



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA**

**BACTERIAS PRODUCTORAS DE ACIDO LACTICO:
EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA FLORA
INTESTINAL DE POLLOS, GAZAPOS Y LECHONES**

TESIS DOCTORAL

MARIA LUISA RODRIGUEZ MEMBIBRE

Madrid, 1994

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL**

TESIS DOCTORAL

**BACTERIAS PRODUCTORAS DE ACIDO LACTICO:
EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA FLORA
INTESTINAL DE POLLOS, GAZAPOS Y LECHONES**

Director : Prof. Dr. Francisco Tortuero Cosials
Profesor de Investigación del CSIC
Jefe del Dpto. de Metabolismo y Nutrición
Instituto del Frío
Madrid

Tutor : Prof. Dr. Rafael Sanz Arias
Catedrático de Nutrición y Alimentación
Departamento de Producción Animal
Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense de Madrid

*Memoria que para optar al grado de
Doctora en Veterinaria presenta la
Licenciada María Luisa Rodríguez Membibre*

La Doctorando



Madrid, Septiembre de 1994

Visado en Madrid, Septiembre de 1994

Vº Bº

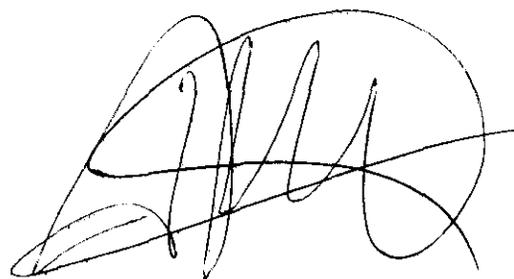
El Director de Tesis

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping, somewhat vertical strokes that form a stylized, abstract shape.

Fdo.: D. Francisco Tortuero Cosialls
Dr. en Veterinaria

Vº Bº

El Tutor de Tesis

A large, highly stylized handwritten signature in black ink, featuring a prominent, large loop on the right side and several sweeping, horizontal strokes across the middle.

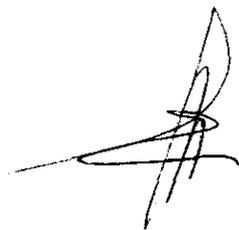
Fdo.: D. Rafael Sanz Arias
Dr. en Veterinaria

*FRANCISCO TORTUERO COSIALLS, PROFESOR DE INVESTIGACION
DEL CSIC Y JEFE DEL DEPARTAMENTO DE METABOLISMO Y
NUTRICION DEL INSTITUTO DEL FRIO DE MADRID*

CERTIFICA:

Que la presente tesis doctoral titulada ***Bacterias productoras de ácido láctico: Efectos sobre el crecimiento y la flora intestinal de pollos, gazapos y lechones***, de la que es autora la Licenciada en Veterinaria D^a María Luisa Rodríguez Membibre ha sido realizada bajo su dirección y cumple las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Madrid, 1 de Septiembre de 1994

A handwritten signature in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the left.

Fdo.: Francisco Tortuero Cosialls

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar en primer lugar mi gratitud al Dr. Francisco Tortuero Cosialls, Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, no sólo por la dirección de esta tesis sino también por su constante apoyo durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Rafael Sanz Arias, Catedrático de Producción Animal en la Facultad de Veterinaria de Madrid quien amablemente accedió a la tutoría de esta tesis.

Al Ministerio de Educación y Ciencia, por la concesión de una Ayuda a la Investigación, que hizo posible la realización de parte del trabajo experimental de esta memoria, en el hoy desaparecido Instituto de Alimentación Animal del C.S.I.C., a cuyo personal, integramente, quiero dar mis más sinceras gracias tanto por su acogida, como por su apoyo y colaboración incansables, al poner a mi disposición todo lo que necesité.

También quiero agradecer al Instituto Llorente de Madrid y a la antigua Unidad de Calidad y Contrastación del I.N.I.A., su colaboración y a todo su personal, de forma especial a D. Julian Barrera por su comprensión y permanente asistencia, al compartir los momentos de entusiasmo y de desánimo durante las tareas analíticas en el laboratorio de microbiología.

Debo manifestar mi más profundo agradecimiento a los Profesores del Departamento de Producción Animal y especialmente a todos mis compañeros de Agricultura, que sin nombrarlos, saben que diariamente han sido un baluarte sumamente importante al alentar la finalización de este trabajo. Nunca llegarán a saber el inmenso valor que tuvo su respaldo.

Asimismo, quiero mostrar mi gratitud a todas las personas que de una u otra forma se han considerado integradas en este trabajo, por su amistad y entrega desinteresada para el desarrollo de esta tesis. Y de modo muy especial a aquellos que colaboraron en la ardua tarea de atención a los animales, con digna mención entre otros a D. Fructuoso Martín, cuyo trabajo fue inestimable. Muchas gracias a todos.

INDICE

	<i>Página</i>
INDICE DE TABLAS	XI
INDICE DE GRAFICOS	XVII
I. INTRODUCCION	3
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	8
II.1. Flora bacteriana del tracto digestivo	8
II.1.1. Desarrollo de la microflora intestinal	10
II.1.2. Localización de la microflora intestinal	13
II.1.3. Microflora de los distintos tramos intestinales	16
II.1.3.1. Estómago	17
II.1.3.2. Intestino delgado	17
II.1.3.3. Intestino grueso	18
II.2. Bacterias productoras de ácido láctico	20
II.2.1. Descripción microbiológica	20
II.2.2. Mecanismos de acción de las BAL	21
II.2.2.1. Disminución del número de microorganismos	21
A) Producción de compuestos antibacterianos	22
B) Productos finales de la fermentación y acidez intestinal	22
C) Antagonismo competitivo	23
II.2.2.2. Alteración del metabolismo microbiano	25
II.2.2.3. Estimulación de la respuesta inmunitaria	25
II.3. Bacterias ácido-lácticas y producción animal	27
II.3.1. Principales efectos de las BAL	27
II.3.1.1. Estimulantes del crecimiento y de la eficiencia nutritiva	27

II.3.1.2. Prevención de trastornos digestivos	28
II.3.1.3. Inhibición del efecto negativo de factores antinutritivos de los alimentos.....	30
II.3.2. Características que deben reunir los microorganismos utilizables en producción animal	31
II.4. Objetivos	34
III. MATERIAL Y METODOS	36
III.1. Descripción y procedencia de las bacterias utilizadas	36
III.2. Animales, alojamiento y manejo	37
III.3. Alimentación	39
III.4. Diseño experimental	44
III.4.1. Pollos	44
III.4.2. Gazapos	49
III.4.3. Lechones	54
III.5. Obtención de muestras del contenido intestinal	60
III.6. Análisis microbiológico	62
III.7. Estudio estadístico	65
IV. RESULTADOS	67
IV.1. Consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva	67
IV.1.1. Pollos	67
* <i>L. casei</i> - <i>L. acidophilus</i> - <i>Str. faecium</i> C68 en pollos de 0-3 semanas	67
* <i>Str. faecium</i> C68 - <i>Str. faecium</i> CL15 en pollos de 0-8 semanas	67
* <i>Str. faecium</i> CL15 - <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L.</i> <i>casei</i> + <i>L. acidophilus</i> en pollos de 4-8 semanas	70
IV.1.2. Gazapos	70
* <i>L. casei</i> en gazapos de 3-8 semanas	70
* <i>L. casei</i> - <i>Str. faecium</i> C68 en gazapos de 4-8 semanas	76

* <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68 en gazapos de 4-8 semanas	76
* <i>Str. faecium</i> CL15 en gazapos de 4-8 semanas	76
IV.1.3. Lechones	81
* <i>L. casei</i> en lechones de 3-6 semanas	81
* <i>L. acidophilus</i> en lechones de 4-8 semanas	81
* <i>L. acidophilus</i> - <i>Str. faecium</i> CL15 en lechones de 3-9 semanas	81
IV.2. Flora intestinal	87
IV.2.1. Pollos	87
* <i>L. casei</i> - <i>L. acidophilus</i> - <i>Str. faecium</i> C68 Flora del íleon y ciegos en pollos de 3 semanas	87
* <i>Str. faecium</i> C68 - <i>Str. faecium</i> CL15 Flora del íleon y ciegos en pollos de 4 y 8 semanas	91
* <i>Str. faecium</i> CL15 - <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L.</i> <i>casei</i> + <i>L. acidophilus</i> Flora del íleon y ciegos en pollos de 8 semanas	96
IV.2.2. Gazapos	99
* <i>L. casei</i> . Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 4-6 semanas	99
* <i>L. casei</i> . Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas	107
* <i>L. casei</i> - <i>Str. faecium</i> C68. Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas	114
* <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68. Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas	114
* <i>Str. faecium</i> CL15. Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas	121
IV.2.3. Lechones	125
* <i>L. casei</i> Flora rectal en lechones de 5 semanas	125
* <i>L. casei</i> . Flora del estómago, íleon, ciego colon en lechones de 6 semanas	125
* <i>L. acidophilus</i> . Flora del íleon, ciego y colon en lechones de 8 semanas	132

* <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15. Flora del íleon, ciego y colon en lechones de 5 y 9 semanas	136
V. DISCUSION	146
VI. RESUMEN	159
VII. CONCLUSIONES	164
VIII. BIBLIOGRAFIA	167

RELACION DE ABREVIATURAS

Anaer.	Anaerobios
BAL	Bacterias ácido-lácticas
Coli	Coliformes
E	Energía
Exp.	Experimento
G	Gazapos
Gram+	Gram-positivo
Gram-	Gram-negativo
LA	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
LC	<i>Lactobacillus casei</i>
LH	<i>Lactobacillus helveticus</i>
L+S	<i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68
L	Lechones
PB	Proteína bruta
P	Pollos
sem.	Semana
Str.	<i>Streptococcus</i>
SF	<i>Streptococcus faecium</i>
SF68	<i>Streptococcus faecium</i> cepa Cernelle 68
SF15	<i>Streptococcus faecium</i> cepa CL15
S+L	<i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i>
T	Testigo
UFC/g	Unidades formadoras de colonias por gramo
UFC/a/d	Unidades formadoras de colonias por animal y día
Vit.	Vitamina

INDICE DE TABLAS

Página

TABLA 1. Composición de la ración administrada a pollos de 0-4 semanas de edad (Experimentos 1P y 2P)	40
TABLA 2. Composición de la ración administrada a pollos de 4-8 semanas de edad (Experimentos 3P y 4P)	41
TABLA 3. Composición de la ración en los experimentos realizados en gazapos	42
TABLA 4. Composición de la ración en los experimentos realizados en lechones	43
TABLA 5. Esquema del planteamiento y metodología de las investigaciones realizadas en pollos	45
TABLA 6. Esquema del planteamiento y metodología de las investigaciones realizadas en gazapos	50
TABLA 7. Esquema del planteamiento y metodología de las investigaciones realizadas en lechones	55
TABLA 8. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos de 0 a 3 semanas de edad (Experimento 1P)	68
TABLA 9. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos de 0 a 4 semanas de edad (Experimento 2P)	69
TABLA 10. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 3P)	71
TABLA 11. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 y <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 4P)	72

TABLA 12. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos de 3 a 6 semanas de edad (Experimento 1G)	74
TABLA 13. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 2G)	75
TABLA 14. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 3G)	77
TABLA 15. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 4G)	78
TABLA 16. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 5G)	79
TABLA 17. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones de 3 a 4 semanas de edad (Experimento 1L)	82
TABLA 18. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones de 4 a 6 semanas de edad (Experimento 2L)	83
TABLA 19. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones de 4 a 8 semanas de edad (Experimento 3L)	84
TABLA 20. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones de 3 a 5 semanas de edad (Experimento 4L)	85
TABLA 21. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones de 5 a 9 semanas de edad (Experimento 5L)	86

TABLA 22. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del íleon en pollos de 3 semanas de edad (Experimento 1P)	89
TABLA 23. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora de los ciegos en pollos de 3 semanas de edad (Experimento 1P)	90
TABLA 24. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del íleon en pollos de 4 semanas de edad (Experimento 2P)	92
TABLA 25. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora de los ciegos en pollos de 4 semanas de edad (Experimento 2P)	93
TABLA 26. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del íleon en pollos de 8 semanas de edad (Experimento 3P)	94
TABLA 27. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> C68 y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora de los ciegos en pollos de 8 semanas de edad (Experimento 3P)	95
TABLA 28. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 y <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i> sobre la flora del íleon en pollos de 8 semanas de edad (Experimento 4P)	97
TABLA 29. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 y <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i> sobre la flora de los ciegos en pollos de 8 semanas de edad (Experimento 4P)	98
TABLA 30. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del íleon en gazapos de 4 semanas de edad (Experimento 1G)	101
TABLA 31. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del íleon en gazapos de 5 semanas de edad (Experimento 1G)	102
TABLA 32. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del íleon en gazapos de 6 semanas de edad (Experimento 1G)	103
TABLA 33. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del ciego en gazapos de 4 semanas de edad (Experimento 1G)	104

TABLA 34. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del ciego en gazapos de 5 semanas de edad (Experimento 1G)	105
TABLA 35. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del ciego en gazapos de 6 semanas de edad (Experimento 1G)	106
TABLA 36. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del colon en gazapos de 4 semanas de edad (Experimento 1G)	108
TABLA 37. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del colon en gazapos de 5 semanas de edad (Experimento 1G)	109
TABLA 38. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del colon en gazapos de 6 semanas de edad (Experimento 1G)	110
TABLA 39. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del íleon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 2G)	111
TABLA 40. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del ciego en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 2G)	112
TABLA 41. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del colon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 2G)	113
TABLA 42. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del íleon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 3G)	115
TABLA 43. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del ciego en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 3G)	116
TABLA 44. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> y <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del colon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 3G)	117
TABLA 45. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del íleon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 4G)	118
TABLA 46. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del ciego en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 4G)	119

TABLA 47. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> + <i>Str. faecium</i> C68 sobre la flora del colon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 4G)	120
TABLA 48. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del íleon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 5G)	122
TABLA 49. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del ciego en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 5G)	123
TABLA 50. Efectos de la administración de <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del colon en gazapos de 8 semanas de edad (Experimento 5G)	124
TABLA 51. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del recto en lechones de 4 semanas de edad (Experimento 1L)	127
TABLA 52. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del estómago en lechones de 6 semanas de edad (Experimento 2L)	128
TABLA 53. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del íleon en lechones de 6 semanas de edad (Experimento 2L)	129
TABLA 54. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del ciego en lechones de 6 semanas de edad (Experimento 2L)	130
TABLA 55. Efectos de la administración de <i>L. casei</i> sobre la flora del colon en lechones de 6 semanas de edad (Experimento 2L)	131
TABLA 56. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> sobre la flora del íleon en lechones de 8 semanas de edad (Experimento 3L)	133
TABLA 57. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> sobre la flora del ciego en lechones de 8 semanas de edad (Experimento 3L)	134
TABLA 58. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> sobre la flora del colon en lechones de 8 semanas de edad (Experimento 3L)	135

TABLA 59. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del íleon en lechones de 5 semanas de edad (Experimento 4L)	137
TABLA 60. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del ciego en lechones de 5 semanas de edad (Experimento 4L)	138
TABLA 61. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del colon en lechones de 5 semanas de edad (Experimento 4L)	139
TABLA 62. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del íleon en lechones de 9 semanas de edad (Experimento 5L)	140
TABLA 63. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del ciego en lechones de 9 semanas de edad (Experimento 5L)	141
TABLA 64. Efectos de la administración de <i>L. acidophilus</i> y <i>Str. faecium</i> CL15 sobre la flora del colon en lechones de 9 semanas de edad (Experimento 5L)	142

INDICE DE GRAFICOS

	<i>Página</i>
GRAFICO 1. Bacterias ácido-lácticas: crecimiento y eficiencia nutritiva en pollos	73
GRAFICO 2. Bacterias ácido-lácticas: crecimiento y eficiencia nutritiva en gazapos	80
GRAFICO 3. Bacterias ácido-lácticas: crecimiento y eficiencia nutritiva en lechones	88
GRAFICO 4. Bacterias ácido-lácticas: BAL/Coliformes intestinales en pollos	100
GRAFICO 5. Bacterias ácido-lácticas: BAL/Coliformes intestinales en gazapos	126
GRAFICO 6. Bacterias ácido-lácticas: BAL/Coliformes intestinales en lechones	144

I. INTRODUCCION

"Todo individuo, desde su nacimiento hasta su muerte, coexiste con más de cien billones de células bacterianas, diez veces más que el número de células que habitan en el cuerpo humano"
(Luckey y Floch, 1972)

I. INTRODUCCION

La población bacteriana intestinal alcanza la cifra aproximada de 10^{14} microorganismos, representados por cientos de diferentes tipos de bacterias. Estas se multiplican en contacto íntimo con el epitelio gastrointestinal, sirviendo de barrera protectora frente a la invasión de los microorganismos patógenos del entorno y permitiendo al hombre y a los animales adaptarse a través de la evolución de las especies a un mundo poblado de gérmenes.

En los individuos sanos puede considerarse que las poblaciones microbianas y las células de los tejidos en contacto con estas bacterias, forman un ecosistema cuyos componentes bióticos están equilibrados. Sin embargo, influencias diversas, exógenas o endógenas, pueden alterar el equilibrio microbiano y una determinada flora puede convertirse bruscamente en nociva para su hospedador.

El estudio de la flora microbiana y sus relaciones con el organismo que la hospeda ha sido llevado a cabo mediante modernas técnicas de microbiología y experimentación con animales de flora controlada, lo cual ha servido como base de los conocimientos actuales sobre las funciones de la microflora intestinal; conocimientos que han hecho evolucionar las ideas sobre el diagnóstico, tratamiento o prevención de los trastornos fisiopatológicos relacionados con el desequilibrio microbiano.

En la década de los 50 se incorporan a la alimentación animal los antibióticos, cuyo espectro y farmacocinética permiten tanto la prevención o tratamiento de enfermedades bacterianas, como la mejora del crecimiento y de la eficiencia nutritiva. Sin embargo, es preciso tener muy en cuenta que independientemente de su utilización y del modo de administración, los residuos antibióticos persisten durante cierto tiempo en el organismo una vez finalizado el tratamiento, con efectos secundarios negativos al distribuirse en músculos, leche y huevos (Gardner, 1978). Por este motivo, su utilización ha sido cuestionada por diversos autores, recomendando una especial medida en el uso de dichos fármacos, ya que por consideraciones de orden sanitario y tecnológico, la presencia de antibióticos en los alimentos no está permitida.

Gustafson en 1991 apuntaba la posibilidad de riesgo para la salud pública, argumentando que el uso de antibióticos en alimentación animal como subterapéuticos o profilácticos, aplicados a pequeñas dosis durante largos períodos de tiempo, podrían inducir a una pérdida significativa de su eficacia tanto en el hombre (consumidor) como en el animal, así como a graves desequilibrios en la población microbiana intestinal que se traducirían en cuadros diarreicos inespecíficos al disminuir o desaparecer la flora protectora (Götz, 1979). Por este motivo, la suplementación con antibióticos como promotores del crecimiento a partir de 1969, se ha limitado a aquellos no implicados en el tratamiento de enfermedades (Parker, 1974).

Ante este hecho, es preciso investigar otras alternativas y dentro de ellas los probióticos adquieren gran interés. Lindgren y Dobrogosz (1990) citan diversos tipos de bacterias que pueden integrar un probiótico, sin embargo, las utilizadas con mayor frecuencia son cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) como *Lactobacillus* y *Streptococcus* fundamentalmente, administradas por vía oral o añadidas en el pienso de forma individual o combinada.

Estas bacterias productoras de ácido láctico previenen la colonización intestinal por agentes patógenos, incrementan la flora beneficiosa, mejoran la absorción del calcio, reducen el pH intestinal e influyen positivamente sobre el crecimiento y el aprovechamiento de los nutrientes. Su efectividad está condicionada a la resistencia a enzimas salivares y digestivas, al pH estomacal y a las sales biliares, así como a su capacidad para adherirse a las células de las vellosidades, mucosa o glicocálix.

Desde el nacimiento, y de modo especial en la etapa de destete, influyen sobre el animal varios factores estresantes como son el cambio de alimentación y de habitat, los cuales predisponen o determinan un desequilibrio microbiano en el área intestinal, de modo que al disminuir la concentración de lactobacilos, aumenta la de coliformes, desencadenándose así procesos diarreicos. Si tenemos en cuenta las importantes pérdidas económicas que originan estas colibacilosis en las explotaciones animales, es fácil evaluar el interés que puede suscitar su prevención. En este sentido, numerosas investigaciones parecen

demostrar la efectividad del aporte por vía oral de BAL a los animales antes y después del destete, con el fin de mantener el complejo y delicado equilibrio de la flora intestinal y favorecer el crecimiento del animal pese a los contratiempos que inevitablemente surgen en el entorno productivo.

Nuestra investigación se ha orientado tanto a la determinación de su efecto sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva del pienso, como al conocimiento de los cambios producidos en la flora gastroentérica cuando se administran determinadas cepas de BAL a pollos, gazapos y lechones.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

II.1. FLORA BACTERIANA DEL TRACTO DIGESTIVO

"La flora bacteriana es indispensable para la vida". Esta era la teoría expuesta por Pasteur (1885) a finales del siglo pasado y corroborada por Metchnikoff (1901). Sin embargo, durante algún tiempo quedó relegada por algunos investigadores la importancia de esta afirmación. Es posible que a este olvido contribuyera el entusiasmo que en aquella época estaba adquiriendo la lucha contra las grandes enfermedades infecciosas, en detrimento de los estudios sobre la flora eubiótica.

