2015. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502015000100009

CASEWELL, M., et al. *The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for humans and animals health*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003. 52:159-161.

CASTILLO, M. *Development of gut microbiota in the pig: modulation of bacterial communities by different feeding strategies*. Doctoral thesis. Barcelona, Spain. 2006. p.8.

CASTILLO, M., et al. *Changes in caecal microbiota and mucosal morphology of weaned pigs*. Vet Microbiol. 2007. 124:239-247.

CEPEDA, H., et al. *Agentes etiológicos en lechones con el síndrome diarreico*. Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. 2009.

CHEN, L., et al. *The maturing development of gut microbiota in commercial piglets during the weaning transition*. Frontiers in Microbiology. 2017. vol. 8, no. SEP, pp. 1688. ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2017.01688.

CHEN, X., et al. *Co-occurrence of early gut colonization in neonatal piglets with microbiota in the maternal and surrounding delivery environments*. Anaerobe. 2018. vol. 49, pp. 30-40. Issn 10958274. Doi 10.1016/j.anaerobe.2017.12.002.

CHENG, K., MCALLISTER, A. & COSTERTON, J. *Biofilms of the ruminant digestive tract.* In: *Microbial biofilms*, H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton eds, 1st ed, Cambridge University Press, New York, N.Y. 1995. pp. 221-232.

CHOOKLIN, S., KAEWSICHAN, L. & KAEWSRICHAN, J. *Potential Use of Lactobacillus casei TISTR 1500 for the Bioconversion of Palmyra Sap to Lactic acid*, Revista Journal of Sustainable Energy & Environmen. 2011. 2, 83- 85.

CONWAY, P. *Microbial ecology of the human large Intestine.* In *Human Colonic Bacteria*. Gibson, G.R., Macfarlane, G.T. eds. Boca Raton, FL: CRC Press, USA. 1995. 1-24.

COSTERTON, J., LAPPIN-SCOTT, H. *Introduction to microbial biofilms.* In: *Microbial biofilms*, H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton eds, 1st ed, Cambridge University Press, New York, N.Y. 1995. pp. 1-11.

DE VRESE, M. & SCHREZENMEIR, J. *Probiotics, prebiotics and synbiotics.* AdvBiochem Eng Biotechnol. 2008. 111: 1-66.

DE MONTIJO, M. *ESTUDIO DEL POTENCIAL PROBIÓTICO DE Lactobacillus plantarum C4.* Tesis doctoral. Programa de Doctorado de Biología Fundamental y de Sistemas. Universidad de Granada, Granada, España. 2017. pp 13.

DEROUCHEY, J. *Sistema digestivo del cerdo: anatomía y funciones.* Centro de información de actividades porcinas. 2014. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/Sistema%20digestivo%20del%20cerdo%20anatomia%20y%20funciones.pdf>

DUNNE, C., et al. *In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with in vivo findings.* Am. J. Clin. Nutr. 2001. 73: 386S392S.

DUNNE, W. *Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?* Clin Microbiol Rev. 2002. 15:155-166.

EC. COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. *Commission Regulation (EC) No.1831/2003.* Official Journal of European Union. 2003. L268:29-43.

EYERALDE, L., ALONSO, M. & GARCÍA, C. *Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas de intestino de cerdos con potencial probiótico.* Tesis de la Carrera de Licenciatura en Tecnología de los Alimentos, Argentina, Tandil. 2018. pp 12-19

FAO/WHO. *Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria.* FAO/WHO, ARG. 2001.

FAO/WHO. *Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food.* April 30 and May 1. London Ontario, Canadá. 2002. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf.

FERKET, C. *Beneficios de dietas suplementadas con antibióticos versus oligosacáridos mananos en pollos broilers.* Dep. de Ciencia Aviar, North C. State University. 2002. p. 21

FIGUEROA, J., et al. *Alimentos funcionales para cerdos al destete.* Vet Méx. 2006. 37: 117-136.

FOOKS, L., FULLER, R. & GIBSON, G. *Prebiotics, probiotics and human gut microbiology.* Int. Dairy J. 1999. 9: 53-61.

FRANKLIN, M., et al. *Characterization of microbial populations and volatile fatty acid concentrations in the jejunum, ileum, and cecum of pigs weaned at 17 vs 24 days of age.* J Anim Sci. 2002. 80:2904-2910.

FULLER, R. *The importance of Lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop.* Br Poult Sci. 1977. 18, 85-94.

GARRITY, G. & LILBURN, T. *Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Second Edition. 2004.

GIANG, H., et al. *Effects of Supplementation of Probiotics on the Performance, Nutrient Digestibility and Faecal Microflora in Growing/finishing Pigs.* Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2011. 24: 655

GONZALES, D. *Empleo de un producto biológicamente activo (Vitafer) en las reproductoras y crías porcinas.* 2009.