En la década de los años 50 la escuela francesa (Saquet, Ducluzeau y Raibaud) continúa lo que podríamos denominar etapa moderna de la flora intestinal, dedicándose al estudio de la flora autóctona, lo cual permitió desarrollar el concepto de lo que se denomina "*gnotoxenia*" o ciencia que estudia las relaciones entre los animales y la flora microbiana que albergan.

Dubos y Schaedler (1964) consideraron el tubo digestivo y sus poblaciones microbianas, como un ecosistema altamente integrado en el que aparecen múltiples interrelaciones. Tan importantes son éstas, que toda modificación en uno u otro de sus componentes, es capaz de perturbar el equilibrio y el funcionamiento del ecosistema en su conjunto. El conocimiento de estos hechos, unido a los progresos de la terapéutica y a la aparición de

bacterias resistentes a los antibióticos, hicieron que la relación hospedador/bacteria adquiriera de nuevo especial interés (Ducluzeau y Raibaud, 1979).

En el organismo existe una flora microbiana de tipo indígena y otra compuesta por microorganismos que potencialmente pueden comportarse como patógenos. En términos fisiológicos se realiza una simbiosis entre el organismo superior y la flora microbiana indígena, el primero se comporta como hospedador suministrando a los microorganismos el ambiente para su crecimiento y estos últimos, como simbioses, ponen a disposición del hospedador su capacidad de síntesis (proteínas y vitaminas) y de ruptura celular (celulolisis). Sin embargo, cualquier alteración del ecosistema microbiano con pérdidas de microorganismos de tipo indígena, implica que microorganismos transeuntes, potencialmente patógenos puedan tomar posesión de los nichos que dejaron vacíos las bacterias indígenas (March, 1979).

Las acciones beneficiosas que desarrolla la flora en el intestino del hospedador como resistencia a las infecciones, han sido descritas por varios autores, denominándose fenómeno de antagonismo bacteriano (Freter, 1956), interferencia bacteriana (Dubos, 1963), efecto barrera (Ducluzeau *et al.*, 1970), resistencia a la colonización (van der Waaij *et al.*, 1971) y exclusión competitiva (Lloyd *et al.*, 1977). Estas interacciones representan la principal función de las bacterias indígenas, las cuales protegen al hospedador frente a la proliferación

de bacterias potencialmente patógenas. La mejor evidencia de este efecto protector de la flora intestinal, proviene de la observación de que los animales libres de gérmenes, son más susceptibles a las enfermedades que los animales normales con la flora intestinal completa. Por ejemplo, mientras el ratón libre de gérmenes muere con 10 UFC de *Salmonella enteritidis*, se requieren 10^6 UFC para producir la muerte de un ratón normal (Collins y Carter, 1978). En esta situación, el hecho más evidente es el cambio en la relación lactobacilos/colibacterias, netamente desviada a favor de los primeros en los animales sanos (15×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de contenido intestinal en íleon, colon y recto) y de los segundos ($2-3 \times 10^9$ UFC/g) en los animales con enteritis (Premi, 1974).

Del mismo modo, la población microbiana intestinal eubiótica permite que los alimentos se asimilen en condiciones óptimas, al tiempo que facilita el normal desarrollo del organismo. Por todo ello es preciso un mejor conocimiento de esa flora intestinal, de su comportamiento y lo que puede resultar más importante, de su posible manipulación.

II.1.1. Desarrollo de la microflora intestinal

Según Tissier (1900) el tracto gastrointestinal del feto es estéril, se encuentra en lo que se denomina estado axénico fisiológico. Sin embargo, la colonización microbiana es extremadamente precoz y rápida, de modo que a las 24-48 horas del nacimiento se alcanzan concentraciones de 10^9-10^{11}

microorganismos/gramo de heces, cifras cercanas a las observadas en el adulto, detectándose *Lactobacillus*, cocos gram-positivos, *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli*, apareciendo más tarde cocos gram-negativos y *Bacteroides* (Lejeune *et al.*, 1981; Kenworthy y Crabb, 1963; Savage, 1977).

El desarrollo de la microflora intestinal en las primeras etapas de la vida es análogo para las distintas especies animales (Smith y Crabb, 1961), siendo la flora láctica, la que primeramente coloniza el aparato digestivo del lechón (Premi, 1974), ternero (Smith, 1967) y pollo (Ochi *et al.*, 1964; Sarra *et al.*, 1992). Sin embargo, en el gazapo, Gouet y Fonty (1973) indican que el estómago e intestino delgado están libres de microorganismos durante la lactancia, contrastando con el ciego y colon que albergan una abundante flora a la semana de vida, pero con la ausencia de lactobacilos; también Tacconi *et al.* (1978), Penney *et al.* (1986) y Ducha *et al.* (1990) afirman que los lactobacilos normalmente no forman parte de la microflora intestinal del conejo y su presencia está estrechamente relacionada con una serie de factores externos al animal como puede ser el tipo de alimentación, detectándose lactobacilos en los conejos alimentados con cereales y forraje frente a su ausencia en los que recibían pienso granulado. Por el contrario, Straw (1988) y Yu y Tsen (1993) sí observaron lactobacilos en el contenido intestinal del conejo.

Del mismo modo, Schaedler (1973) observó en ratones cómo las primeras bacterias que se establecían en el intestino después del nacimiento, eran los

lactobacilos y estreptococos anaerobios, aumentando muy rápidamente hasta 10^9 UFC/g en el estómago y manteniéndose esta cifra durante toda la vida del animal. En el intestino delgado, estas mismas bacterias representaban el 1/10 de las presentes en el estómago. Sin embargo, en el intestino grueso la situación era más compleja, los lactobacilos y estreptococos anaerobios aparecían al segundo día y persistían durante toda la vida del ratón, los enterococos y coliformes se detectaban en heces hacia el décimo día y ascendían a 10^9 UFC/g hacia el duodécimo, para a partir del decimosexto disminuir drásticamente su número, siendo sustituidos por una población muy heterogénea de bacterias anaerobias estrictas. Hay que señalar que este cambio coincidía aproximadamente con el fin de la lactancia. McAllister *et al.* (1979) observan como las concentraciones de todos los grupos de bacterias disminuían después del destete (lactobacilos y clostridios principalmente).

Por otra parte, en estudios análogos llevados a cabo sobre evolución microbiana intestinal en cerdos, Smith (1965) y Muralidhara *et al.* (1977) detectaron lactobacilos en heces a las 4 horas del nacimiento, llegando a concentraciones de 10^4 UFC/g, a las 8h de vida aparecían coliformes con una población de 10^5 UFC/g y a las 24h ambas especies alcanzaban valores de 10^8 y 10^9 UFC/g respectivamente.

En los animales recién nacidos de mamíferos salvajes, a diferencia de los domésticos, la flora intestinal procede principalmente de la madre, por rutas

directas o indirectas y del ambiente (Tannock *et al.*, 1990; Pedersen *et al.*, 1992). Sin embargo, en explotaciones intensivas el destete excesivamente precoz a veces y la crianza artificial de los mamíferos pueden tener un efecto negativo, al impedir la total colonización microbiana, lo que conlleva a graves consecuencias ulteriores. En las aves, el pollo es un buen ejemplo de cómo se restringe o limita el acceso directo del animal a la madre, supuesto que el huevo se introduce de modo inmediato en la incubadora, y es a partir de este medio ambiente del que adquiere su flora intestinal.

II.1.2. Localización de la microflora intestinal

Distintas comunidades de microorganismos pueblan el lumen, el epitelio, o las criptas de Lieberkühn en cualquier parte del tracto gastrointestinal según las diferentes especies animales (Savage, 1977, 1983, 1989; Lee, 1985). Y algunos otros microorganismos se hallan en el epitelio columnar del intestino delgado (Koopman *et al.*, 1987).

El lumen puede colonizarse únicamente cuando la velocidad de paso de los alimentos no exceda del tiempo necesario para la multiplicación de los microorganismos. Por el contrario, la superficie epitelial es asiento de esa multiplicación, independientemente del flujo intestinal, ya que los gérmenes se adhieren a las estructuras del epitelio o bien se encuentran suspendidos en las secreciones producidas por las células epiteliales (Savage, 1979 y 1980). Así, la microflora de un determinado segmento del tracto digestivo puede ser

diferente según se considere la flora luminal o la flora epitelial, incluso la flora que coloniza ciertos nichos ecológicos, como por ejemplo las criptas de la mucosa (Savage, 1977).

La adhesión de las bacterias a la superficie intestinal parece proporcionar un buen sistema para las bacterias entéricas, resistiendo las adversas condiciones de un medio en movimiento. En el pollo, esta capacidad de los lactobacilos para establecerse y colonizar el buche, fue ampliamente estudiada por diferentes autores. Investigadores del Reino Unido demostraron mediante microscopía electrónica la existencia de una capa de lactobacilos aviares íntimamente asociada con las células del buche (Fuller y Turvey, 1971; Fuller, 1973; Brooker y Fuller, 1975) confirmando así, la observación previamente hecha por investigadores japoneses (Morishita *et al.*) en 1971. Más tarde, se observa como los lactobacilos no penetran más allá de la superficie epitelial (Fuller y Brooker, 1974, 1980), sin alterar la arquitectura de la mucosa (Savage, 1984). Otras observaciones hechas por autores americanos (Bayer *et al.*, 1975) confirman la presencia de bacterias en la pared del buche, revelando también una densa población microbiana asociada a la superficie en la región más cercana al esófago y un reducido número de bacterias en el área apical.

Estudios realizados también con microscopio electrónico, han permitido observar en diferentes tramos del tubo digestivo del ratón, poblaciones microbianas íntimamente unidas entre sí y al epitelio por medio de filamentos

(Savage y Blumershine, 1974). Según Mackowiak (1982), la adherencia a la mucosa intestinal se efectúa con la colaboración imprescindible de las denominadas *adhesinas*, estructuras antigénicas de superficie que se presentan habitualmente en forma de filamentos llamados *fimbriae*, capaces de unirse a receptores específicos de las membranas celulares. Sin embargo, para Ducluzeau y Raibaud (1979), en muchos casos, las bacterias aparecen simplemente suspendidas en el moco, e incluso no llegan a tener relación especial con la mucosa.

Por otra parte, los movimientos peristálticos representan uno de los factores más importantes en el control de la adherencia al epitelio y de la multiplicación bacteriana. En condiciones fisiológicas normales, la colonización intestinal es más importante donde existe período de éstasis prolongado (ciego), y más débil allí donde la motilidad es más activa (duodeno-yeyuno) (Donaldson, 1973). Podemos afirmar que entre peristaltismo y flora intestinal existe una relación recíproca, de manera que si bien el peristaltismo intestinal es uno de los factores que controla las poblaciones microbianas, éstas a su vez estimulan la motilidad intestinal. De este modo, es fácil comprender que en el animal axénico, la velocidad de tránsito esté disminuida en todos los tramos del tubo digestivo (Ducluzeau y Raibaud, 1979).

Como podemos observar, la colonización intestinal por los llamados microorganismos indígenas es un proceso complejo, afectado por múltiples

factores, que requiere profundas investigaciones sobre los mecanismos de adhesión y los determinantes genéticos (Lee, 1985). Pedersen y Tannock (1989) consideran la adhesión epitelial como el factor clave en el éxito de la colonización.

II.1.3. Microflora de los distintos tramos intestinales

Los alimentos, una vez ingeridos, recorren un largo camino desde el estómago al recto a través del duodeno, yeyuno e íleon, llegando al colon ascendente, transverso y descendente del intestino grueso. Para muchos microorganismos este largo recorrido constituye un ambiente hostil, donde factores diversos son capaces de evitar o destruir las bacterias indeseables. Entre estos factores se incluyen: el jugo gástrico, la bilis, los ácidos grasos, los ácidos orgánicos, la lisozima, los antibióticos y el propio peristaltismo intestinal.

De las diversas comunidades microbianas que colonizan el tracto gastrointestinal, unas son indígenas y habitantes permanentes de una determinada región, y otras por el contrario, son transitorias y han sido vehiculadas hasta el intestino por medio del alimento, yacija o cama de los animales, o bien a través de las propias heces en los coprófagos.

Las especies numéricamente predominantes en el tracto digestivo son bacterias anaerobias Gram-, si bien los gérmenes Gram+ alcanzan poblaciones importantes (Tannock, 1988).

II.1.3.1. Estómago

En el área gástrica, la mayoría de los microorganismos probablemente tengan carácter transitorio, si bien ciertas clases de gérmenes se consideran indígenas. Así, algunas especies de *Lactobacillus* llegan a alcanzar un alto nivel de población (10^9 UFC/g de mucosa), pudiendo observarse microscópicamente en el epitelio escamoso de las zonas no secretoras (*pars oesophagea*) del estómago del ratón (Savage, 1979, 1980), del cerdo (Fuller *et al.*, 1978; Tannock *et al.*, 1987) y del buche de los pollos (Fuller y Turvey, 1971). Levaduras del género *Torulopsis* se han aislado del epitelio de las porciones secretoras del estómago de los roedores, mientras que especies de *Candida* se encuentran en el estómago del cerdo (Savage, 1969). En síntesis, puede indicarse que la microflora gástrica de numerosas especies de animales monogástricos está compuesta principalmente por levaduras y gérmenes Gram+.

II.1.3.2. Intestino delgado

Del mismo modo que en el estómago, la mayor parte de las bacterias presentes en el intestino delgado son transitorias, especialmente en los dos tercios anteriores donde el peristaltismo es más rápido que la velocidad de multiplicación microbiana (Savage, 1977).

Para la mayoría de los autores (Dickman *et al.*, 1975; Girard-Papau *et al.*, 1981) el número de bacterias en duodeno y yeyuno no excede, normalmente, de

10^4 a 10^5 UFC/g de contenido intestinal, con predominio de las especies aerobias-anaerobias facultativas, predominantemente estreptococos.

La flora bacteriana del íleon es más abundante, 10^5 - 10^8 UFC/g de contenido intestinal, existiendo predominio de las especies anaerobias estrictas, principalmente *Bacteroides*, identificándose de modo habitual, estreptococos y enterobacterias (Bjorneklett y Midtvedt, 1981). Es probable que los microorganismos que aparecen adheridos al epitelio del íleon distal sean endógenos. Por el contrario, los que se hallan en el lumen intestinal son fundamentalmente transitorios, procediendo tanto de los tramos proximales del intestino delgado como del intestino grueso, una vez que salvan la válvula ileocecal (Gorbach, 1971). Hay que tener muy en cuenta que las cifras observadas por aspiración luminal son infravaloradas si se comparan con las obtenidas por biopsia de la mucosa (Bhat *et al.*, 1980).

II.1.3.3. Intestino grueso

El paso de la válvula ileocecal, frontera entre intestino delgado y grueso, va acompañado de un cambio brusco en la importancia y en la composición de la flora, en la que predominan las especies anaerobias estrictas. En general, se observan diferencias cuantitativas y cualitativas en función de la localización de la muestra extraída, especialmente cecal o cólica.

El ciego y colon del cerdo (Allison *et al.*, 1979; Russell, 1979), de los roedores (Savage, 1977) y los ciegos de los pollos (Salanitro *et al.*, 1974, 1978) contienen elevadas cantidades de microorganismos ($>10^{11}$ UFC/g). Estas poblaciones están compuestas fundamentalmente por bacterias Gram+ y Gram-, predominando estas últimas en el ciego.

La flora fecal viene a ser reflejo, si bien muy imperfecto, de la flora cólica en los mamíferos y de la cecocólica en las aves (Leclerc y Moriamez, 1980). Según Ducluzeau *et al.* (1984), el perfil bacteriano normal de la flora fecal en mamíferos, está constituido por anaerobios estrictos, anaerobios facultativos y levaduras. Los anaerobios estrictos están representados fundamentalmente por *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Endosporus*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Plectridium* y *Clostridium*, alcanzando concentraciones de 10^9 - 10^{11} UFC/g de heces. Algunas especies como *Clostridium perfringens* se presenta en gran número en carnívoros, no siendo tan usual en animales que consumen dietas a base de cereales. Dentro de los gérmenes anaerobios facultativos, las enterobacterias se sitúan en 10^7 UFC/g de heces, mientras que estreptococos y lactobacilos se establecen en una proporción de 10^6 UFC/g. Las levaduras presentan una concentración de 10^4 UFC/g.

Como hemos expuesto, la flora que coloniza el estómago o el buche es muy distinta de la localizada en la parte final del intestino delgado o del intestino

grueso. No obstante, puede indicarse que en términos cuantitativos existe, en general, una graduación creciente en el sentido oral-anal.

II.2. BACTERIAS PRODUCTORAS DE ACIDO LACTICO

A pesar de la importancia de estas bacterias, los datos referidos al número de BAL que existen en el tracto digestivo no son constantes y varían extraordinariamente de unos autores a otros. Sin embargo, todos los investigadores coinciden en señalar que los lactobacilos no ocupan desde el punto de vista cuantitativo, un lugar prioritario en el conjunto de la flora, lo que sugiere que su actividad es independiente de su valor cuantitativo.

II.2.1. Descripción microbiológica

Los gérmenes del género *Lactobacillus* son bacterias con forma de varillas rectas o curvas, de 0,6-0,9x1,5-6µm, que se presentan aisladas, por parejas o en cadenas cortas. Inmóviles y aflagelados. Gram+. Anaerobios o anaerobios facultativos. Homofermentativos. Metabolizan los carbohidratos dando como producto final ácido láctico. Crecen en superficie sobre medio sólido, favoreciéndose su crecimiento en anaerobiosis al 5-10% de CO₂. El intervalo de temperatura y de pH óptimo de crecimiento se sitúa entre 35-38°C y 5,5-5,8 respectivamente. Los lactobacilos tienen unas necesidades nutritivas complejas para su crecimiento: carbohidratos, nucleótidos, aminoácidos y vitaminas (Kandler y Weiss, 1992).

Las bacterias del género *Streptococcus*, por el contrario, son microorganismos con forma esférica u ovoide, de 0,5-1,0µm, que se disponen principalmente en parejas y ocasionalmente formando cadenas cortas. Gram+. Anaerobios facultativos. Homofermentativos. Metabolizan la glucosa y el producto final predominante es el ácido láctico. Crecen a una temperatura y pH óptimos de 37°C y 9,6 respectivamente. Poseen unas necesidades nutritivas para el crecimiento que varían ampliamente entre especies: aminoácidos, péptidos, purinas, pirimidinas y vitaminas (Hardie, 1992).

II.2.2. Mecanismos de acción de las BAL

Supuesto que estas bacterias ejercen múltiples efectos beneficiosos en el organismo, es fácil comprender que su mecanismo de acción se establezca por vías muy distintas y a veces poco conocidas. Según Fuller (1989), dichos efectos pueden ser debidos a una acción antagónica frente a grupos de microorganismos específicos, a un efecto sobre su metabolismo o a un estímulo de la inmunidad.

II.2.2.1. Disminución del número de microorganismos

Grossowicks *et al.* (1947) demostraron que las BAL reducían el crecimiento de gérmenes indeseables en el tracto intestinal. Este efecto sería consecuencia de la producción de compuestos antibacterianos, de la acidez intestinal originada o del antagonismo competitivo.

A) Producción de compuestos antibacterianos

Diversos autores han comprobado la reducción del número de gérmenes patógenos por las BAL mediante la producción de compuestos antibacterianos, los cuales han sido denominados de muy diversa forma por distintos investigadores: Lactobacillin (Wheater *et al.*, 1951), Lactolin (Kodama, 1952), Lactocidin (Vincent *et al.*, 1959), Lactobrevin (Kavasnikov y Sudentko, 1967), Acidolin (Mikolajcik y Hamdan, 1975) y Acidophilin (Shahani *et al.*, 1976).

Las BAL pueden también producir sustancias que neutralicen los efectos adversos de un microorganismo al modificar su metabolismo, sin necesidad de destruirlo, pero sí disminuyendo su población. Por ejemplo, cambios en la actividad enzimática como veremos más adelante, no asociados con cambios en la composición de la flora intestinal.

B) Productos finales de la fermentación y acidez intestinal

Las BAL poseen gran capacidad fermentativa, produciendo cantidades significativas de ácidos orgánicos (ácido acético, fórmico y láctico) a partir de carbohidratos simples, lo cual determina un aumento de la acidez intestinal que limita el crecimiento especialmente de los gérmenes patógenos Gram- (Ten Brink *et al.*, 1987). Fuller (1977) demostró que puede detenerse el crecimiento del *E. coli* ajustando el pH de un medio de cultivo a 4,5 mediante la adición de ácido láctico o clorhídrico. Años más tarde, este mismo autor (Fuller *et al.*, 1981) administrando yogur (leche fermentada por *L. bulgaricus* y *Str. thermophilus*) a

lechones destetados, observó cómo descendía el recuento de *E. coli* en estómago y duodeno, afirmando que el efecto originado por el yogurth podía ser reproducido por leche acidificada con ácido láctico a un pH de 4,2.

C) Antagonismo competitivo

La importancia de la microflora indígena en el intestino como factor de resistencia natural frente a microorganismos potencialmente patógenos, fue reconocida a finales del siglo XIX por Metchnikoff (Bibel, 1988). Esta microflora indígena bien establecida es muy estable. La penetración y colonización de microorganismos no indígenas o del medio y/o de otras especies animales es impedida por las BAL, las cuales compiten con otras bacterias en la colonización de zonas intestinales y en la utilización de sustancias nutritivas.

La competencia directa de los gérmenes bacterianos por los lugares de adherencia en la superficie epitelial del intestino, es un factor importante en la reducción de los microorganismos al inducir la exclusión de gérmenes patógenos (Schleifer, 1985; Schneitz *et al.*, 1993). Si los receptores de la superficie epitelial están saturados, la colonización intestinal de los microorganismos será inviable. van der Waaij *et al.* (1971) denominó este fenómeno *resistencia a la colonización* y Lloyd *et al.* (1977) le dió el nombre de *exclusión competitiva*. Sin embargo, en algunas ocasiones, microorganismos potencialmente patógenos son capaces de penetrar y/o colonizar el intestino, debido al masivo ataque de agentes patógenos o a una reducción temporal de dicha resistencia a la colonización.

Este antagonismo ejercido por los microorganismos de la flora frente a especies patógenas, es una de las funciones más importantes. Esta acción fue demostrada por Waksman en 1945. Más tarde, Freter (1962) y Raibaud *et al.* (1977), comprobaron la existencia de un verdadero efecto barrera microbiana en el tracto digestivo, interviniendo activamente esta barrera en la implantación y proliferación de gérmenes exógenos. Los resultados experimentales observados por Tancrede y Raibaud en 1978, permiten esquemáticamente distinguir dos tipos de efecto barrera: efecto drástico, que conduce a la eliminación total de la cepa exógena y efecto permisivo, que si bien permite o posibilita al germen su implantación, limita el tamaño de su población.

Para establecerse en el intestino, los microorganismos necesitan poder utilizar los nutrientes disponibles. El contenido intestinal es una rica fuente de nutrientes para el crecimiento microbiano, pero la deficiencia en alguno de ellos hace que su crecimiento se vea afectado. Así las BAL requieren vitaminas, que en ocasiones se hallan en cantidades muy pequeñas, pudiendo influir negativamente en su proliferación. En este sentido, en opinión de Wilson y Perini (1988) la competencia de los gérmenes deseables e indeseables por carbohidratos específicos, es parcialmente responsable de la eliminación de *Clostridium* en el ciego del ratón.

II.2.2.2. Alteración del metabolismo microbiano

La actividad microbiana en el intestino puede ser estudiada bioquímicamente mediante pruebas de la actividad enzimática o valoración de la concentración de productos finales microbianos. En este sentido, se han investigado enzimas implicadas en la producción de carcinógenos activos, a partir de precarcinógenos inócuos presentes en el pienso.

Las BAL pueden alterar el metabolismo microbiano, modificando la actividad enzimática en el medio. Goldin y Gorbach en 1984, comprobaron cómo algunas especies de *Lactobacillus* reducían la actividad de β -glucuronidasa, nitroreductasa y azoreductasa, sin embargo, a los 30 días de finalizar la administración de lactobacilos, la actividad enzimática aumentaba hasta los niveles previos a la suplementación. Una reducción similar de β -glucuronidasa se observó en pollos (Cole *et al.*, 1984) y en cerdos (Cole *et al.*, 1987) a los que se les administró yogur. Asimismo, algunas BAL poseen β -galactosidasa, capaz de degradar metabólicamente los galactósidos de las habas y otras leguminosas, aumentando así su valor nutritivo especialmente en pollos, por carecer de dicha enzima.

II.2.2.3. Estimulación de la respuesta inmunitaria

El tracto gastrointestinal es un importante órgano para la defensa del hospedador frente a microorganismos potencialmente patógenos. La microflora intestinal ejerce una profunda influencia en el estado inmunológico del animal

hospedador. Según Bealmear *et al.* (1984) la actividad fagocitaria y los niveles de β -globulinas en suero son superiores en los animales con una flora intestinal completa frente a los animales libres de gérmenes. Ma *et al.* (1990) demostraron en ratones que los lactobacilos, en particular el *L. casei*, estimula la actividad fagocitaria, afirmación que está avalada por otros autores: Saito *et al.*, 1981; Bloksma *et al.*, 1981; Kato *et al.*, 1983; Perdigón *et al.*, 1986.

Este efecto estimulante de la inmunidad ha servido para que algunos investigadores (Reddy *et al.*, 1983; Friend y Shahan, 1984) hayan apuntado la posible utilización de los lactobacilos en la prevención de tumores. Tanto Fuller (1989) como Perdigón *et al.* (1991) citan al equipo de Bogdanov (1962) como los primeros investigadores que observaron efectos positivos sobre el desarrollo tumoral al administrar *L. bulgaricus*.

Hasta ahora era desconocido el mecanismo de este fenómeno, Havenaar y Huis (1992) lo describen de la siguiente forma: las BAL o sus productos finales de fermentación inducen cambios en la microflora intestinal y sucesivamente en la respuesta inmunitaria. Esto sugiere que las BAL no solamente poseen la facultad de mantener el equilibrio de la flora intestinal sino que también pueden indirectamente influir en procesos patológicos (¿infecciones y tumores?) de tejidos alejados del tracto digestivo (Drasar y Hill, 1972; Gorbach y Goldin, 1990).

II.3. BACTERIAS ACIDO-LACTICAS Y PRODUCCION ANIMAL

II.3.1. Principales efectos de las BAL

En una primera etapa, los investigadores pretendían con la administración de BAL simplemente reducir diarreas y mortalidad, justificándose la mayor ganancia de peso en función de esta acción preventiva (Sandine *et al.*, 1972).

Los beneficios potenciales derivados del empleo de gérmenes de los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus*, desde el punto de vista nutritivo y sanitario han sido estudiados por numerosos autores (Pollman *et al.*, 1980a; Kinsey, 1981; Fuller, 1989; Sissons, 1989; Tannock, 1989, 1992). En la actualidad, el empleo de BAL está orientado en un triple sentido: 1) estimulantes del crecimiento y mejoradores de la transformación de los alimentos en productos ganaderos, 2) control del desequilibrio intestinal en animales jóvenes, mediante el desarrollo de la microflora indígena y la resistencia a la colonización en el intestino y 3) predigestión de factores antinutritivos (Havenaar y Huis, 1992).

II.3.1.1. Estimulantes del crecimiento y de la eficiencia nutritiva

Mollgaard en 1946 demostró que la suplementación de la ración con cultivos de lactobacilos daba lugar a mayores concentraciones de ácido láctico en su intestino, favoreciendo así la absorción del calcio y una mayor ganancia de peso. De este modo, las BAL se han empleado en producción animal como promotores del crecimiento, sustituyendo a los antibióticos y suplementos

químico-sintéticos, debido a los inconvenientes que acompañan a estos productos, como ya hemos indicado anteriormente.

II.3.1.2. Prevención de trastornos digestivos

Elías Metchnikoff (1908) en su libro "*La prolongación de la vida*" recomendó el uso de productos lácteos fermentados que contuvieran *L. bulgaricus*, capaces de vivir, crecer y producir efectos favorables en el tracto digestivo. Posteriormente Rahe (1915) demostró que los microorganismos utilizados por Metchnikoff eran cepas de *L. acidophilus*, cuyo valor terapéutico fue estudiado en más profundidad por Retger y Cheplin (1921) y Kopeloff (1926).

Durante los períodos de baja resistencia (estrés) las bacterias indeseables proliferan en el intestino haciendo difícil el mantenimiento del balance intestinal, provocando alteraciones en la fisiología gastrointestinal. Así, tras numerosas investigaciones se llegó a la conclusión de que ciertos microorganismos, particularmente las BAL ayudaban a mantener un perfil microbiano favorable en el intestino, al reducir la flora colibacilar. De este modo, si se introducen en el tracto intestinal suficientes BAL en un momento de estrés, enfermedad (cuando en el balance de la flora intestinal predominan los gérmenes patógenos), al nacimiento o después de un tratamiento con antibióticos (cuando están presentes un número mínimo de BAL) la alteración del microbismo intestinal puede ser minimizado o corregido (Gall, 1970; Piva *et al.*, 1979).

La reducción de los cuadros de enteritis es interesante en todas las especies, si bien en los lechones cobra un particular interés, al ser la colibacilosis una de las enfermedades que más preocupa en las explotaciones. Chopra *et al.* (1963) y Porter y Kenworthy (1969), reconocieron como agente causal de la alta mortalidad de los lechones en la etapa post-destete, a cepas de *E. coli* que originaban un fuerte desequilibrio en la relación lactobacilos/coliformes, motivando un incremento en su actividad metabólica, que convertía proteínas en aminas, las cuales irritantes y tóxicas aumentaban el peristaltismo intestinal y desencadenaban procesos diarreicos. En este sentido, Hill *et al.* (1970) comprobaron que tras la administración de BAL se reducían las aminas fecales y la incidencia de diarrea al inhibir el crecimiento de *E. coli*. Perdigon *et al.* (1991) admitieron que el *L. casei* ($1,2 \times 10^9$ UFC/animal/día) tenía efectos protectores frente a *E. coli*, al incrementar el nivel de secreción de IgA en el lumen intestinal, asimismo se observó un mayor efecto inhibitor frente a coliformes por parte del *Str. faecium* C68 que del *L. acidophilus*.

Este efecto se manifiesta cuando a criterio de Fuller (1973,1975) la dosificación es superior o igual a 10^7 UFC/ave, considerando una mayor eficacia cuando el tratamiento es profiláctico que cuando es terapéutico.

Múltiples estudios realizados entre otros, por Sandine *et al.* (1972), Sheck (1976), Shahani y Ayebo (1980) y Sarra *et al.* (1991) ponen de manifiesto que

la adición de *L. acidophilus* en el pienso o en el agua de bebida de los animales jóvenes modifica su microflora intestinal.

De ello se deduce la necesidad de administrar BAL en los primeros días de vida del animal, como medida profiláctica eficaz. En el período inmediato al destete, el cambio de alimentación y el estrés determinan una reducción en el número de lactobacilos, unido a un incremento de *E. coli*, factores ambos que predisponen la aparición de procesos gastroentéricos (McAllister *et al.*, 1979).

En todos estos casos es preciso tener en cuenta el efecto transitorio post-tratamiento, demostrado por Cole y Fuller (1984). En este sentido, Pedersen y Tannock (1989) advierten que los lactobacilos administrados, se mantienen en cantidades dominantes hasta 2 días después de su administración, a partir de cuyo momento decrece el número y el efecto en todos los tramos intestinales.

II.3.1.3. Inhibición del efecto negativo de factores antinutritivos de los alimentos

Algunas cepas de BAL predigieren factores antinutritivos como ácido fítico, glucosinolatos, inhibidores trípsicos, lectinas y polisacáridos no amiláceos (fibra dietética).

II.3.2. Características que deben reunir los microorganismos utilizables en producción animal

Según Havenaar y Huis (1992), para que un concentrado de BAL pueda ser utilizado en producción animal, es imprescindible que reúna una serie de características:

- a) Supervivencia en condiciones ambientales muy diversas.
- b) Proliferación y/o colonización del *locus* intestinal, donde han de ser activos
- c) Ausencia de reacción inmunitaria del organismo frente a la cepa utilizada.
- d) Las cepas de BAL no deben provocar reacciones patógenas, tóxicas, alérgicas, mutagénicas o carcinogénicas.
- e) Genéticamente estable.
- f) Fácil reproducción.
- g) Viabilidad estable durante largos períodos de tiempo de almacenamiento y a nivel de explotación.

Las BAL para su implantación en el tracto gastrointestinal deberán salvar ciertas barreras limitantes de su supervivencia. Bottazzi *et al.* (1981), Gilliland (1984) y más tarde Chateau *et al.* (1994) estudiaron la resistencia de algunas BAL a la acidez gástrica, lisozima, aniones y cationes, sales biliares, enzimas pancreáticas y a los antibióticos que puedan ser utilizados como agentes terapéuticos o como promotores del crecimiento, afirmando que en general, el *Str. faecium* era más resistente que el *L. acidophilus*. Asimismo, Bottazzi *et al.*

(1981) hizo hincapié en que la velocidad de crecimiento de las BAL elegidas constituye un importante elemento de valoración, si se considera que los microorganismos administrados deben reproducirse en el tracto digestivo de los animales. Esta consideración es válida en modo especial para los pollos y lechones, en los cuales el tiempo de permanencia del alimento en el tracto intestinal es breve.

Existe un factor también muy importante en la supervivencia de las BAL en el intestino, como es el relacionado con los contenidos en iodo y cobre del pienso (corrector adicionado). Si bien los datos disponibles en la bibliografía son escasos, algunas observaciones parecen indicar que algunas cepas de estreptococos y lactobacilos son las más resistentes a las concentraciones normales de iodo y cobre en el pienso.

Por otra parte, la implantación o adherencia a las células epiteliales del intestino es un factor de especial importancia para que la acción de un concentrado de BAL sea eficaz. Así, según Savage y Dubos (1968), la habilidad de los microorganismos para colonizar una superficie epitelial puede ser determinada más por condiciones nutritivas y ambientales que por la capacidad de adhesión a una particular superficie epitelial. Barrow *et al.* (1980) estudiaron la especificidad del fenómeno de la implantación, observando cómo algunas cepas de *Lactobacillus* aisladas de cerdos se adherían a células gástricas de la misma especie, mientras que con pocas excepciones, otras cepas de

Lactobacillus procedentes de aves y mamíferos no se implantan. La adhesión de las BAL a las células epiteliales es probablemente un proceso de múltiples factores, desde la fase inicial de atracción, a la formación de fibrillas y microcápsulas (Fuller y Brooker, 1980). Parece que la adhesión no es solamente un mecanismo de enlace entre las células epiteliales y las bacterias, sino un activo proceso que probablemente provoca una respuesta metabólica en ambos (Hoepelman y Tuomannen, 1992).

Según Fuller (1992) el concentrado de BAL perfecto sería el integrado por microorganismos que se establecieran permanentemente en el intestino después de una dosis única o de varias dosis. En este momento, como consecuencia del efecto transitorio que ya hemos mencionado, para asegurar una máxima efectividad, es preciso administrar las BAL continúa o semicontínuamente a intervalos que dependerán del tipo de BAL, especie animal, alimentación y entorno ambiental.

II.4. OBJETIVOS

De acuerdo con el estudio bibliográfico realizado y las hipótesis de trabajo que el mismo sugiere, se ha realizado la parte experimental de nuestro estudio, cuyos tres objetivos fundamentales han sido:

1. Determinar los efectos de la administración de diversas bacterias productoras de ácido láctico (*L. casei*, *L. acidophilus*, *Str. faecium* C68 y CL15 y *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*) susceptibles de ser utilizadas en producción animal, para mejorar el crecimiento y la eficiencia nutritiva en pollos, gazapos y lechones.

2. Analizar los cambios que experimentan las principales agrupaciones bacterianas consideradas como representativas de la flora intestinal.

3. Contribuir como base a la industria ganadera en la obtención de aditivos de carácter biológico.

III. MATERIAL Y METODOS

III. MATERIAL Y METODOS

Los experimentos llevados a cabo en las tres especies animales en las que centramos nuestro trabajo: pollos, gazapos y lechones, se han realizado en el Instituto de Alimentación Animal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y los análisis microbiológicos de heces y contenido intestinal se efectuaron en el Departamento de Calidad y Contrastación del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias.

III.1. DESCRIPCION Y PROCEDENCIA DE LAS BACTERIAS UTILIZADAS

Las BAL utilizadas en las distintas pruebas experimentales fueron las siguientes:

1. *Lactobacillus casei*

Procedencia: Instituto Llorente

Concentración: 53×10^8 UFC/ml

2. *Lactobacillus acidophilus*

Procedencia: Instituto Llorente

Concentración: 45×10^8 UFC/ml

3. *Lactobacillus acidophilus*

Procedencia: Aislado a partir de mucosa de colon de cerdo e identificado en el Instituto Llorente.

Concentración: 1×10^9 UFC/ml

4. *Streptococcus faecium* cepa Cernelle 68 (SF68)

Procedencia: Bioferment, Lugano (Suiza)

Concentración: 150×10^9 UFC/g

5. *Streptococcus faecium* cepa CL15 (SF15) en medio láctico deshidratado

Procedencia: Laboratorios Fatro (Italia)

Concentración: 5×10^9 UFC/g

6. Mezcla de *Streptococcus faecium* (80%), *Lactobacillus helveticus* (12%),
Lactobacillus casei (5%) y *Lactobacillus acidophilus* (3%)

Procedencia: Industrias BEL (Francia)

Concentración: 75×10^7 UFC/g

III.2. ANIMALES, ALOJAMIENTO Y MANEJO

Pollos. Se han utilizado un total de 375 pollos, tipo broiler, sexados machos, de estirpe Cobb, de 1 y 28 días de edad. Se instalaron en baterías provistas de resistencias eléctricas como sistema de calefacción, las cuales disponían de comederos y bebederos para el libre acceso del animal durante las 24 horas diarias de iluminación. Por otro lado, la temperatura de la sala de experimentación se reguló a 37-32-29 y 22°C desde la primera a la cuarta semana, respectivamente, manteniéndose en $22 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta la octava semana.

Gazapos. Se han empleado 240 gazapos, machos y hembras, de raza Neozelandesa, de 3 y 4 semanas de edad. Una vez destetados, se dispusieron en jaulas colectivas con suelo de rejilla y provistas de comederos y bebederos.

En todos los experimentos, la temperatura en el interior de la sala de experimentación fue de $20\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Lechones. Se utilizaron 126 lechones, machos y hembras, de raza Large-White y con edades de 3, 4 y 5 semanas. Los recién destetados se alojaron en jaulas individuales, provistas de suelo de rejilla, tolvas de alimentación y bebederos automáticos. La temperatura se mantuvo entre 26 y 28°C al inicio del experimento, descendiendo progresivamente hasta $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ en la 5ª semana.

El resto de las condiciones ambientales fueron las consideradas normales para el crecimiento de cada especie animal.

En las distintas pruebas experimentales los alimentos y el agua de bebida estuvieron siempre a libre disposición de los animales, utilizándose agua desionizada en los experimentos en los que las BAL se administraban por esta vía (1 y 2 de pollos), con objeto de evitar la acción bactericida del cloro sobre estos microorganismos.

Asimismo, en todos los experimentos, se procedió a un control individual del peso de los animales al comenzar y finalizar las pruebas, y en aquellas que así lo exigieron (1 y 2 de pollos) este control se hizo semanalmente. Para los mismos períodos se registró el pienso consumido y se determinó el índice de transformación del alimento.

En todos y cada uno de los experimentos realizados no se apreciaron síntomas de patología específica o inespecífica, ni recibieron los animales medicación alguna antes o durante los experimentos.

III.3. ALIMENTACION

En la formulación de las raciones se tuvieron en cuenta las necesidades establecidas para los distintos nutrientes, según las recomendaciones del NRC (1984). Las materias primas utilizadas en la elaboración de los piensos tenían una procedencia común, siendo su calidad uniforme.

Pollos. En las pruebas experimentales realizadas con pollos, la composición de las raciones de iniciación (experimentos 1P y 2P) y acabado (experimentos 3P y 4P), se especifica en las Tablas 1 y 2 respectivamente. Todas las raciones se administraron en forma de harina.

Gazapos. Se destetaron el mismo día de iniciarse las pruebas experimentales. La composición de la ración basal se especifica en la Tabla 3. En este caso los piensos se administraron en forma de gránulo.

Lechones. En todos los experimentos permanecieron amamantados por la madre hasta el momento en el que comenzaron las investigaciones. En todas y cada una de las pruebas se administró la ración que se muestra en la Tabla 4, siendo su presentación en forma de harina.

TABLA 1

**COMPOSICION DE LA RACION
ADMINISTRADA A POLLOS DE 0-4 SEMANAS DE EDAD
(Experimentos 1P y 2P)**

<i>INGREDIENTES</i>	<i>%</i>
Harina de maíz	57,15
Harina de soja (PB 44%)	33,00
Manteca de cerdo	4,00
Harina de carne (PB 50%)	4,00
Fosfato bicálcico	1,00
Carbonato cálcico	0,20
Cloruro sódico	0,30
DL-Metionina	0,15
Corrector ¹	0,20
 <i>ANALISIS CALCULADO</i>	
E. metabolizable (kcal/kg)	3.057
Proteína bruta (%)	21,09
Calcio (%)	0,81
Fósforo disponible (%)	0,49
Lisina (%)	1,16
Metionina + Cistina (%)	0,83

¹ Cantidad aportada por kg de pienso: 8.000 UI vit. A; 1.200 UI vit. D₃; 2 mg vit. K; 10 mg vit. E; 6 mg riboflavina; 30 mg niacina; 12 mg pantotenato cálcico; 4 mg piridoxina; 1 mg ácido fólico; 0,01 mg vit. B₁₂; 250 mg cloruro de colina; 70 mg Mn; 40 mg Zn; 26 mg Fe; 0,5 mg I; 4 mg Cu; 0,1 mg Se.

TABLA 2

**COMPOSICION DE LA RACION
ADMINISTRADA A POLLOS DE 4-8 SEMANAS DE EDAD
(Experimentos 3P y 4P)**

<i>INGREDIENTES</i>	<i>%</i>
Harina de maíz	59,65
Harina de soja (PB 44%)	29,00
Manteca de cerdo	5,00
Harina de carne (PB 50%)	4,00
Harina de alfalfa (PB 15%)	1,00
Fosfato bicálcico	0,52
Carbonato cálcico	0,19
Cloruro sódico	0,25
DL-Metionina	0,14
Corrector ¹	0,25
 <i>ANALISIS CALCULADO</i>	
E. metabolizable (kcal/kg)	3.140
Proteína bruta (%)	19,70
Calcio (%)	0,68
Fósforo disponible (%)	0,41
Lisina (%)	1,08
Metionina + Cistina (%)	0,77

¹ La cantidad aportada de corrector por kg de pienso es la indicada en la Tabla 1.