GONZÁLEZ, B., GÓMEZ, M. & JIMÉNEZ, Z. *Bacteriocinas de probióticos. Salus cum propositum vitae.* (2003).

GOSALBES, M., et al. *Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants.* Clinical and experimental allergy. 2013. vol. 43, no. 2, pp. 198-211. Issn 09547894. Doi 10.1111/cea.12063.

GUARNER, F., et al. *Probioticos y prebioticos*, Guía práctica de la Organización Mundial de la Salud. 2011. 19-21.

GUERRA, N.P., et al. *Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets*. *Animal feed science and technology* 2007, vol. 134, no. 1-2, pp. 89-107. Issn 0377-8401. Doi 10.1016/j.anifeedsci.2006.05.010.

HARA, H., et al. *Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rats liver and intestine*. *Journal of Nutrition*. 1999. 129: 942-948

HENTGES, D. *Gut Flora in Disease Resistance*. In: *Probiotics*. The Scientific Basis, Fuller, R. (Ed.). Chapman and Hall, London. 1992. pp: 87.

HILL, C., et al. *The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014) 1:506-514. doi:10.1038/nrgastro.2014.66

HONG, P., et al. *Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without eczema*. *PLoS ONE*. 2010. vol. 5, no. 4, pp. e9964. ISSN 1932-6203. DOI 10.1371/journal.pone.0009964.

HOPWOOD, D. & HAMPSON, D. *Interactions between the intestinal microflora diet and diarrhea, and their influences on piglet health in the immediate post-weaning period*. In: *Weaning the pig. Concepts and consequences*. J.R. Pluske, J. Le Dividich and M.W.A. Verstegen, eds, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. 2003.

HOWARTH, G. & WANG, H. *Role of endogenous microbiota, probiotics and their biological products in human health*. *Nutrients*. 2013. 5 (1): 58-81.

HUSEBYE, E., HELLSTROM, P. & MIDTVEDT, T. *Intestinal microflora stimulates myoelectric activity of rat small intestine by promoting cyclic initiation and laboral propagation of migrating myoelectric complex*. *Dig Dis Sci*. 1994. 39, 946-956

INOUE, R., et al. *Development of the intestinal microbiota in the piglet*. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 2005. vol. 51, no. 4, pp. 257-265. ISSN 0022-1260. DOI 10.2323/jgam.51.257.

ÑIGUEZ, C., PEREZ, R. & ACEDO, E. *Evaluation of probiotics properties in Lactobacillus isolated from small intestine of piglets*. *Latinoam Microbiol*. 2007. 49:3-4.

JENSEN, B. *The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs.* J Anim Feed Sci Technol. 1998. 89:175-188.

JIMÉNEZ, E., et al. *Is meconium from healthy newborns actually sterile?* Research in microbiology. 2008. vol. 159, no. 3, pp. 187-193. Issn 0923-2508.

JONSSON, E. & CONWAY, P. *Probiotics for Pigs. In: Probiotics. The Scientific Basis,* Fuller, R. (Ed.). Chapman and Hall, London. 1992. pp: 260

JURADO, H., AGUIRRE, D. & RAMÍREZ, C. *Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos,* Rev.MVZ Córdoba. 2009. vol.14 no.2 Córdoba

JURADO, H., RAMÍREZ, C. & MARTÍNEZ, J. *Evaluación in vivo de Lactobacillus plantarum como alternativa al uso de antibióticos en lechones.* Rev.MVZ Córdoba. 2013. 18 (Supl):3648-3657. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <https://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista/article/view/301/225>

KANDLER, O. & WEISS, N. *Genus Lactobacillus. En Bergey's manual of Systematic Bacteriology.* Vol. 2, Williams & Wilkins (eds.). 1986.

KIESSLING, G., SCHNEIDER, J. & JAHREIS, G. *Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol.* European Journal of Clinical Nutrition. 2002. 56: 843-849.

LANGA, S. *Interacciones entre bacterias lácticas, células del epitelio intestinal y células del sistema inmunitario. Desarrollo de modelos in vitro.* S.l.: universidad complutense de Madrid. 2006.

DE LANGE, C., et al. *“Strategic Use of Feed Ingredients and Feed Additives to Stimulate Gut Health and Development in Young Pigs.”* Livestock Science. 2010. 134(1-3):124–34. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.117>).

LYONS, P. *Opinan los hombres de negocio.* Avicultura Profesional. 2006. 15 (7):22.

MCCRAY, S. *Lactose intolerance: Considerations for the clinician.* Practical Gastroenterology. Nutrition support in Gastroenterology. 2003. p. 21-39.

MEJÍA, J., et al. *Obtención de cepas de Lactobacillus. Caracterización in vitro como potenciales probióticas.* Rev Cient. 2006. 17 (2): 178-185.