TABLA 3

**COMPOSICION DE LA RACION
EN LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS EN GAZAPOS**

<i>INGREDIENTES</i>	<i>%</i>
Harina de cebada	32,30
Harina de alfalfa	25,00
Harina de soja (PB 44%)	23,00
Salvado	10,00
Harina de maíz	7,00
Fosfato bicálcico	1,00
Carbonato cálcico	1,00
Cloruro sódico	0,50
Corrector ¹	0,20
 <i>ANALISIS CALCULADO</i>	
E. metabolizable (kcal/kg)	2.025
Proteína bruta (%)	19,16
Calcio (%)	1,12
Fósforo disponible (%)	0,37
Lisina (%)	0,90
Metionina + Cistina (%)	0,62

¹ Cantidad aportada por kg de pienso: 8.000 UI vit. A; 1.200 UI vit. D₃; 2 mg vit. K; 10 mg vit. E; 4 mg riboflavina; 30 mg niacina; 10 mg ácido pantoténico; 4 mg piridoxina; 1 mg ácido fólico; 0,02 mg vit. B₁₂; 200 mg cloruro de colina; 35 mg Mn; 30 mg Zn; 20 mg Fe; 0,5 mg I; 4 mg Cu; 0,16 mg Se.

TABLA 4

**COMPOSICION DE LA RACION
EN LOS EXPERIMENTOS REALIZADOS EN LECHONES**

<i>INGREDIENTES</i>	<i>%</i>
Harina de maíz	40,00
Harina de cebada	29,00
Harina de soja (PB 44%)	24,00
Leche en polvo	4,00
Fosfato bicálcico	1,85
Carbonato cálcico	0,60
Cloruro sódico	0,30
Corrector ¹	0,25
 <i>ANALISIS CALCULADO</i>	
E. metabolizable (kcal/kg)	2.843
Proteína bruta (%)	18,00
Calcio (%)	0,88
Fósforo disponible (%)	0,49
Lisina (%)	0,95
Metionina + Cistina (%)	0,65

¹ Cantidad aportada por kg de pienso: 8.000 UI vit. A; 1.200 UI vit. D₃; 2 mg vit. K; 10 mg vit. E; 6 mg riboflavina; 30 mg niacina; 12 mg pantotenato cálcico; 4 mg piridoxina; 1 mg ácido fólico; 0,01 mg vit. B₁₂; 250 mg cloruro de colina; 70 mg Mn; 40 mg Zn; 26 mg Fe; 0,5 mg I; 4 mg Cu; 0,1 mg Se.

III.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Las distintas pruebas experimentales se diseñaron siguiendo el modelo de bloques al azar, con cinco, cuatro y tres repeticiones en los experimentos con pollos, gazapos y lechones, respectivamente.

III.4.1. Pollos

El esquema del planteamiento y metodología de las investigaciones realizadas en pollos se recoge en la Tabla 5.

*** Experimento 1P**

Finalidad. Determinar la influencia de la administración de *L. casei*, *L. acidophilus* y *Str. faecium* C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora ileocecal en pollos de 0-3 semanas de edad.

Animales. 100 pollos sexados machos, de 1 día de vida, se distribuyeron en cuatro tratamientos (T, LC, LA y SF68) de 25 animales cada uno. El peso medio de las aves al iniciarse la prueba fue de 42,2 g, con una diferencia máxima de 0,8 g entre la media de los grupos.

Tratamientos. El grupo T considerado testigo no recibió BAL. La administración de los microorganismos se hizo diariamente en el agua de bebida, según la siguiente dosificación y de acuerdo con los distintos grupos:

TABLA 5

ESQUEMA DEL PLANTEAMIENTO Y METODOLOGIA DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN POLLOS

EXPERIMENTOS	1P	2P	3P	4P
OBJETIVOS	Crecimiento		Eficiencia nutritiva	Flora intestinal
EDAD Y PESO INICIAL	1 día - 42,2 g	1 día - 48,3 g	28 días - 1.255 g	28 días - 1.220 g
TRATAMIENTOS Nº de animales Nº de repeticiones	T - LC - LA - SF68 100 - 25/grupo 5 repeticiones	T-SF68 _A -SF68 _P -SF15 _A -SF15 _P 125 - 25/grupo 5 repeticiones	T - SF68 - SF15 75 - 25/grupo 5 repeticiones	T - SF15 - S+L 75 - 25/grupo 5 repeticiones
BAL Dosificación Vía administración	<i>L. casei</i> (LC) 1x10 ⁹ UFC/ave/día Agua de bebida <i>L. acidophilus</i> (LA) 1x10 ⁹ UFC/ave/día Agua de bebida <i>Str. faecium</i> C68 (SF68) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Agua de bebida	<i>Str. faecium</i> C68 (SF68 _A) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Agua de bebida <i>Str. faecium</i> C68 (SF68 _P) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso <i>Str. faecium</i> CL15 (SF15 _A) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Agua de bebida <i>Str. faecium</i> CL15 (SF15 _P) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso	<i>Str. faecium</i> C68 (SF68) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso <i>Str. faecium</i> CL15 (SF15) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso	<i>Str. faecium</i> CL15 (SF15) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso <i>Str. faecium</i> + <i>L. helveticus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i> (S+L) 13x10 ⁸ UFC/ave/día Pienso
PERIODO EXPERIMENTAL	0-3 semanas	0-4 semanas	4-8 semanas	4-8 semanas
RECOGIDA DE MUESTRAS ANALISIS MICROBIOLÓGICO	Ileon Ciegos	Ileon Ciegos	Ileon Ciegos	Ileon Ciegos

-Grupo LC: *L. casei*

Dosificación: 1×10^9 UFC/ave/día

-Grupo LA: *L. acidophilus*

Dosificación: 1×10^9 UFC/ave/día

-Grupo SF68: *Str. faecium* C68

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

*** Experimento 2P**

Finalidad. Comprobar los efectos de dos cepas de *Str. faecium* (C68 y CL15), sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora ileocecal en pollos de 0-4 semanas de edad.

Animales. 125 pollos de 1 día, distribuidos en cinco tratamientos (T, SF68_A, SF68_P, SF15_A y SF15_P) integrados por 25 animales cada uno, con un peso medio por pollo de 48,3 g y una diferencia máxima entre la media de los grupos de 0,9 g.

Tratamientos. Los animales del grupo T quedaron como testigos, mientras que a los integrantes de los grupos SF68 y SF15 se les administró diariamente en el agua de bebida o en el pienso, los microorganismos y dosis que se indican seguidamente:

-Grupo SF68_A: *Str. faecium* C68 en agua de bebida

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

-Grupo SF68_p: *Str. faecium* C68 en pienso

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

-Grupo SF15_A: *Str. faecium* CL15 en agua de bebida

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

-Grupo SF15_p: *Str. faecium* CL15 en pienso

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

*** Experimento 3P**

Finalidad. Observar los efectos de dos cepas de *Str. faecium* (C68 y CL15), sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora ileocecal en pollos de 4-8 semanas de edad.

Animales. 75 pollos de 4 semanas de edad, distribuidos en tres tratamientos (T, SF68 y SF15) de 25 animales cada uno, con un peso medio inicial de 1.255 g y una diferencia máxima de 47 g entre la media de los grupos.

Tratamientos. Las aves del grupo T no recibieron BAL. Por el contrario, a los grupos problema se les administraron estas bacterias en el pienso, según se expone a continuación:

-Grupo SF68: *Str. faecium* C68

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

-Grupo SF15: *Str. faecium* CL15

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

*** Experimento 4P**

Finalidad. Conocer los efectos que origina la administración de *Str. faecium* CL15 y la mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*, en una proporción del 80, 12, 5 y 3 % respectivamente, sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora ileocecal en pollos de 4-8 semanas de edad.

Animales. 75 pollos de 4 semanas de edad, pasaron a formar parte de tres tratamientos (T, SF15 y S+L) constituídos por 25 animales cada uno, partiendo de un peso medio de 1.220 g y una diferencia máxima de 43 g entre la media de los grupos.

Tratamientos. Los pollos del grupo T no recibieron en ningún momento BAL. La administración de las bacterias se realizó diariamente utilizando como soporte el pienso, según la siguiente dosificación:

-Grupo SF15: *Str. faecium* CL15

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

-Grupo S+L: *Str. faecium* (80 %)+*L. helveticus* (12 %)+*L. casei* (5 %)+*L. acidophilus* (3 %)

Dosificación: 13×10^8 UFC/ave/día

Metodología. La metodología seguida en los distintos experimentos realizados con pollos fue la misma. Todos los pollos se pesaron individualmente

cada semana, registrándose la ganancia de peso y la ingestión de pienso. Una vez finalizada la prueba, se procedió al sacrificio de 4 aves por grupo e inmediatamente después de la muerte, los pollos se evisceraron y se recogieron muestras de contenido de íleon terminal y ciegos para realizar su análisis microbiológico.

III.4.2. Gazapos

En la Tabla 6 se expone el planteamiento y metodología llevados a cabo en las investigaciones con gazapos.

*** Experimento 1G**

Finalidad. Determinar la influencia sobre el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva, así como estudiar la evolución que presenta en íleon, ciego y colon, la flora intestinal del gazapo de 3 a 6 semanas de edad, cuando se le suministra *L. casei*.

Animales. 48 gazapos recién destetados se distribuyeron en dos grupos homogéneos (T y LC) de 24 animales cada uno, siendo su peso medio de 410 g por animal y teniendo una diferencia máxima de 14 g en el peso medio de los grupos.

Tratamientos. Al grupo T se le consideró como testigo, no recibiendo suplemento microbiano alguno. A los gazapos del grupo LC se les administró

TABLA 6

ESQUEMA DEL PLANTEAMIENTO Y METODOLOGIA DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN GAZAPOS

EXPERIMENTOS	1G	2G	3G	4G	5G
OBJETIVOS	Crecimiento		Eficiencia nutritiva	Flora Intestinal	
EDAD Y PESO INICIAL	3 sem. - 410 g	4 sem. - 680 g	4 sem. - 663 g	4 sem. - 660 g	4 sem. - 627 g
TRATAMIENTOS Nº de animales Nº de repeticiones	T - LC 48 - 24/grupo 4 repeticiones	T - LC _A - LC _L 48 - 16/grupo 4 repeticiones	T - LC - SF68 48 - 16/grupo 4 repeticiones	T - L+S _A - L+S _L - L+S _P 64 - 16/grupo 4 repeticiones	T - SF15 32 - 16/grupo 4 repeticiones
BAL Dosificación Vía administración	<i>L. casei</i> (LC) 9x10 ⁸ UFC/a/d Oral en agua	<i>L. casei</i> (LC _A) 9x10 ⁸ UFC/a/d Oral en agua <i>L. casei</i> (LC _L) 9x10 ⁸ UFC/a/d Oral en leche	<i>L. casei</i> (LC) 1x10 ⁹ UFC/a/d Pienso <i>Str. faecium</i> C68 (SF68) 13x10 ⁸ UFC/a/d Pienso	LC+SF68 (L+S _A) 9x10 ⁸ +12x10 ⁸ UFC/a/d Oral en agua LC+SF68 (L+S _L) 9x10 ⁸ +12x10 ⁸ UFC/a/d Oral en leche LC+SF68 (L+S _P) 1x10 ⁹ +13x10 ⁸ UFC/a/d Pienso	<i>Str. faecium</i> CL15 (SF15) 13x10 ⁸ UFC/a/d Pienso
PERIODO EXPERIMENTAL	3-6 semanas	4-8 semanas	4-8 semanas	4-8 semanas	4-8 semanas
RECOGIDA DE MUESTRAS ANALISIS MICROBIOLOGICO	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon

diariamente mediante sonda oral un concentrado de *L. casei* disuelto en agua desionizada, a una concentración de 9×10^8 UFC/animal/día.

*** Experimento 2G**

Finalidad. Comprobar los efectos sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora del íleon, ciego y colon de gazapos de 4-8 semanas, cuando se les administra un concentrado de *L. casei*.

Animales. 48 gazapos de 4 semanas recién destetados, se repartieron en tres grupos (T, LC_A y LC_L) de 16 animales cada uno, con un peso medio de 680 g por gazapo y una diferencia máxima de 25 g entre la media de los grupos.

Tratamientos. Los conejos del grupo T no recibieron BAL. La administración diaria de las bacterias fue oral mediante sonda, una vez vehiculados en agua desionizada o en leche descremada de vaca, según la siguiente dosificación, de acuerdo con los distintos grupos:

-Grupo LC_A: *L. casei* en agua

Dosificación: 9×10^8 UFC/animal/día.

-Grupo LC_L: *L. casei* en leche

Dosificación: 9×10^8 UFC/animal/día

*** Experimento 3G**

Finalidad. Observar la influencia que ejercían el *L. casei* y *Str. faecium* C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 4-8 semanas de edad.

Animales. 48 gazapos de 4 semanas, recién destetados se distribuyeron en tres grupos (T, LC y SF68) de 16 animales cada uno, con un peso medio de 663 g por animal y una diferencia máxima en el peso medio de los grupos de 22 g.

Tratamientos. El grupo T no recibió BAL en ningún momento. La administración de las bacterias se realizó a través del pienso durante todo el período experimental, correspondiendo la siguiente dosificación:

-Grupo LC: *L. casei*

Dosificación: 1×10^9 UFC/animal/día

-Grupo SF68: *Str. faecium* C68

Dosificación: 13×10^8 UFC/animal/día

*** Experimento 4G**

Finalidad. Estudiar los efectos derivados de la administración conjunta de *L. casei* + *Str. faecium* C68 sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 4-8 semanas de edad.

Animales. 64 gazapos destetados a las 4 semanas de vida, se repartieron en cuatro grupos uniformes (T, L+S_A, L+S_L y L+S_p) de 16 animales cada uno. El peso medio inicial por animal fue de 660 g, existiendo una diferencia máxima en el peso medio de los grupos de 24 g.

Tratamientos. Los gazapos del grupo T se mantuvieron sin aporte de BAL. La administración de los microorganismos en los grupos problema, se practicó diariamente por vía oral, bien mediante sonda vehiculados en agua desionizada o leche descremada de vaca, o bien a través del pienso, de acuerdo con los distintos grupos:

-Grupo L+S_A: *L. casei* + *Str. faecium* C68 en agua

Dosificación: $9 \times 10^8 + 12 \times 10^8$ UFC/animal/día

-Grupo L+S_L: *L. casei* + *Str. faecium* C68 en leche

Dosificación: $9 \times 10^8 + 12 \times 10^8$ UFC/animal/día

-Grupo L+S_p: *L. casei* + *Str. faecium* C68 en pienso

Dosificación: $1 \times 10^9 + 13 \times 10^8$ UFC/animal/día

*** Experimento 5G**

Finalidad. Determinar la influencia de la administración de *Str. faecium* CL15 sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 4-8 semanas de edad.

Animales. 32 gazapos de 4 semanas recién destetados, constituyeron dos grupos (T y SF15) de 16 animales cada uno, con un peso medio por animal de 627 g y una diferencia máxima en el peso medio de los grupos de 39 g.

Tratamientos. El grupo T no recibió BAL. Sin embargo, a los gazapos del grupo SF15 se les administró durante todo el período experimental *Str. faecium* CL15 en el pienso, de manera que la ingestión correspondiera a una concentración de 13×10^8 UFC/animal/día.

Metodología. En todas las pruebas realizadas en gazapos se aplicó la misma metodología. Al final del período experimental se pesaron individualmente los animales, registrándose la ganancia de peso y el consumo de pienso. Con respecto al estudio microbiológico, se realizó al concluir el período experimental, excepto en el experimento 1G en el que se verificó un estudio semanal para determinar las variaciones que se originaban en la flora intestinal desde la 4ª a la 6ª semana de edad. Así, en todos los casos, se sacrificaron y evisceraron 4 gazapos por grupo, recogiendo contenido intestinal a nivel de íleon terminal, ciego y colon proximal.

III.4.3. Lechones

En la Tabla 7 se presenta el planteamiento y metodología efectuados en las investigaciones con lechones.

TABLA 7

ESQUEMA DEL PLANTEAMIENTO Y METODOLOGIA DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN LECHONES

EXPERIMENTOS	1L	2L	3L	4L	5L
OBJETIVOS	Crecimiento		Eficiencia nutritiva	Flora intestinal	
EDAD Y PESO INICIAL	3 sem. - 5,68 kg	4 sem. - 6,78 kg	4 sem. - 6,92 kg	3 sem. - 5,50 kg	5 sem. - 8,98 kg
TRATAMIENTOS Nº de animales Nº de repeticiones	T - LC _A - LC _L - LC _P 36 - 9/grupo 3 repeticiones	T - LC 18 - 9/grupo 3 repeticiones	T - LA 18 - 9/grupo 3 repeticiones	T - LA - SF15 27 - 9/grupo 3 repeticiones	T - LA - SF15 27 - 9/grupo 3 repeticiones
BAL Dosificación Vía administración	<i>L. casei</i> (LC _A) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en agua <i>L. casei</i> (LC _L) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en leche <i>L. casei</i> (LC _P) 11x10 ⁸ UFC/a/d Pienso	<i>L. casei</i> (LC) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en leche	<i>L. acidophilus</i> (LA) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en leche	<i>L. acidophilus</i> (LA) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en leche <i>Str. faecium</i> CL15 (SF15) 13x10 ⁸ UFC/a/d Oral en leche	<i>L. acidophilus</i> (LA) 1x10 ⁹ UFC/a/d Oral en leche <i>Str. faecium</i> CL15 (SF15) 13x10 ⁸ UFC/a/d Oral en leche
PERIODO EXPERIMENTAL	3-4 semanas	4-6 semanas	4-8 semanas	3-5 semanas	5-9 semanas
RECOGIDA DE MUESTRAS ANALISIS MICROBIOLOGICO	Recto	Estómago Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon	Ileon Ciego Colon

*** Experimento 1L**

Finalidad. Determinar los efectos derivados de la administración de *L. casei* sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora bacteriana existente en el contenido rectal de lechones de 3-4 semanas de vida.

Animales. 36 lechones recién destetados, de 3 semanas de edad, con los que se formaron cuatro grupos (T, LC_A, LC_L y LC_P) de 9 animales cada uno y con un peso medio inicial por animal de 5,68 kg, así como una diferencia máxima de 168 g en el peso medio de los tratamientos.

Tratamientos. Los animales del grupo T no recibieron BAL. La administración de los microorganismos a los grupos problema se realizó diariamente por vía oral, bien a través de sonda, vehiculados en agua desionizada o leche descremada de vaca, o bien en pienso, según el siguiente esquema de dosificación de acuerdo con los distintos grupos:

-Grupo LC_A: *L. casei* en agua

Dosificación: 1×10^9 UFC/animal/día

-Grupo LC_L: *L. casei* en leche

Dosificación: 1×10^9 UFC/animal/día

-Grupo LC_P: *L. casei* en pienso

Dosificación: 11×10^8 UFC/animal/día

*** Experimento 2L**

Finalidad. Determinar el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva y analizar la flora que habita en los distintos tramos intestinales (estómago, íleon terminal, ciego y colon) del lechón, de 4-6 semanas de edad, cuando se le administra *L. casei*.

Animales. 18 lechones de 4 semanas de edad recién destetados, se distribuyeron en dos grupos (T y LC) de 9 lechones cada uno, con un peso medio por animal de 6,78 kg y una diferencia máxima de 179 g en el peso medio de los dos tratamientos.

Tratamientos. Los animales del grupo T no recibieron BAL en ningún momento. A los lechones del grupo LC, se les administró *L. casei* en leche descremada de vaca por vía oral mediante sonda, a una concentración de 1×10^9 UFC/animal/día.

*** Experimento 3L**

Finalidad. Observar los efectos derivados de la administración de *L. acidophilus* aislado a partir de mucosa de colon de cerdo, sobre el consumo de pienso, crecimiento, eficiencia nutritiva y flora del íleon, ciego y colon en lechones de 4-8 semanas de edad.

Animales. 18 lechones de 4 semanas de edad recién destetados, pasan a formar parte de dos grupos (T y LA) de 9 animales cada uno, con un peso medio inicial de 6,92 kg y una diferencia máxima de 205 g en el peso medio de los grupos.

Tratamientos. Los animales del grupo T no recibieron BAL. A los lechones del grupo LA se les proporcionó por vía oral mediante sonda *L. acidophilus* disuelto en leche descremada de vaca, a una concentración de 1×10^9 UFC/animal/día.

*** Experimento 4L**

Finalidad. Determinar las modificaciones derivadas de la administración de *L. acidophilus* específico de cerdos y *Str. faecium* CL15 en lechones destetados a las 3 semanas de edad, tanto en el consumo de pienso, crecimiento y eficiencia nutritiva, como en la flora del íleon, ciego y colon.

Animales. 27 lechones de 3 semanas integraron tres grupos (T, LA y SF15) de 9 animales cada uno, con un peso medio inicial por animal de 5,50 kg y una diferencia máxima en el peso medio de los grupos de 174 g.

Tratamientos. El grupo T no recibió BAL. A los grupos problema se les proporcionaron las bacterias lácticas disueltas en leche descremada de vaca por vía oral a través de sonda, según la siguiente dosificación:

-Grupo LA: *L. acidophilus*

Dosificación: 1×10^9 UFC/animal/día

-Grupo SF15: *Str. faecium* CL15

Dosificación: 13×10^8 UFC/animal/día

*** Experimento 5L**

Finalidad. En la presente prueba se persiguió el mismo objetivo que en la anterior, llevándose a cabo con idéntico planteamiento experimental, pero realizada con lechones a los que se destetó a los 35 días para iniciar el experimento.

Animales. 27 lechones de 5 semanas se repartieron en tres grupos (T, LA y SF15) de 9 animales cada uno, con un peso medio de 8,98 kg y una diferencia máxima en el peso medio de los grupos de 234 g.

Tratamientos. El grupo T no recibió ningún suplemento bacteriano. Las BAL se les suministraron a los grupos problema en leche, de igual manera que en el experimento anterior y según la siguiente dosificación:

-Grupo LA: *L. acidophilus*

Dosificación: 1×10^9 UFC/animal/día

-Grupo SF15: *Str. faecium* CL15

Dosificación: 13×10^8 UFC/animal/día

Metodología: En todas las pruebas realizadas con lechones, se utilizó la misma metodología. Al concluir el período experimental se pesaron todos los animales para el control de la ganancia de peso y el consumo de pienso. Asimismo, en todos los experimentos excepto en el 1L (muestra rectal), se sacrificaron 4 animales por grupo.

III.5. OBTENCION DE MUESTRAS DEL CONTENIDO INTESTINAL

En todos los experimentos realizados en las tres especies, los animales fueron privados de alimento y agua durante un período de 12 h antes del sacrificio.

Los pollos y gazapos se sacrificaron por dislocación cervical. Los lechones se sacrificaron por inyección de pentobarbital sódico en vena. Una vez sacrificados los animales, se evisceraron previa laparotomía siguiendo la línea blanca, procediendo con la máxima asepsia a separar el estómago en los lechones, ligando a nivel de cardias y píloro y recogiendo muestra de su contenido en la zona correspondiente a la *pars oesophagea* para su examen bacteriológico.

El íleon en las tres especies se delimitó mediante dos ligaduras, una proximal a nivel del divertículo de Meckel y otra distal en la unión ileocecal. La toma de muestra del contenido ileal se efectuó en su parte terminal, ligando de

nuevo a 30 (pollos y gazapos) y 20 cm (lechones) por encima de la unión ileocecal.

Los ciegos en las aves se extrajeron previa ligadura a la altura de la válvula ileocecal. En gazapos y lechones el ciego se ligó a nivel de la unión ileocecal y cecocólica, para posteriormente recoger su contenido.

El colon en pollos y lechones se definió desde la ligadura en la ampolla cecal hasta el principio del recto. En los gazapos, las muestras se obtuvieron del colon proximal (tramo inmediatamente anterior al de formación de heces duras), realizando para ello una nueva ligadura a 30 cm de la unión cecocólica.

Las muestras de recto de los lechones se recogieron por extracción manual, utilizando material estéril para evitar la contaminación.

Los diferentes tramos intestinales, ligados en sus extremos, y las muestras de heces recogidas, objeto de análisis microbiológico, se depositaron en placas de Petri o recipientes estériles de mayor capacidad en el caso del estómago de los lechones, manteniéndose en frigorífico entre 0 y 5°C para evitar el desarrollo bacteriano. En el Laboratorio de Bacteriología se procedió con sumo cuidado y medidas estériles a la recogida del contenido intestinal mediante compresión y raspado de mucosa, depositando aquel en recipientes de cierre hermético para su posterior análisis.

III.6. ANALISIS MICROBIOLOGICO

Se realizaron de forma periódica controles microbiológicos en primer lugar, de todos los cultivos de BAL utilizados, así como del pienso cuando incluía estos microorganismos lácticos, con la finalidad de comprobar su concentración y viabilidad, respectivamente. Y en segundo lugar, del contenido intestinal de los diferentes segmentos objeto de estudio. Para cada una de las muestras se preparó una dilución al 1:10 (peso:volúmen), añadiendo 9 ml de solución salina fisiológica (PBS K_2HPO_4 , 0,121 %; KH_2PO_4 , 0,034 %; NaCl, 0,8 %, pH 7,2) a 1 g de contenido intestinal depositado en tubo de ensayo estéril bien tapado. Una vez homogeneizada la muestra (Heidolph Reax 2000) se procedió a preparar con arreglo a la metodología general diluciones decimales, a partir de las cuales sembramos por duplicado en los medios de cultivo correspondientes, observando siempre el máximo cuidado para evitar cualquier tipo de contaminación.

En todas las muestras se procedió al aislamiento, identificación y recuento de coliformes, enterococos, estafilococos, anaerobios sulfito-reductores y BAL, preparando para ello los medios de cultivo específicos:

Coliformes: Como medio de cultivo diferencial para el aislamiento y enumeración de coliformes se utilizó agar MacConkey (pH 7,2) (Oxoid), sembrando en superficie e incubando aeróbicamente durante 24-48 horas a 37°C, se observaron las colonias típicas de color rojo intenso y aspecto no mucoso.

Enterococos: Para detectar y cuantificar de forma selectiva enterococos, empleamos agar Slanetz-Bartley (7,2) (Oxoid). Debido a la presencia de azida sódica son inhibidos la mayoría de los microorganismos Gram-, permitiendo el crecimiento de los enterococos. De las diluciones elegidas se siembra en superficie, repartiendo bien la muestra con ayuda de un asa de Drigalsky. Se invierten las placas de Petri y se incuban en aerobiosis a 37-45°C durante 24-48 horas, transcurrido este tiempo se cuentan las colonias que presentarán un color rojo o pardo-rojizo con un borde estrecho de tono blanquecino.

Estafilococos: Como medio selectivo para el aislamiento de estafilococos, utilizamos el agar de Chapman (agar de sal y manitol, pH 7,5) (Oxoid) sobre el que sembramos e incubamos aeróbicamente durante 24-48 horas a 37°C, observando posteriormente las colonias de color amarillo brillante.

Anaerobios sulfito-reductores: Para el aislamiento de *Clostridium* y en general gérmenes anaerobios esporulados, sembramos en profundidad en tubos de ensayo que contenían agar SPS (pH 7,2) (Difco) e incubamos en jarras anaeróbicas bajo atmósfera de 90 % de N y 10 % de CO₂ (GasPack; BBL) durante 24 horas a 37°C. El agar SPS provee de todos los factores de crecimiento necesarios para el desarrollo de clostridios y anaerobios esporulados, conteniendo sulfito que será reducido en condiciones anaerobias hasta el nivel de sulfuro que en presencia de una sal de hierro va a originar un precipitado negro de sulfuro de hierro en todas las colonias.

BAL: Collins (1978) comparó distintos medios de cultivo para recuento de *BAL*, observando cómo el más idóneo era el agar MRS, el cual corresponde a las iniciales de **Man**, **Rogosa** y **Sharpe** (1960) quienes elaboraron un medio que favorecía el buen crecimiento de las *BAL* en general, al contener sustrato fermentable y factores de crecimiento suficientes. A partir de la muestra diluida se sembró en placas de Petri estériles, vertiendo a continuación sobre ella agar MRS (pH 6,5) (Oxoid) fundido (45°C) y una vez solidificado el medio, se añadió una segunda capa de agar MRS antes de incubar en anaerobiosis (5 % de CO₂ estimula el crecimiento) (GasPack; BBL) a 37°C durante 4 días. Durante la incubación es importante la presencia de una humedad suficiente por encima del agar, para que el medio no se vuelva inhibitorio al concentrarse los factores selectivos sobre la superficie. Las colonias sumergidas o superficiales son pequeñas, opacas y blancas.

Transcurrido el período de incubación se efectuó el recuento, aislamiento e identificación de colonias. Para expresar numéricamente las UFC presentes en la muestra, se multiplicó el número de colonias observadas por el recíproco de la dilución sembrada. Para su aislamiento, las colonias se pasaron por caldo enriquecido, que sometido a centrifugación se diluyó en solución salina para a continuación proceder a su identificación mediante exámen microscópico (Correct Binocular SB-TR) y análisis bioquímico. La identificación bioquímica se basó principalmente en la fermentación de carbohidratos y el test de IMVIC, que

consiste en la comprobación de: producción de indol, prueba de rojo de metilo, prueba de Voges Proskauer y crecimiento en medio de citrato.

III.7. ESTUDIO ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en las distintas pruebas experimentales efectuadas, se sometieron a análisis de la varianza (Statgraph 3.0). Cuando los valores de F fueron significativos como mínimo al nivel de probabilidad del 5 % ($P < 0,05$) el grado de significación estadística de las diferencias entre medias se estableció siguiendo el método LSD.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

IV.1. CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA

IV.1.1. Pollos

* *L. casei* - *L. acidophilus* - *Str. faecium* C68 en pollos de 0-3 semanas (Exp. 1P)

De acuerdo con los resultados de la Tabla 8 y considerados para la totalidad del período experimental, la adición de *L. casei*, *L. acidophilus*, y *Str. faecium* C68 al agua de bebida, no supuso aumento en el consumo de pienso, al contrario, en todos los grupos que recibieron BAL, este consumo fue menor, y de forma significativa ($P < 0,01$) en el grupo SF68 tanto para la 1ª y 2ª semanas, como para el período total. La ganancia de peso no se vio afectada al adicionar dichos microorganismos. El índice de transformación disminuyó en mayor o menor grado en los grupos a los que se administró BAL, apreciándose una mayor eficiencia nutritiva ($P < 0,01$) en el tratamiento SF68, a lo largo de todas las semanas estudiadas y para el conjunto del período.

* *Str. faecium* C68 - *Str. faecium* CL15 en pollos de 0-8 semanas (Exp. 2P y 3P)

El análisis estadístico correspondiente a las cuatro primeras semanas (Tabla 9), no puso en evidencia mejoras significativas en el consumo de pienso o en la ganancia de peso. Por el contrario, el índice de transformación para la totalidad del período, fue significativamente menor ($P < 0,01$) cuando se

TABLA 8
**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI*, *L. ACIDOPHILUS* Y *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN POLLOS DE 0 A 3 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 1P)**

		TRATAMIENTOS ¹				
		T	LC	LA	SF68	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/ave)	Semanas: 1 ^a	107 ^B	108 ^B	100 ^{AB}	90 ^A	2,602
	2 ^a	262 ^B	277 ^B	259 ^B	207 ^A	8,179
	3 ^a	442	387	387	378	26,233
	Período total	811 ^B	772 ^{AB}	746 ^{AB}	675 ^A	23,573
GANANCIA DE PESO (g/ave)	Semanas: 1 ^a	79	83	78	82	3,066
	2 ^a	161	179	173	166	6,816
	3 ^a	244	217	224	240	14,359
	Período total	484	478	475	488	11,690
INDICE DE TRANSFORMACION	Semanas: 1 ^a	1,35 ^B	1,30 ^{AB}	1,28 ^{AB}	1,10 ^A	0,057
	2 ^a	1,63 ^B	1,55 ^B	1,50 ^B	1,25 ^A	0,055
	3 ^a	1,81 ^b	1,78 ^b	1,73 ^{ab}	1,58 ^a	0,058
	Período total	1,68 ^B	1,61 ^B	1,57 ^B	1,38 ^A	0,026

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, LA: *L. acidophilus*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en agua de bebida.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 9
EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y *STR. FAECIUM* CL15
SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN POLLOS DE 0 A 4 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 2P)

		TRATAMIENTOS ¹					ES ²
		T	SF68 _A	SF68 _P	SF15 _A	SF15 _P	
CONSUMO DE PIENSO (g/ave)	Semana: 1 ^a	115 ^B	105 ^A	122 ^C	120 ^{BC}	117 ^{BC}	1,612
	2 ^a	290 ^C	222 ^A	260 ^B	245 ^B	255 ^B	5,544
	3 ^a	445 ^C	400 ^{AB}	405 ^{AB}	425 ^{BC}	385 ^A	6,497
	4 ^a	665 ^C	530 ^A	529 ^A	575 ^B	565 ^B	6,838
	Período total	1515 ^D	1257 ^A	1316 ^B	1365 ^C	1322 ^B	10,310
GANANCIA DE PESO (g/ave)	Semana: 1 ^a	92	88	90	88	95	4,347
	2 ^a	220 ^B	189 ^A	192 ^A	197 ^{AB}	188 ^A	5,964
	3 ^a	262 ^{ab}	262 ^{ab}	259 ^{ab}	273 ^b	247 ^a	7,176
	4 ^a	331 ^b	294 ^a	314 ^{ab}	307 ^{ab}	311 ^{ab}	10,585
	Período total	905 ^B	833 ^A	855 ^A	865 ^A	841 ^A	8,700
INDICE DE TRANSFORMACION	Semana: 1 ^a	1,25	1,19	1,36	1,36	1,23	0,067
	2 ^a	1,32 ^{AB}	1,17 ^A	1,35 ^B	1,24 ^{AB}	1,36 ^B	0,043
	3 ^a	1,70 ^b	1,53 ^a	1,56 ^{ab}	1,56 ^{ab}	1,56 ^{ab}	0,050
	4 ^a	2,01 ^B	1,80 ^{AB}	1,68 ^A	1,87 ^{AB}	1,82 ^{AB}	0,065
	Período total	1,67 ^B	1,51 ^A	1,54 ^A	1,58 ^A	1,57 ^A	0,021

¹ T: Testigo; SF68_A y SF68_P: *Str. faecium* C68, SF15_A y SF15_P: *Str. faecium* CL15, administrados en agua de bebida y pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C,D; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

adicionaron *Str. faecium* C68 y CL15 en el pienso o en el agua de bebida. Considerados los resultados entre la 4ª y 8ª semana de edad (Tabla 10), únicamente el *Str. faecium* C68 determinó mayor consumo de pienso y ganancia de peso ($P < 0,01$). Sin embargo, a diferencia de lo observado en las cuatro primeras semanas, ninguna de las cepas de estreptococos adicionadas mejoró la eficiencia nutritiva.

*** *Str. faecium* CL15 - *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus* en pollos de 4-8 semanas**
(Exp. 4P)

Comparados los resultados entre el grupo testigo y los grupos problema (Tabla 11), se observó que la adición al pienso de *Str. faecium* CL15 o de una mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*, no determinó variaciones significativas en la ganancia de peso o en la eficiencia nutritiva del pienso.

Los efectos de la administración de las distintas BAL sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva en pollos se observan en el gráfico 1.

IV.1.2. Gazapos

*** *L. casei* en gazapos de 3-8 semanas**
(Exp. 1G y 2G)

Los resultados de las Tablas 12 y 13 indican que la administración directa de *L. casei* en agua o en leche, careció de efecto sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva en gazapos entre 3 y 8 semanas de edad.

TABLA 10

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN POLLOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 3P)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF68	SF15	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	144 ^A	154 ^B	141 ^A	1,370
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	61,4 ^A	66,2 ^B	60,4 ^A	1,028
INDICE DE TRANSFORMACION	2,35	2,33	2,33	0,048

¹ T: Testigo; **SF68**: *Str. faecium* C68, **SF15**: *Str. faecium* CL15, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 11

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 Y *STR. FAECIUM* + *L. HELVETICUS* + *L. CASEI* + *L. ACIDOPHILUS* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN POLLOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4P)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF15	S+L	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	140,0	135,0	135,0	1,861
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	60,3	57,5	58,4	1,009
INDICE DE TRANSFORMACION	2,32	2,35	2,31	0,053

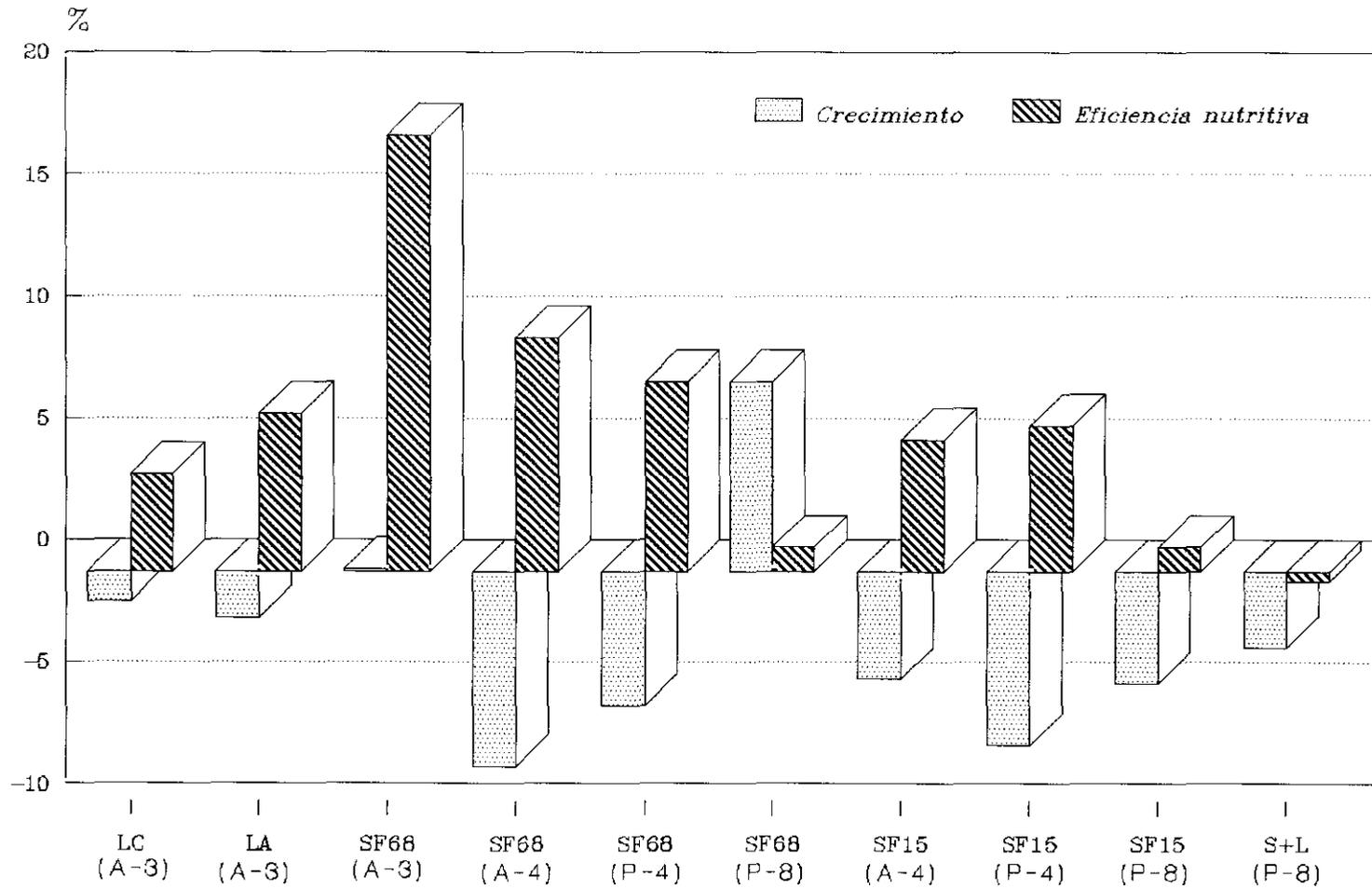
¹ T: Testigo; SF15: *Str. faecium* CL15, S+L: *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

GRAFICO 1

BACTERIAS ACIDO-LACTICAS: CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN POLLOS



A:agua; P:pienso; 3,4,8:sem. de edad

TABLA 12

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN GAZAPOS DE 3 A 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	63,5	62,8	1,096
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	30,6	30,8	1,124
INDICE DE TRANSFORMACION	2,07	2,03	0,086

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado directamente en agua.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

TABLA 13

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN GAZAPOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC _A	LC _L	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	85,7	84,3	84,9	0,932
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	37,5	37,3	37,7	0,730
INDICE DE TRANSFORMACION	2,28	2,26	2,25	0,046

¹ T: Testigo; LC_A y LC_L: *L. casei* administrado en agua o leche, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

*** *L. casei* - *Str. faecium* C68 en gazapos de 4-8 semanas**
(Exp. 3G)

Los resultados de la adición al pienso de *L. casei* y *Str. faecium* C68, se exponen en la Tabla 14, en la que se observa que tanto el consumo de pienso como la ganancia de peso aumentaron significativamente ($P < 0,01$) en los animales que recibieron BAL con el pienso. Las diferencias en los índices de transformación, sólo alcanzaron significación estadística ($P < 0,01$) entre el grupo SF68 y el testigo.

*** *L. casei* + *Str. faecium* C68 en gazapos de 4-8 semanas**
(Exp. 4G)

La Tabla 15 corresponde a los datos obtenidos tras la administración de una mezcla de *L. casei* + *Str. faecium* C68 en agua, leche o pienso. En todos los casos, la administración de BAL aumentó el consumo de pienso ($P < 0,05$) y la ganancia de peso ($P < 0,01$). De igual manera, la eficiencia nutritiva del pienso se mejoró ($P < 0,05$) por la adición de BAL.

*** *Str. faecium* CL15 en gazapos de 4-8 semanas**
(Exp. 5G)

La incorporación de *Str. faecium* CL15 al pienso originó variaciones favorablemente significativas ($P < 0,01$) en la ganancia de peso y el índice de transformación, como se indica en la Tabla 16.

La influencia que ejercen las BAL analizadas sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva en gazapos, se aprecia en el gráfico 2.