MIRANDA, J., et al. *Repercusión de Lactobacillus acidophilus y Kluyveromyces fragilis(L-4 UCLV) en los parámetros bioproductivos de los cerdos.* Enfoque UTE. 2018. V.9-N.2, Jun.2018, pp. 27 -35

MORILLA, A. *Control inmunológico de la diarrea de los cerdos lactantes.* (HTmL). 2012. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/3058975/control-inmunologico-de-la-diarrea-de-los-cerdos-lactantes>

MSHVILDADZE, M., et al. *Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques.* Journal of Pediatrics. 2010. vol. 156, no. 1, pp. 20-25. ISSN 00223476. DOI 10.1016/j.jpeds.2009.06.063

NAKANO, T., et al. *Effects of a probiotic on the lipid metabolism of pullet hen as a cholesterol-enriched diet.* Biotechnology Biochemistry. 1999. 63: 1569-1575.

ODAMAKI, T., et al. *Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study.* BMC microbiology. 2016. vol. 16, no. 1, pp. 90. Issn 14712180. Doi 10.1186/s12866-016-0708-5.

OMGE: ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE GASTROENTEROLOGÍA *Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos.* 2011. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/2012%20Probiotics_NEW%20FINAL_sp.pdf

OYETAYO, VO, OYETAYO, FL. *Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system.* Afr J Biotechnol. 2005. 4: 123-127.

PÁEZ, R. *Desarrollo de cultivos probióticos deshidratados por secado spray para la aplicación en alimentos.* Estudios microbiológicos y tecnológicos. 2014. p. 240.

PAPADIMITRIOU, K., et al. *Discovering probiotic microorganisms: in vitro, in vivo, genetic and omics approaches.* Revista Frontiers in Microbiology. 2015. 6(58), 1-4.

PIATEK, J., et al. *The ability and intestinal epithelial cell adhesion of probiotic strain combination in vitro study.* Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2012. 19(1):99-102.

QUILES, A. & HEVIA, M. *Factores que afectan la tasa de mortalidad neonatal de los lechones.* Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Murcia, España. 2003. 1-10.

QUILODRÁN-VEGA, S., et al. *Isolation of lactic acid bacteria from swine milk and characterization of potential probiotic strains with antagonistic effects against swine-associated gastrointestinal pathogens.* Canadian journal of microbiology. 2016. vol. 62, no. 6, pp. 514-524. Issn 0008-4166. Doi 10.1139/cjm-2015-0811.

RAMASAMY, K., et al. *Bile salt desconjugation and cholesterol removal from media by Lactobacillus strains used as probiotics in chickens.* J Sci Food Agric. 2010. 90: 65-69

RAMIREZ, A. *Sistema digestivo porcino.* El sitio porcino. 2017. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <http://www.elsitioporcino.com/articles/2613/sistema-digestivo-porcino/>

RAMOS-CORMENZANA, A., et al. *Probiotics and biotherapy.* Recent Res Devel Microbiol. 2005. 9: 97-127.

REID, G. *Probiotics: definition, scope and mechanisms of action.* Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2016. 30:17-25. doi:10.1016/j.bpg.2015.12.001

REID, G., et al. *Potential uses of probiotics in clinical practice.* Clin Microbiol Rev. 2003. 16 (4): 658-72.

RESCIGNO, M., et al. *Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria.* Nature immunology. 2001. vol. 2, no. 4, pp. 361-367. Issn 1529-2908.

RODRÍGUEZ, M. *SELECCIÓN DE CEPAS DE Lactobacillus PROBIÓTICAS Y CARACTERIZACIÓN DE SUS ADHESINAS DE SUPERFICIE.* 2008. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/217/macias_m.pdf?sequence=1&isAllowed=y

RODRÍGUEZ, J., et al. *Evaluación del suministro de un preparado biológico de Lactobacillus acidophilus y Streptococcus termophilus en cerdos en crecimiento.* CU. Revista Computarizada de Producción Porcina. 2009. Vol.16. p 54- 58.

ROLFE, R. *The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health.* J Nutr 130. 2000. 396S-402S.

SAARELA, M., et al. *Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties.* J Biotechnol. 2000. 84 (3): 197–215.

SALMINEN, S., GUEIMONDE, M. & ISOLAURI, E. *Probiotics That Modify Disease*. Risk J Nutr. 2005. 135: 1294-1298.

SAMANIEGO, L., et al. *Comprobación de CD de Monografías 2008 (c) 2008, Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos” 26 la actividad probiótica de una mezcla de exclusión competitiva sobre algunos indicadores productivos y microbiológicos del tracto digestivo de pollos de ceba*. Revista Cubana de Ciencia Avícola. 2004. P: 59-67.