TABLA 14

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* Y *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA
 NUTRITIVA EN GAZAPOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 3G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC	SF68	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	83,8 ^A	85,7 ^B	85,5 ^B	0,279
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	36,3 ^A	37,6 ^B	38,2 ^B	0,213
INDICE DE TRANSFORMACION	2,30 ^B	2,27 ^{AB}	2,23 ^A	0,015

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 15

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* + *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA
 NUTRITIVA EN GAZAPOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 4G)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	L+S _A	L+S _L	L+S _P	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	84,7 ^a	85,9 ^b	86,2 ^b	85,8 ^b	0,340
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	36,5 ^A	38,0 ^B	38,3 ^B	38,1 ^B	0,219
INDICE DE TRANSFORMACION	2,32 ^b	2,26 ^a	2,25 ^a	2,25 ^a	0,013

¹ T: Testigo; L+S_A, L+S_L y L+S_P: *L. casei* + *Str. faecium* C68 administrados en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 16

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN GAZAPOS DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 5G)

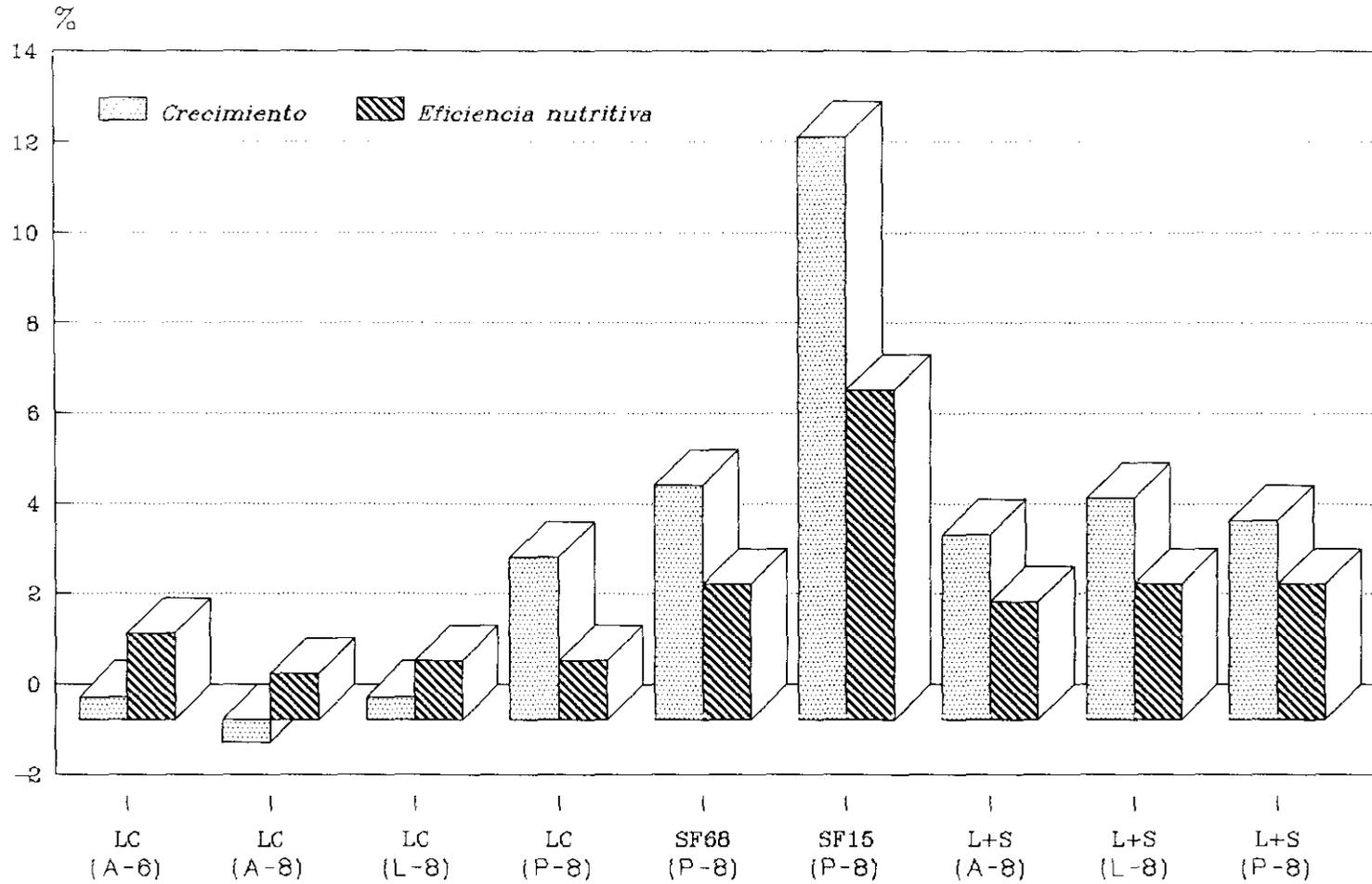
	TRATAMIENTOS ¹		
	T	SF15	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	84,9 ^A	88,7 ^B	0,330
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	36,4 ^A	41,1 ^B	0,430
INDICE DE TRANSFORMACION	2,33 ^B	2,16 ^A	0,020

¹ T: Testigo; **SF15**: *Str. faecium* CL15 administrado en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

GRAFICO 2
 BACTERIAS ACIDO-LACTICAS: CRECIMIENTO
 Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN GAZAPOS



A:agua; L:leche; P:pienso; 6,8:sem. edad

IV.1.3. Lechones

* *L. casei* en lechones de 3-6 semanas (Exps. 1L y 2L)

Las Tablas 17 y 18 muestran los resultados obtenidos por la adición de BAL al pienso o administración directa (en agua o en leche) de *L. casei*. De acuerdo con estos resultados, el *L. casei* en cualquiera de las formas de administración, no determinó efecto significativo sobre el consumo de pienso, la ganancia de peso o el índice de transformación.

* *L. acidophilus* en lechones de 4-8 semanas (Exp. 3L)

La administración directa de *L. acidophilus* en leche, supuso un incremento significativo ($P < 0,01$) en el consumo de pienso y en la ganancia de peso (Tabla 19). A pesar del descenso observado en el índice de transformación de los animales que recibieron *L. acidophilus*, las diferencias no fueron significativas.

* *L. acidophilus* - *Str. faecium* CL15 en lechones de 3-9 semanas (Exps. 4L y 5L)

En las Tablas 20 y 21 se exponen los resultados relativos a los efectos de la administración directa de *L. acidophilus* o *Str. faecium* CL15 en leche. Si bien a la 5ª semana, las BAL utilizadas incrementaron ($P < 0,01$) el consumo de pienso y la ganancia de peso, este efecto no se manifestó para el consumo de pienso a la 9ª semana y fue menor para la ganancia de peso, donde únicamente el *Str. faecium* CL15 aumentó dicha ganancia de modo significativo ($P < 0,05$). El

TABLA 17

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES DE 3 A 4 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1L)

	TRATAMIENTOS				
	T	LC _A	LC _L	LC _P	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	366	379	372	365	12,283
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	205	208	213	205	10,793
INDICE DE TRANSFORMACION	1,79	1,82	1,75	1,78	0,085

¹ T: Testigo; LC_A, LC_L y LC_P: *L. casei* administrado en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

TABLA 18

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES DE 4 A 6 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 2L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	387	375	11,660
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	216	219	6,925
INDICE DE TRANSFORMACION	1,79	1,71	0,143

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

TABLA 19

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES DE 4 A 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 3L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LA	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	485 ^A	568 ^B	13,533
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	258 ^A	317 ^B	7,726
INDICE DE TRANSFORMACION	1,88	1,79	0,060

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 20

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES DE 3 A 5 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4L)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	299 ^A	362 ^B	377 ^B	10,244
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	162 ^A	215 ^B	219 ^B	8,440
INDICE DE TRANSFORMACION	1,88	1,71	1,74	0,097

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 21

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE EL CONSUMO DE PIENSO, CRECIMIENTO Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES DE 5 A 9 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 5L)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
CONSUMO DE PIENSO (g/animal/día)	574	583	569	11,485
GANANCIA DE PESO (g/animal/día)	302 ^a	324 ^{ab}	335 ^b	10,744
INDICE DE TRANSFORMACION	1,90	1,80	1,70	0,074

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,05).

índice de transformación, que tanto a la 5ª como a la 9ª semana, fue menor en los grupos problema, no presentó diferencias estadísticamente significativas.

En el gráfico 3 se observan las modificaciones originadas por la administración de BAL sobre el crecimiento y la eficiencia nutritiva en lechones.

IV.2. FLORA INTESTINAL

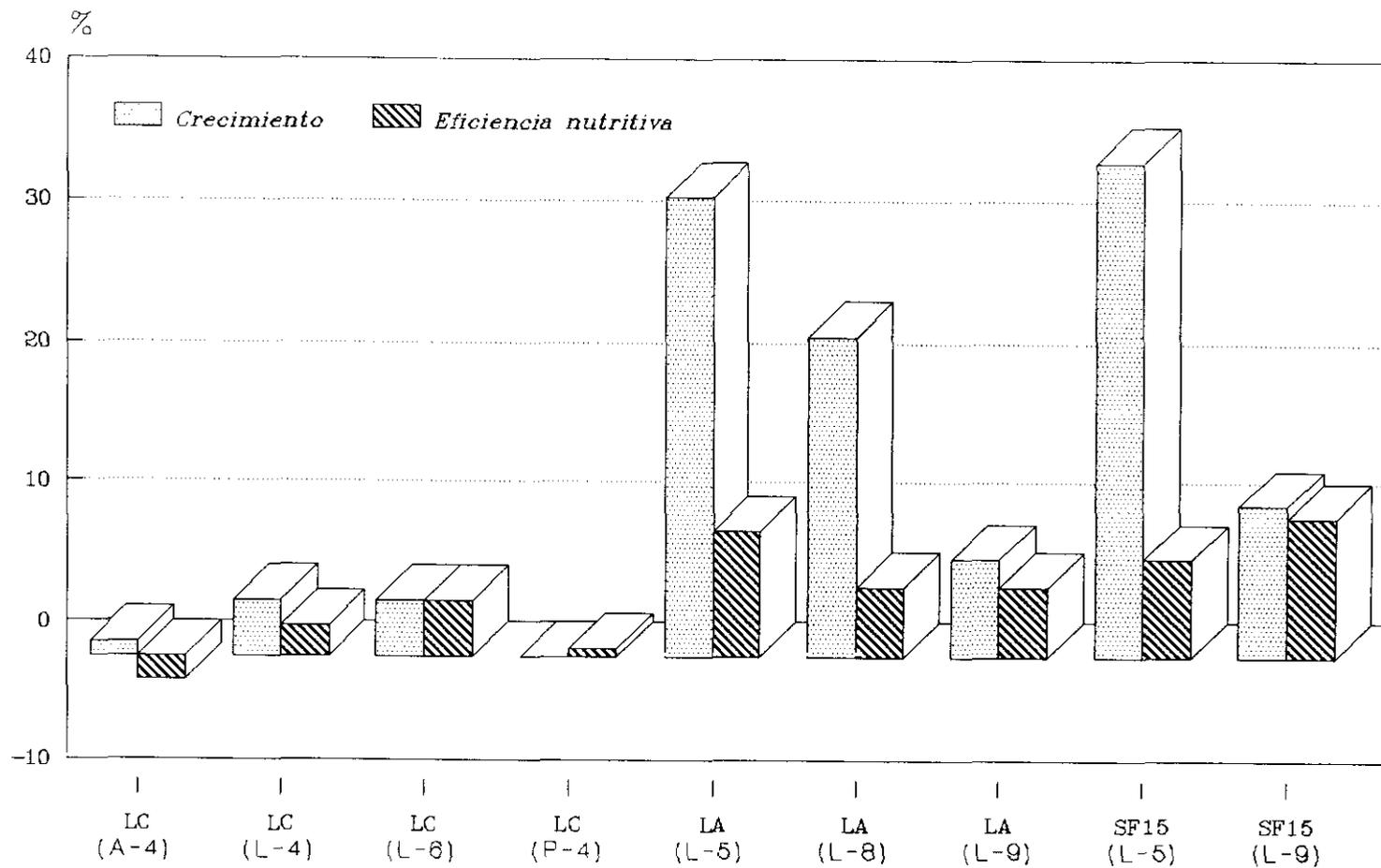
IV.2.1. Pollos

*** *L. casei* - *L. acidophilus* - *Str. faecium* C68
Flora del íleon y ciegos en pollos de 3 semanas
(Exp. 1P)**

De conformidad con los resultados de la Tabla 22, es fácil comprobar que en relación al testigo, la adición de BAL en el agua de bebida no supuso diferencias significativas en el número de coliformes, enterococos ni estafilococos del contenido ileal. Los anaerobios sulfito-reductores aumentaron ($P < 0,05$) por la adición de *L. casei*. Tanto el *L. casei*, como el *L. acidophilus* o el *Str. faecium* C68 determinaron aumentos significativos ($P < 0,01$) en el número de BAL del íleon. La relación BAL/Coliformes aumentó considerablemente en los grupos problema respecto al testigo ($>4:1$).

El análisis microbiológico del contenido cecal (Tabla 23) demostró una disminución en el número de coliformes por la adición de BAL al agua de bebida, siendo significativas ($P < 0,01$) las diferencias entre el grupo testigo y las correspondientes al LA y SF68. De modo similar a lo observado en el íleon, no

GRAFICO 3
 BACTERIAS ACIDO-LACTICAS: CRECIMIENTO
 Y EFICIENCIA NUTRITIVA EN LECHONES



A: agua; L: leche; P: pienso
 4,5,6,8,9: sem. edad

TABLA 22

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI*, *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM C68 SOBRE LA FLORA DEL ILEON
 EN POLLOS DE 3 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 1P)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	LC	LA	SF68	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g				
COLIFORMES	3,0	5,0	4,0	3,0	0,841
ENTEROCOCOS	15,0	17,0	15,0	13,0	1,736
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	ND	-
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,0 ^a	2,1 ^b	1,8 ^{ab}	1,0 ^a	0,291
BAL	12,0 ^A	83,0 ^C	71,0 ^B	82,0 ^{BC}	2,528

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, LA: *L. acidophilus*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en agua de bebida.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

ND<10³.

TABLA 23

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI*, *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM C68 SOBRE LA FLORA DE LOS CIEGOS
 EN POLLOS DE 3 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 1P)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	LC	LA	SF68	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g				
COLIFORMES	28,0 ^B	23,0 ^{AB}	19,0 ^A	18,0 ^A	1,755
ENTEROCOCOS	29,0	25,0	29,0	31,0	3,578
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	ND	-
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,4 ^A	2,5 ^C	2,3 ^{BC}	1,5 ^{AB}	0,188
BAL	224,0 ^A	285,0 ^B	293,0 ^B	365,0 ^C	6,950

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, LA: *L. acidophilus*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en agua de bebida.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10³.

se observaron diferencias significativas en el recuento de enterococos ni estafilococos, y los anaerobios sulfito-reductores aumentaron ($P < 0,01$) en los tratamientos LC o LA. El número de BAL se incrementó significativamente en todos los tratamientos problema ($P < 0,01$). La relación BAL/Coliformes respecto al testigo, experimentó un aumento menor al observado en el íleon ($> 2:1$).

*** *Str. faecium* C68 - *Str. faecium* CL15**
Flora del íleon y ciegos en pollos de 4 y 8 semanas
(Exp. 2P y 3P)

4 semanas. Los datos relativos al análisis microbiológico se recogen en las Tablas 24 y 25. Tanto en íleon como en ciegos, ninguna de las cepas de estreptococos adicionadas al agua de bebida o al pienso, dieron lugar a variaciones significativas en el número de coliformes, enterococos o en los anaerobios sulfito-reductores. El número de estafilococos en ambos tramos intestinales, únicamente fue mayor ($P < 0,01$) en los pollos cuyo pienso se suplementó con *Str. faecium* CL15. Las diferencias encontradas para las BAL tanto en íleon como en ciegos, sólo alcanzaron significación estadística en el contenido ileal ($P < 0,01$). Sin embargo, la relación BAL/Coliformes se incrementó apreciablemente en los segmentos intestinales analizados, al adicionar ambas cepas de estreptococos ($> 2:1$).

8 semanas. En las Tablas 26 y 27 se observa cómo la adición de *Str. faecium* CL15 en el pienso, disminuyó significativamente ($P < 0,05$) el número de coliformes tanto a nivel ileal como cecal. En relación con el grupo testigo,

TABLA 24

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y *STR. FAECIUM* CL15
 SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN POLLOS DE 4 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 2P)

	TRATAMIENTOS ¹					ES ²
	T	SF68 _A	SF68 _P	SF15 _A	SF15 _P	
	x10 ⁵ UFC/g					
COLIFORMES	3,0	5,0	4,0	3,0	5,0	0,683
ENTEROCOCOS	2,0 ^{ab}	1,0 ^a	2,0 ^{ab}	2,0 ^{ab}	3,0 ^b	0,474
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	0,2 ^A	5,0 ^B	0,258
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,0	1,1	1,0	1,2	1,0	0,263
BAL	25,0 ^A	95,0 ^{CD}	84,0 ^{BC}	67,0 ^B	115,0 ^D	5,147

¹ T: Testigo; SF68_A y SF68_P: *Str. faecium* C68, SF15_A y SF15_P: *Str. faecium* CL15, administrados en agua de bebida y pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C,D; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).
 ND<10³.

TABLA 25

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y *STR. FAECIUM* CL15
 SOBRE LA FLORA DE LOS CIEGOS EN POLLOS DE 4 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 2P)

	TRATAMIENTOS ¹					ES ²
	T	SF68 _A	SF68 _P	SF15 _A	SF15 _P	
	x10 ⁵ UFC/g					
COLIFORMES	14,0 ^{ab}	16,0 ^b	17,0 ^b	8,0 ^a	9,0 ^a	2,055
ENTEROCOCOS	3,8 ^{ab}	3,2 ^a	5,8 ^b	2,6 ^a	3,9 ^{ab}	0,746
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	0,1 ^A	4,5 ^B	0,290
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,2	1,1	1,1	1,3	1,3	0,123
BAL	232,0	345,0	318,0	304,0	360,0	69,990

¹ T: Testigo; SF68_A y SF68_P: *Str. faecium* C68, SF15_A y SF15_P: *Str. faecium* CL15 administrados en agua de bebida y pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).
 ND<10³.

TABLA 26

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL ILEON
 EN POLLOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 3P)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF68	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	14 ^{ab}	17 ^b	12 ^a	1,054
ENTEROCOCOS	18 ^{ab}	20 ^b	12 ^a	1,929
ESTAFILOCOCOS	8 ^A	12 ^A	93 ^B	4,915
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	29 ^A	350 ^B	420 ^C	10,397

¹ T: Testigo; SF68: *Str. faecium* C68, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

ND<10³.

TABLA 27

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* C68 Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DE LOS CIEGOS
EN POLLOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 3P)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF68	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	27 ^b	25 ^{ab}	22 ^a	1,374
ENTEROCOCOS	13 ^A	38 ^C	31 ^B	1,027
ESTAFILOCOCOS	3 ^A	25 ^B	75 ^C	1,581
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	530 ^A	650 ^A	1800 ^B	32,337

¹ T: Testigo; **SF68**: *Str. faecium* C68, **SF15**: *Str. faecium* CL15, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

ND<10³.

únicamente en ciegos las BAL utilizadas determinaron un aumento significativo ($P < 0,01$) de enterococos. De modo sorprendente, en ambos tramos intestinales observamos un aumento ($P < 0,01$) del número de estafilococos en el grupo SF15, de difícil explicación. El número de BAL y la relación BAL/Coliformes, fue notablemente más elevada en el tratamiento SF15_p, siendo muy significativas las diferencias ($P < 0,01$) entre este grupo y los restantes por lo que se refiere a las BAL.

*** *Str. faecium* CL15 - *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*. Flora del íleon y ciegos en pollos de 8 semanas (Exp. 4P)**

En el contenido ileal (Tabla 28), la adición de BAL al pienso no influyó sobre el número de coliformes. Por el contrario, en el grupo SF15 aumentaron significativamente los enterococos ($P < 0,05$), estafilococos y BAL ($P < 0,01$). Cuando se utilizó la mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus* no se observaron diferencias significativas en ninguna de las bacterias intestinales analizadas. En la relación BAL/Coliformes se apreció una diferencia notable en el grupo SF15 con relación al resto de los tratamientos ($>5:1$).

Los datos relativos al contenido microbiológico cecal (Tabla 29) pusieron de manifiesto diferencias significativas entre el grupo testigo y los grupos BAL, especialmente en el número de enterococos y de BAL ($P < 0,01$). Al igual que en el experimento anterior, el aumento ($P < 0,01$) de estafilococos en el tratamiento

TABLA 28

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 Y *STR. FAECIUM* + *L. HELVETICUS* + *L. CASEI* + *L. ACIDOPHILUS* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN POLLOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 4P)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF15	S+L	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	14 ^{ab}	13 ^a	17 ^b	1,224
ENTEROCOCOS	16 ^a	20 ^b	17 ^{ab}	1,163
ESTAFILOCOCOS	4 ^A	90 ^B	7 ^A	2,571
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	1000 ^A	5280 ^B	1470 ^A	135,046

¹ T: Testigo; **SF15**: *Str. faecium* CL15, **S+L**: *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

ND<10³.

TABLA 29

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 Y *STR. FAECIUM* + *L. HELVETICUS* + *L. CASEI* + *L. ACIDOPHILUS* SOBRE LA FLORA DE LOS CIEGOS EN POLLOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 4P)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	SF15	S+L	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	25,0 ^{AB}	21,0 ^A	29,0 ^B	1,414
ENTEROCOCOS	12,0 ^A	27,0 ^B	32,0 ^B	2,527
ESTAFILOCOCOS	0,6 ^A	81,0 ^B	12,0 ^A	3,300
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	1200 ^A	5520 ^C	2340 ^B	146,595

¹ T: Testigo; SF15: *Str. faecium* CL15, S+L: *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10³.

SF15 (también se corresponde con lo observado en íleon) resulta difícil de interpretar. La relación BAL/Coliformes, superior en los grupos BAL respecto al testigo, fue más evidente en los animales a los que se administró *Str. faecium* CL15 en el pienso (>5:1).

En el gráfico 4 se expresa la relación BAL/Coliformes en el contenido ileocecal de pollos a los que se administró BAL.

IV.2.2. Gazapos

* *L. casei*

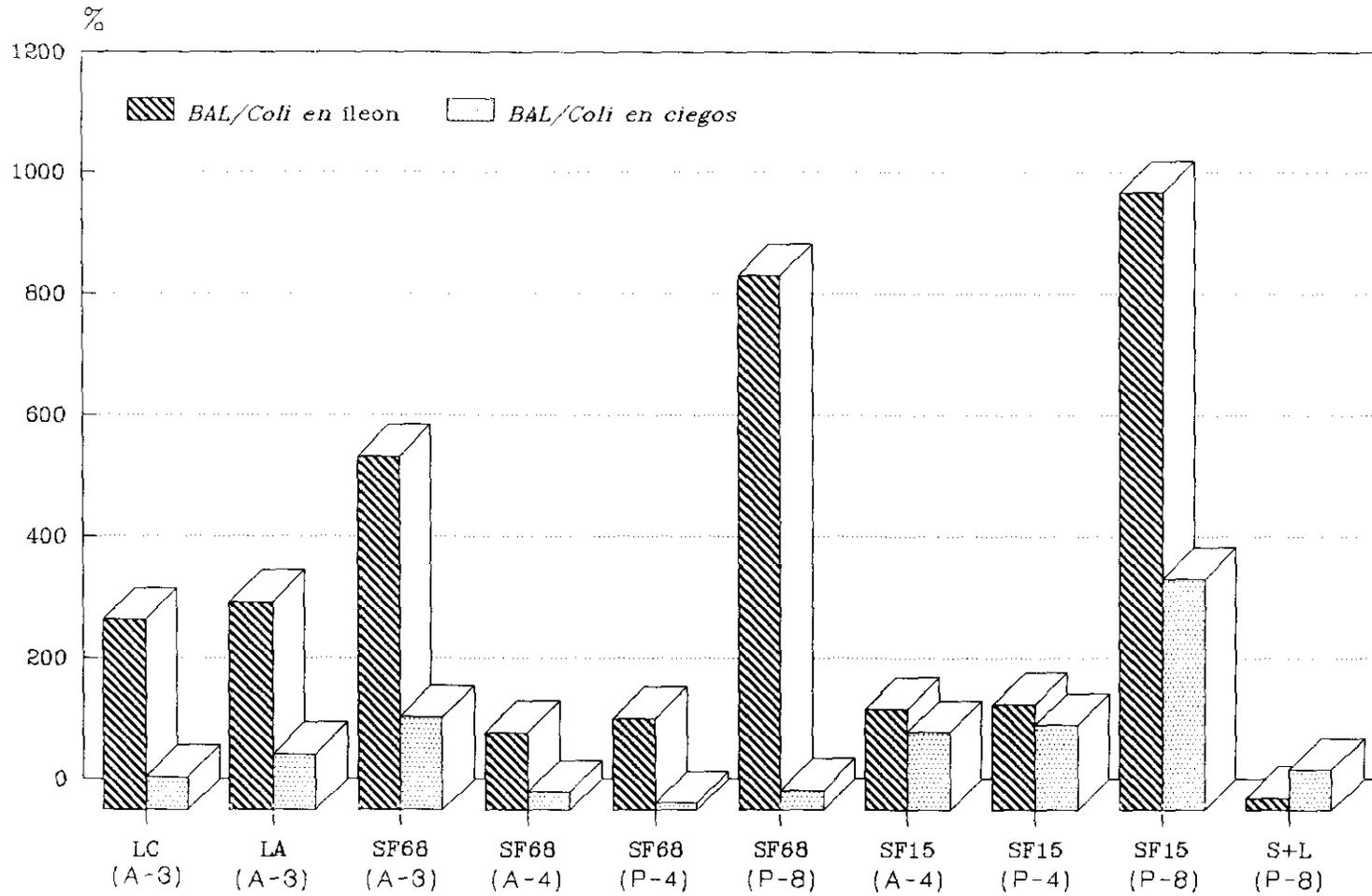
Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 4-6 semanas

(Exp. 1G)

Ileon. Los resultados de las Tablas 30, 31 y 32 indican que no existen diferencias significativas entre ambos grupos experimentales, excepto en el número de BAL, que se incrementan ($P<0,01$) a la 4ª semana. En las tres semanas del experimento, y de modo especial en la 4ª y 6ª, la relación BAL/Coliformes fue mayor cuando se administró a los gazapos *L. casei* en agua (>5:1).

Ciego. En el contenido cecal (Tablas 33, 34 y 35), si se exceptúan los coliformes cuyo número fue significativamente menor ($P<0,01$) a la 5ª y 6ª semanas en el grupo problema, el resto de los gérmenes analizados ofreció variaciones similares a las encontradas en el íleon. La relación BAL/Coliformes

GRAFICO 4
 BACTERIAS ACIDO-LACTICAS:
 BAL/COLIFORMES INTESTINALES EN POLLOS



A:agua; P:pienso; 3,4,8:sem. edad

TABLA 30

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 4 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,10	0,10	0,028
ENTEROCOCOS	0,10	0,10	0,028
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,13	0,019
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	-
BAL	13,00 ^A	75,00 ^B	3,341

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 31

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 5 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,10	0,09	0,010
ENTEROCOCOS	0,10	0,11	0,020
ESTAFILOCOCOS	0,11	0,13	0,021
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	-
BAL	26,00	29,00	1,957

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

ND < 10².

TABLA 32

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 6 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,09	0,04	0,021
ENTEROCOCOS	0,13	0,13	0,021
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,13	0,024
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	-
BAL	2,00	4,00	0,707

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

ND < 10².

TABLA 33

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 4 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,25	0,20	0,054
ENTEROCOCOS	0,18	0,18	0,014
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,13	0,015
ANAER. SULFITO REDUCTORES	0,20	0,10	0,033
BAL	20,00 ^A	300,00 ^B	9,405

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 34

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 5 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,35 ^B	0,15 ^A	0,020
ENTEROCOCOS	0,12	0,15	0,035
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,11	0,028
ANAER. SULFITO REDUCTORES	0,04	0,02	0,010
BAL	30,00	30,00	3,593

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 35

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,28 ^B	0,10 ^A	0,016
ENTEROCOCOS	0,10	0,12	0,023
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,13	0,021
ANAER. SULFITO REDUCTORES	4,00	2,50	0,714
BAL	15,00 ^A	55,00 ^B	2,943

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

en las 3 semanas experimentales, indicó aumentos notables en la 4ª y 6ª semanas (>10:1), de modo semejante a lo observado en contenido ileal.

Colon. Si se exceptúa el número de BAL, mayor ($P<0,01$) en el grupo LC en la 4ª y 5ª semanas, no aparecieron diferencias significativas en los restantes microorganismos sometidos a estudio (Tablas 36, 37 y 38). La relación BAL/Coliformes fue mayor para el grupo problema durante todo el período experimental, si bien de forma más acusada en la 5ª semana (6:1).

*** *L. casei***

Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas

(Exp. 2G)

Los resultados de las Tablas 39, 40 y 41 ponen de manifiesto un menor número de coliformes ($P<0,01$) en el contenido ileal cuando el *L. casei* se administraba en agua o en leche, mientras que tanto en ciego ($P<0,05$) como en colon ($P<0,01$) este efecto sólo se produjo en los gazapos que recibieron *L. casei* en leche. En este mismo grupo de animales, se observó un aumento significativo ($P<0,01$) de los enterococos en el contenido ileal y cecal. En todos los tramos intestinales, el número de BAL fue significativamente mayor en los tratamientos problema ($P<0,01$), pero especialmente en el que incluía el *L. casei* en leche. Del mismo modo, la relación BAL/Coliformes fue igualmente más elevada en este grupo.

TABLA 36

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 4 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,15	0,10	0,043
ENTEROCOCOS	0,12	0,15	0,011
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,12	0,024
ANAER. SULFITO REDUCTORES	0,10	0,09	0,020
BAL	100,00 ^A	180,00 ^B	6,177

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 37

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 5 SEMANAS DE EDAD (Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,20	0,10	0,032
ENTEROCOCOS	0,09	0,17	0,024
ESTAFILOCOCOS	0,09	0,10	0,019
ANAER. SULFITO REDUCTORES	0,02	0,02	0,004
BAL	10,00 ^A	30,00 ^B	1,581

¹T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 38

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 6 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 1G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,14	0,12	0,065
ENTEROCOCOS	0,08	0,11	0,011
ESTAFILOCOCOS	0,09	0,12	0,017
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,50	1,00	0,310
BAL	15,00	20,00	2,081

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en agua.

² Error estándar.

Los valores sin letras exponenciales no son significativos.

TABLA 39

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 2G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC _A	LC _L	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	5,00 ^B	0,30 ^A	0,20 ^A	0,528
ENTEROCOCOS	0,10 ^A	0,10 ^A	0,30 ^B	0,030
ESTAFILOCOCOS	0,11	0,12	0,11	0,027
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	0,30 ^A	4,00 ^B	7,00 ^B	0,746

¹ T: Testigo; LC_A y LC_L: *L. casei* administrado en agua o leche, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 40

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 2G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC _A	LC _L	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	1,00 ^b	0,70 ^{ab}	0,40 ^a	0,181
ENTEROCOCOS	0,15 ^A	0,10 ^A	0,40 ^B	0,024
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,11	0,10	0,023
ANAER. SULFITO REDUCTORES	7,00	5,00	5,00	1,054
BAL	6,00 ^A	28,00 ^B	54,00 ^B	2,635

¹ T: Testigo; LC_A y LC_L: *L. casei* administrado en agua o leche, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 41

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC _A	LC _L	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	0,90 ^B	0,50 ^{AB}	0,30 ^A	0,094
ENTEROCOCOS	0,10	0,20	0,20	0,071
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,11	0,11	0,028
ANAER. SULFITO REDUCTORES	2,00	4,00	3,00	0,707
BAL	5,00 ^A	12,00 ^B	20,00 ^C	1,269

¹ T: Testigo; LC_A y LC_L: *L. casei* administrado en agua o leche, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

*** *L. casei* - *Str. faecium* C68****Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas**

(Exp. 3G)

Los datos relativos al estudio microbiológico de carácter comparativo entre *L. casei* y *Str. faecium* C68, se recogen en las Tablas 42, 43 y 44. En ellas, no se apreciaron diferencias significativas en el número de coliformes entre el grupo testigo y los problema. La concentración de enterococos que fue significativamente menor ($P < 0,01$) en el contenido ileal del grupo LC, no se vió afectada por este tratamiento ni en ciego ni en colon. Mientras que el SF68 no pareció influir en el nivel de enterococos del contenido ileal, es en ciego y en colon donde se obtienen valores significativamente más elevados ($P < 0,01$). Ninguna de las BAL utilizadas tuvieron efecto sobre los estafilococos en los tramos intestinales analizados. El grupo SF68 en ciego y colon presentó un aumento significativo ($P < 0,01$) en el número de anaerobios sulfito-reductores. El recuento de BAL únicamente experimentó un incremento significativo en íleon y ciego ($P < 0,01$) y en colon ($P < 0,05$) en los gazapos que recibieron *Str. faecium* C68, lo cual determinó una mejor relación BAL/Coliformes frente al grupo testigo.

*** *L. casei* + *Str. faecium* C68****Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas**

(Exp. 4G)

Las Tablas 45, 46 y 47, reflejan como en relación con el testigo, los grupos con BAL en agua, leche o pienso, manifestaron una reducción significativa en el número de coliformes, en íleon ($P < 0,05$), ciego y colon ($P < 0,01$), observándose en menor concentración en los animales que recibieron

TABLA 42

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* Y *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 3G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC	SF68	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	0,30	0,30	0,20	0,062
ENTEROCOCOS	0,78 ^B	0,10 ^A	1,30 ^B	0,064
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,10	0,09	0,020
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-
BAL	5,00 ^A	6,00 ^A	15,00 ^B	1,224

¹ **T**: Testigo; **LC**: *L. casei*, **SF68**: *Str. faecium* C68, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 43

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* Y *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 3G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC	SF68	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	0,35	0,30	0,20	0,068
ENTEROCOCOS	0,10 ^A	0,10 ^A	1,00 ^B	0,088
ESTAFILOCOCOS	0,12	0,11	0,10	0,017
ANAER. SULFITO REDUCTORES	10,00 ^A	10,00 ^A	30,00 ^B	1,779
BAL	10,00 ^A	8,00 ^A	30,00 ^B	1,666

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 44

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* Y *STR. FAECIUM* C68
 SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
 (Experimento 3G)

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LC	SF68	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g			
COLIFORMES	0,40	0,40	0,20	0,066
ENTEROCOCOS	0,10 ^A	0,10 ^A	1,10 ^B	0,047
ESTAFILOCOCOS	0,13	0,12	0,15	0,019
ANAER. SULFITO REDUCTORES	11,00 ^A	10,00 ^A	25,00 ^B	1,068
BAL	6,00 ^a	5,00 ^a	10,00 ^b	1,471

¹ T: Testigo; LC: *L. casei*, SF68: *Str. faecium* C68, administrados en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 45

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* + *STR. FAECIUM* C68 SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4G)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	L+S _A	L+S _L	L+S _P	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g				
COLIFORMES	0,50 ^b	0,30 ^{ab}	0,20 ^a	0,30 ^{ab}	0,076
ENTEROCOCOS	0,20 ^{ab}	0,10 ^a	0,40 ^b	0,45 ^b	0,083
ESTAFILOCOCOS	0,11	0,14	0,13	0,13	0,015
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	ND	-	-
BAL	4,00 ^A	9,00 ^A	18,00 ^B	20,00 ^B	1,541

¹ T: Testigo; L+S_A, L+S_L y L+S_P: *L. casei* + *Str. faecium* C68, administrados en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente). ND<10².

TABLA 46

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* + *STR. FAECIUM* C68 SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4G)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	L+S _A	L+S _L	L+S _P	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g				
COLIFORMES	1,50 ^C	1,00 ^B	0,35 ^A	0,70 ^{AB}	0,098
ENTEROCOCOS	0,15 ^A	0,20 ^A	0,70 ^B	0,50 ^{AB}	0,100
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,12	0,11	0,10	0,011
ANAER. SULFITO REDUCTORES	10,00 ^C	7,00 ^{BC}	1,00 ^A	5,00 ^{AB}	1,070
BAL	8,00 ^A	12,00 ^A	30,00 ^B	40,00 ^B	2,879

¹ T: Testigo; L+S_A, L+S_L y L+S_P: *L. casei* + *Str. faecium* C68, administrados en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 47

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* + *STR. FAECIUM* C68 SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4G)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	L+S _A	L+S _L	L+S _P	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g				
COLIFORMES	1,30 ^C	0,90 ^B	0,25 ^A	0,30 ^A	0,090
ENTEROCOCOS	0,15	0,15	0,20	0,20	0,057
ESTAFILOCOCOS	0,11	0,11	0,11	0,13	0,014
ANAER. SULFITO REDUCTORES	0,50 ^A	8,00 ^C	2,60 ^{AB}	5,00 ^B	0,592
BAL	5,00 ^A	8,00 ^A	16,00 ^B	18,00 ^B	1,258

¹ T: Testigo; L+S_A, L+S_L y L+S_P: *L. casei* + *Str. faecium* C68, administrados en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

los microorganismos en leche. La concentración de enterococos en todos los segmentos analizados manifestó un ligero incremento cuando se administró *L. casei* + *Str. faecium* C68 en leche o con el pienso. En el ciego se aprecia un descenso de anaerobios sulfito-reductores, sólo significativo ($P < 0.01$) para el tratamiento L+S_L, por el contrario, en el colon se incrementó su tasa en todos los gazapos que recibieron BAL. Este hecho se correspondió con un incremento ($P < 0.01$) de BAL en todos los tramos intestinales de los conejos que recibieron el *L. casei* + *Str. faecium* C68 en leche o incluidos en el pienso. En general, la ratio BAL/Coliformes fue mayor en todos los animales problema, pero de modo más notable en los que recibieron los microorganismos en leche ($> 11:1$).

*** *Str. faecium* CL15**

Flora del íleon, ciego y colon en gazapos de 8 semanas
(Exp. 5G)

Considerados conjuntamente los resultados sobre la flora intestinal (Tablas 48, 49 y 50) no se comprobó efecto alguno del *Str. faecium* CL15 sobre los coliformes y estafilococos. En los enterococos sólo se apreciaron diferencias significativas ($P < 0.01$) en el contenido cecal, siendo menor su número en el grupo testigo. Los anaerobios sulfito-reductores, que no se modificaron por acción del *Str. faecium* CL15 en el íleon y ciego disminuyeron significativamente ($P < 0.01$) en el colon. El número de BAL se incrementó significativamente ($P < 0.01$) en los tres tramos intestinales estudiados. De igual manera, la relación BAL/Coliformes fue mayor en el grupo SF15.

TABLA 48

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 5G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	SF15	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	1,00	0,50	0,221
ENTEROCOCOS	0,10	0,10	0,017
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,10	0,016
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	ND	-
BAL	2,10 ^A	46,00 ^B	0,870

¹ T: Testigo; SF15: *Str. faecium* CL15 administrado en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 49

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 5G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	SF15	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,70	0,50	0,144
ENTEROCOCOS	0,10 ^A	3,50 ^B	0,105
ESTAFILOCOCOS	0,10	0,12	0,011
ANAER. SULFITO REDUCTORES	7,00	5,00	1,154
BAL	0,10 ^A	0,70 ^B	0,052

¹ T: Testigo; SF15: *Str. faecium* CL15, administrado en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 50

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *STR. FAECIUM* CL15 SOBRE LA FLORA DEL COLON EN GAZAPOS DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 5G)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	SF15	ES ²
	x10 ⁴ UFC/g		
COLIFORMES	0,30	0,30	0,102
ENTEROCOCOS	0,10	0,20	0,038
ESTAFILOCOCOS	0,11	0,12	0,016
ANAER. SULFITO REDUCTORES	21,00 ^B	13,00 ^A	1,290
BAL	2,70 ^A	12,00 ^B	0,924

¹ T: Testigo; SF15: *Str. faecium* CL15 administrado en pienso.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

Las modificaciones que determinan las BAL sobre la relación BAL/Coliformes en íleon, ciego y colon de gazapos se recogen en el gráfico 5.

IV.2.3. Lechones

* *L. casei*

Flora rectal en lechones de 5 semanas

(Exp. 1L)

Se observa en la Tabla 51 un descenso significativo ($P < 0,01$) en el número de coliformes. Aún cuando se apreciaron diferencias significativas en el recuento de enterococos, con relación al grupo testigo, los valores obtenidos son muy variables, por lo tanto, no parece aconsejable extraer conclusiones definitivas. Algo similar puede decirse en el recuento de anaerobios sulfito-reductores. La administración de *L. casei* en sus distintas formas (agua, leche o pienso) aumentó de modo significativo ($P < 0,01$) el número de BAL en el recto, lo que demuestra la colonización de todo el tracto intestinal por la cepa de *L. casei* utilizada. Como consecuencia de este aumento, la relación BAL/Coliformes fue más baja en el grupo testigo.