SÁNCHEZ, L., TROMPS, J. *Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico* Rev Salud Anim. 2014. vol.36 no.2 La Habana

SÁNCHEZ, H., et al. *Aislamiento de Bacterias Ácido Lácticas a partir del Tracto Digestivo del Lechón*, Rev Inv Vet Perú. 2017. 28(3): 730-736

SANDERS, M., et al. *Safety assessment of probiotics for human use*. Gut microb. 2010. 1: 164-185.

SAVAGE, D. *Mucosal Microbiota*. In *Mucosal Immunology*. Orga. P.L., Mestecky, J., Lamm, M.E., Strober, W., Bienenstock, J., McGhee, J.R., eds. San Diego, CA: Academic Press. 1999. 19-30.

SCHREZENMEIR, J. & DE VRESE, M. *Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition*. Am J Clin Nutr. 2001. 73 (2): 361-364.

SEKHON, B. & JAIRATH, S. *Prebiotics, probiotics and synbiotics: An overview*. J. Phann. Educ. Res. 2010. 1: 13-36.

SENANAYAKE, S., et al. *Application of Lactobacillus acidophilus (LA 5) strain in fruit-based ice cream*, Revista Food Science & Nutrition. 2013. 1(6), 1-3.

SHAH, N. *Some beneficial effects of probiotic bacteria*. Bioscience Microflora. 2000. 19: 99-106.

SHIM, S., et al. *Effect of feeding antibiotic-free creep feed supplemented with oligofructose, probiotics or synbiotics to suckling piglets increases the preweaning weight gain and composition of intestinal microbiota*. 2005. Pp 419-427 (En línea). CH. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16429827/>

SNEATH, P. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Nicholas S. Mair, M. Elizabeth Sharpe, John G. Holt Eds. 1986. Vol 2. John P. Butler Ed. Williams &Wilkins. Baltimore-Hong Kong-London-Sydney.

SOMMER, M. *Advancing gut microbiome research using cultivation*. Current opinion in microbiology. 2015. vol. 27, pp. 127-132. Issn 18790364. Doi 10.1016/j.mib.2015.08.004.

STEWART, C. *Microorganisms in hindgut fermentors*. In: Gastrointestinal Microbiology. Mackie, R. I., and White, B. A. eds. Chapman and Hall Microbiology series, New York. 1997. Vol 2, 142-186.

SWORDS, W., et al. *Postnatal changes in selected bacterial groups of the pig colonic microflora*. Biol Neonate. 1993. 63, 191- 200.

TAJIMA, K. & AMINOV, R. *Structure and function of a nonruminant gut: a porcine model. Rumen microbiology: from evolution to revolution*. New delhi: springer india. 2015. pp. 47-75. Isbn 9788132224013.

TANNOCK, G. *A special fondness for Lactobacilli*. Appl Environ Microbiol. 2004. 70: 3189-3194.

VASILJEVIC, T. & SHAH, N. *Probiotics - from Metchnikoff to bioactive*. International Dairy Journal. 2008. 18: 714-728.

VÉLEZ, M. *Evaluación de la actividad antimicrobiana de bacterias probióticas extraídas del calostro de cerdas de granjas del Aburrá sur*. Tesis o trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de: Magister en Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias Medellín, Colombia. (2014).

VERDENELLI, M., et al. *Probiotic properties of Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus paracasei isolated from human faeces*. Eur. J. Nutr. 2009. 48: 355-363.

VESA, T., MARTEAU, P. & KORPELA, R. *Lactose intolerance*. J. Am. Coll. Nutr. 2000. 19: 165-175.

VIELA, S., et al. *Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 inhibits biofilm formation by C. albicans and attenuates the experimental candidiasis in Galleria mellonella*. Revista Virulence. 2015. 6(1), 29-33.

VILATUÑA, O. *EVALUACION DE DIFERENTES NIVELES DE VITAFERT EN CRECIMIENTO – ENGORDE DE CERDOS*. 2014. [Consulta: 01 Agosto 2020]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/5289/1/Oscar%20Vilatu%C3%B1a%20Tesis.pdf>

VILLARREAL, F. *Aislamiento y Caracterización de Lactobacilos intestinales con Potencial Probiótico*. Tesis para la obtención del Grado Académico de Magister en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Programa de Lactología Industrial (PROLAIN), Universidad Nacional del Litoral. 2002.

WALLGREN, P. & MELIN, L. *Weaning systems in relation to disease. In: The weaner pig. Nutrition and management.* M.A. Valey and J. Wiseman, eds, CABI Publishing. UK. 2001.

WOSTMANN, B. *Germfree and gnotobiotic animal models: background and applications.* Boca Raton, FL: CRC Press. 1996.

XING, JJ., et al. *Effects of emulsification, fat encapsulation, and pelleting on weanling pig performance and nutrient digestibility.* AnimSci. 2004. 82(9):2601-2609.