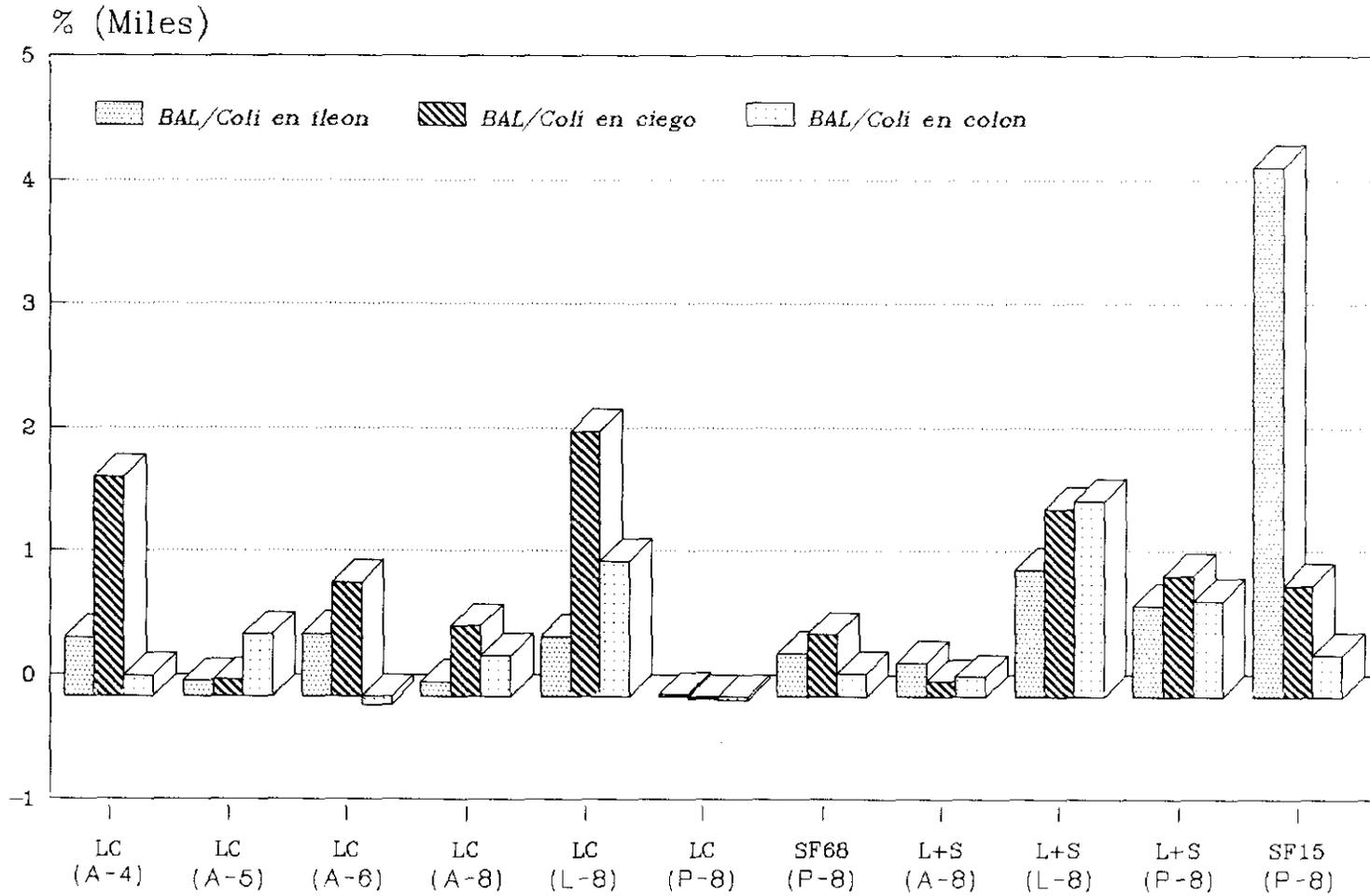
* *L. casei*

Flora del estómago, íleon, ciego y colon en lechones de 6 semanas

(Exp. 2L)

La administración de *L. casei* en leche dió lugar a diferencias de distinto signo según el tramo digestivo analizado (Tablas 52, 53, 54 y 55). Así, en el estómago, el número de coliformes y enterococos ($P < 0,05$) fue menor en el grupo testigo. Los estafilococos y anaerobios sulfito-reductores no se

GRAFICO 5
 BACTERIAS ACIDO-LACTICAS:
 BAL/COLIFORMES INTESTINALES EN GAZAPOS



A:agua;L:leche;P:pienso;4,5,6,8:sem.edad

TABLA 51

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI*
SOBRE LA FLORA DEL RECTO EN LECHONES DE 4 SEMANAS DE EDAD**
(Experimento 1L)

	TRATAMIENTOS ¹				
	T	LC _A	LC _L	LC _P	ES ²
	X10 ⁵ UFC/g				
COLIFORMES	69 ^B	17 ^A	17 ^A	21 ^A	2,389
ENTEROCOCOS	61 ^B	75 ^C	52 ^{AB}	47 ^A	2,614
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	ND	-
ANAER. SULFITO REDUCTORES	7 ^b	2 ^a	6 ^b	7 ^b	1,237
BAL	200 ^A	740 ^B	1000 ^C	1100 ^C	39,015

¹ T: Testigo; LC_A, LC_L y LC_P: *L. casei* administrado en agua, leche o pienso, respectivamente.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 52

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ESTOMAGO EN LECHONES DE 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	0,08 ^a	0,30 ^b	0,050
ENTEROCOCOS	0,10 ^a	0,30 ^b	0,045
ESTAFILOCOCOS	8,00	9,00	0,816
ANAER. SULFITO REDUCTORES	ND	0,03	-
BAL	1300 ^A	17000 ^B	206,740

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b,) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

ND<10².

TABLA 53

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN LECHONES DE 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	58 ^B	49 ^A	1,471
ENTEROCOCOS	7	9	2,041
ESTAFILOCOCOS	7	10	1,224
ANAER. SULFITO REDUCTORES	10	10	1,040
BAL	9680 ^B 1	4700 ^A	179,907

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 54

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN LECHONES DE 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	105 ^B	86 ^A	2,198
ENTEROCOCOS	4	5	0,912
ESTAFILOCOCOS	7	6	1,384
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1	1	0,175
BAL	2030 ^a	2560 ^b	115,470

¹ **T**: Testigo; **LC**: *L. casei* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 55

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. CASEI* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN LECHONES DE 6 SEMANAS DE EDAD (Experimento 2L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LC	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	98,0 ^B	38,0 ^A	4,966
ENTEROCOCOS	6,0	9,0	0,912
ESTAFILOCOCOS	0,1	0,2	0,040
ANAER. SULFITO REDUCTORES	10,0	10,0	1,118
BAL	3060 ^b	2330 ^a	147,422

¹ T: Testigo; LC: *L. casei* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

modificaron. Y las BAL por el contrario, aumentaron ($P < 0,01$) extraordinariamente en el grupo problema. La relación BAL/Coliformes en este último grupo fue más elevada.

A diferencia de lo expuesto para el estómago, en el íleon, en el ciego y en el colon, el número de coliformes en el grupo LC fue significativamente menor ($P < 0,01$). Los enterococos, estafilococos y anaerobios sulfito-reductores no experimentaron cambios. Sin embargo, de un modo sorprendente mientras el número de BAL fue menor en el íleon ($P < 0,01$) y en el colon ($P < 0,05$), el análisis del contenido cecal puso en evidencia una mayor concentración de BAL ($P < 0,05$). Únicamente en íleon la relación BAL/Coliformes fue mayor en el grupo testigo.

*** *L. acidophilus***

**Flora del íleon, ciego y colon en lechones de 8 semanas
(Exp. 3L)**

El análisis de los resultados microbiológicos (Tablas 56, 57 y 58), demuestra una reducción significativa en el número de coliformes ($P < 0,01$) en íleon y colon. En los tres tramos intestinales se aprecia un aumento de mayor o menor significación en la concentración de enterococos, la ausencia de diferencias valorables en estafilococos y anaerobios sulfito-reductores, un incremento significativo ($P < 0,01$) en la concentración de BAL, así como una relación BAL/Coliformes notablemente superior, cuando se administró *L. acidophilus* en leche.

TABLA 56

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* SOBRE LA FLORA DEL ILEON EN LECHONES DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 3L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LA	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	17 ^B	12 ^A	0,816
ENTEROCOCOS	8 ^A	14 ^B	0,912
ESTAFILOCOCOS	10	12	1,414
ANAER. SULFITO REDUCTORES	5	3	0,637
BAL	202 ^A	1668 ^B	53,757

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores son distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 57

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* SOBRE LA FLORA DEL CIEGO EN LECHONES DE 8 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 3L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LA	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	12	9	0,912
ENTEROCOCOS	6 ^a	10 ^b	0,912
ESTAFILOCOCOS	8	10	1,154
ANAER. SULFITO REDUCTORES	17	19	0,889
BAL	1809 ^A	3500 ^B	145,261

¹ **T:** Testigo; **LA:** *L. acidophilus* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 58

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* SOBRE LA FLORA DEL COLON EN LECHONES DE 8 SEMANAS DE EDAD (Experimento 3L)

	TRATAMIENTOS ¹		
	T	LA	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g		
COLIFORMES	86,0 ^B	73,0 ^A	1,732
ENTEROCOCOS	13,0 ^A	160,0 ^B	4,636
ESTAFILOCOCOS	0,5	0,4	0,095
ANAER. SULFITO REDUCTORES	11,0	12,0	0,978
BAL	613,0 ^A	4573,0 ^B	61,762

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus* administrado en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

* ***L. acidophilus* - *Str. faecium* CL15**
Flora del íleon, ciego y colon en lechones de 5 y 9 semanas
(Exps. 4L y 5L)

5 semanas. De acuerdo con los resultados de las Tablas 59, 60 y 61, la administración de *L. acidophilus* en leche redujo significativamente ($P<0,01$) la concentración de coliformes en íleon y ciego, por el contrario *Str. faecium* CL15 no sólo no disminuyó el recuento de coliformes registrado en el grupo testigo y que fue observado en otros experimentos, sino que en algunos casos, como en ciego y colon, el número de coliformes fue significativamente más elevado ($P<0,01$). Algo similar puede decirse en cuanto al nivel de enterococos, que fue significativamente superior ($P<0,01$) en el ciego y el colon de los grupos a los que se administró BAL. Respecto a los anaerobios sulfito-reductores, en los tres tramos intestinales estudiados, su número fue significativamente más elevado ($P<0,01$) en el grupo testigo. Las BAL aumentaron significativamente ($P<0,01$) en los grupos problema, y dentro de ellos la relación BAL/Coliformes fue superior en el tratamiento LA.

9 semanas. Los resultados de las Tablas 62, 63 y 64 coinciden sólo en parte con los obtenidos a las 5 semanas de edad, así en lo que se refiere a los coliformes sólo en colon el *L. acidophilus* redujo significativamente ($P<0,01$) su concentración. Con respecto a los enterococos y anaerobios sulfito-reductores, las variaciones significativas tienen la misma tendencia reseñada en la 5ª semana. Por el contrario, el número de estafilococos aumentó significativamente ($P<0,01$) en el contenido ileal y cecal. En los tres tramos intestinales el recuento

TABLA 59

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL ILEON
EN LECHONES DE 5 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	15,0 ^B	9,0 ^A	17,0 ^B	1,024
ENTEROCOCOS	17,0 ^B	14,0 ^B	8,0 ^A	0,841
ESTAFILOCOCOS	10,0 ^b	8,0 ^{ab}	6,0 ^a	1,000
ANAER. SULFITO REDUCTORES	7,0 ^B	0,9 ^A	0,1 ^A	0,417
BAL	120,0 ^A	4200,0 ^C	620,0 ^B	40,007

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15 administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales (A,B,C; a,b) en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01; P<0,05, respectivamente).

TABLA 60

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL CIEGO
EN LECHONES DE 5 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	128,0 ^B	76,0 ^A	174,0 ^C	1,961
ENTEROCOCOS	13,0 ^A	183,0 ^B	214,0 ^C	2,674
ESTAFILOCOCOS	84,0 ^C	21,0 ^A	42,0 ^B	2,896
ANAER. SULFITO REDUCTORES	5,0 ^B	0,7 ^A	ND	0,625
BAL	8500 ^A	12800 ^B	16300 ^C	505,525

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15 administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 61

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL COLON
EN LECHONES DE 5 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 4L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	67,0 ^A	66,0 ^A	92,0 ^B	1,998
ENTEROCOCOS	75,0 ^A	241,0 ^C	139,0 ^B	7,443
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	-
ANAER. SULFITO REDUCTORES	6,0 ^C	2,5 ^B	0,1 ^A	0,534
BAL	20800,0 ^A	29600 ^B	28000 ^B	406,334

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15 administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

TABLA 62

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL ILEON
EN LECHONES DE 9 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 5L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	27,00	19,00	25,00	3,205
ENTEROCOCOS	34,00 ^A	45,00 ^B	47,00 ^B	1,705
ESTAFILOCOCOS	10,00 ^A	33,00 ^B	36,00 ^B	1,201
ANAER. SULFITO REDUCTORES	1,60 ^B	0,06 ^A	0,07 ^A	0,074
BAL	200,00 ^A	9200,00 ^C	800,00 ^B	25,276

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 63

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL CIEGO
EN LECHONES DE 9 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 5L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	208,0 ^A	154,0 ^A	320,0 ^B	15,284
ENTEROCOCOS	26,0 ^A	384,0 ^B	750,0 ^C	28,543
ESTAFILOCOCOS	129,0 ^A	690,0 ^C	300,0 ^B	15,987
ANAER. SULFITO REDUCTORES	4,0 ^B	0,2 ^A	ND	0,236
BAL	16000 ^A	25600 ^C	22000 ^B	410,284

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en leche.

² Error estándar.

Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

TABLA 64

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE *L. ACIDOPHILUS* Y
STR. FAECIUM CL15 SOBRE LA FLORA DEL COLON
EN LECHONES DE 9 SEMANAS DE EDAD
(Experimento 5L)**

	TRATAMIENTOS ¹			
	T	LA	SF15	ES ²
	x10 ⁵ UFC/g			
COLIFORMES	154,0 ^B	128,0 ^A	160,0 ^B	5,307
ENTEROCOCOS	190,0 ^A	606,0 ^B	398,0 ^B	27,284
ESTAFILOCOCOS	ND	ND	ND	-
ANAER. SULFITO REDUCTORES	5,2 ^C	2,3 ^B	0,1 ^A	0,066
BAL	24000 ^A	57200 ^C	50500 ^B	548,229

¹ T: Testigo; LA: *L. acidophilus*, SF15: *Str. faecium* CL15, administrados en leche.

² Error estándar.

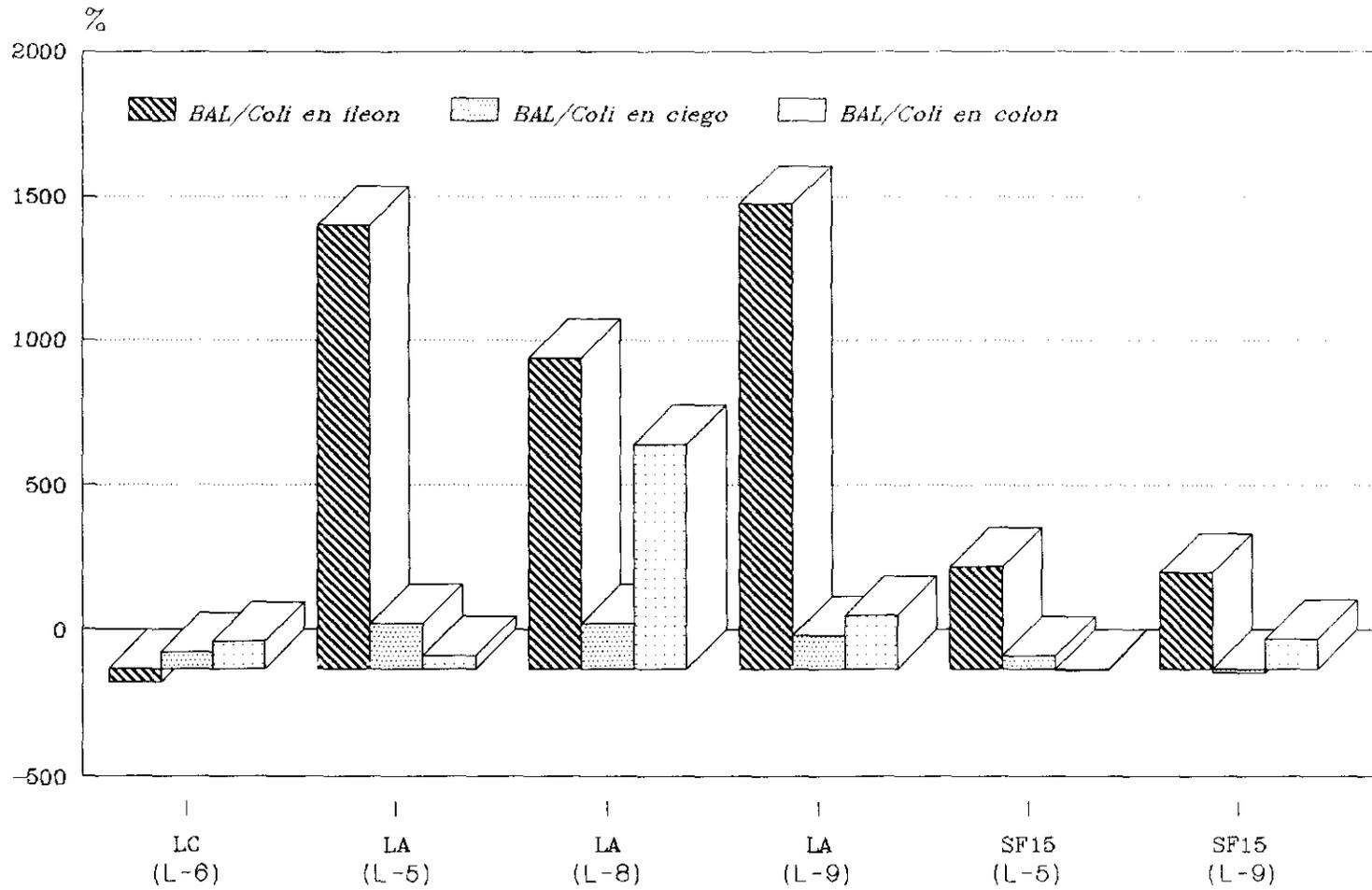
Los valores con distintas letras exponenciales en la misma fila son significativamente diferentes (P<0,01).

ND<10².

de BAL y la relación BAL/Coliformes fue superior en los grupos problema, y de modo especial en los lechones del tratamiento LA.

Los efectos de las BAL sobre la relación BAL/Coliformes en íleon, ciego y colon de lechones, se expresan en el gráfico 6.

GRAFICO 6
 BACTERIAS ACIDO-LACTICAS:
 BAL/COLIFORMES INTESTINALES EN LECHONES



L:leche; 5,6,8,9:sem. edad

V. DISCUSSION

V. DISCUSION

Antes de iniciar la discusión de los resultados expuestos, parece oportuno recordar que las comparaciones con los datos obtenidos por otros autores han de considerarse como meramente aproximativas, ya que resulta difícil establecer analogías entre cepas distintas de microorganismos utilizadas por unos u otros investigadores, supuesto que su especificidad y capacidad de adherencia a la superficie epitelial son factores principales en la respuesta o efecto estimulante de cualquier BAL susceptible de colonizar o implantarse en el tracto digestivo, hasta el punto que Pedersen y Tannock (1989) consideran esta adherencia como un requisito imprescindible para la colonización y el establecimiento del equilibrio microbiano deseado. De cualquier forma, la adherencia a la pared celular del epitelio es un fenómeno extraordinariamente complejo para ser tratado en esta discusión (Fuller y Brooker, 1974; Pedersen y Tannock, 1989; Henriksson *et al.*, 1991).

Los datos que hemos obtenido sobre el crecimiento de los animales (pollos, gazapos y lechones) y la eficiencia nutritiva del pienso, coinciden en unos casos, divergen en otros, de los que ofrece la bibliografía. Así, mientras la administración de *L. casei* o de *L. acidophilus* no dio lugar a diferencias significativas en el crecimiento de los pollos, lo que coincide con lo referido por Burkett *et al.* (1977), Dilworth y Day (1978), Watkins y Kratzer (1983), Buenrostro y Kratzer (1983) y Fethiere y Miles (1987), otros autores, por el contrario, han

comprobado un aumento en la ganancia de peso (1,3-10 %) al adicionar *L. acidophilus* en el agua de bebida (Tortuero, 1973; Couch, 1978; Dennis 1987a). Estos autores, junto con Fox (1988) registraron asimismo una mejora en la eficiencia nutritiva (4-6 %), similar a la obtenida en nuestras investigaciones. En otro aspecto, la respuesta de los pollos a la administración de *Str. faecium* C68 o CL15 se corresponde con lo referido por Roth y Kirchgebner (1986) y Burkett *et al.* (1977), quienes utilizando una cepa distinta de *Str. faecium*, observaron una mejora en la eficiencia nutritiva del pienso. Por otra parte, tanto Tortuero *et al.* (1989) utilizando *Str. faecium* CL15 o una mezcla de *L. acidophilus* + *Str. faecium* C68, como Owings *et al.* (1990) con *Str. faecium* M74 advirtieron una mejora significativa de la eficiencia nutritiva, y de la ganancia de peso de los pollos.

Con respecto a los gazapos, el aumento registrado en la ganancia de peso (4 %) al administrar *L. casei* en el pienso, se corresponde con los resultados referidos por Hollister *et al.* (1989). De igual manera, y en relación al *Str. faecium* C68 y CL15, nuestros datos están en la misma línea que los obtenidos por Piva (1981) y Lacza-Szabo *et al.* (1990), aún cuando estos autores emplearon la cepa M74 a dosis menor que la utilizada por nosotros. Un hecho a destacar y que está en concordancia con Hollister y Hollister *et al.* (1990) es que la administración conjunta de *L. casei* + *Str. faecium* C68 dió lugar a una respuesta más favorable a la obtenida con el *L. casei*, aisladamente.

El efecto de las BAL en los lechones muestra algunas diferencias respecto a lo consignado en las otras especies animales. Pero de las conclusiones que puedan deducirse, acaso una de las más importantes, coincidente con Pollman *et al.* (1980b) y Jonsson y Conway (1992), es la que se refiere al hecho de que cuando las BAL se vehiculan en leche, el efecto es más intenso que cuando se adicionan al agua o al pienso y de igual manera aquella otra que hace referencia a que la respuesta positiva es más evidente cuanto más joven es el animal, lo que ha sido confirmado en nuestro trabajo. Respecto al *L. acidophilus* de origen porcino, nuestros datos se mueven en los términos reseñados por Olsson (1961), Redmond y Moore (1965), Baird (1977), Hale y Newton (1979) y Arnaboldi *et al.* (1984). Por el contrario, otros investigadores (Jonsson, 1985; Kornegay, 1986; Scipioni *et al.*, 1988; Cupere *et al.*, 1992; Yuste *et al.*, 1992) no han observado resultados positivos a nivel de explotación. Estos últimos autores administraron los lactobacilos en cantidad muy superior a la utilizada por nosotros. Estas diferencias en la dosificación pueden tener importancia en la respuesta de los animales como veremos posteriormente. La respuesta de los lechones a la administración de *Str. faecium*, se corresponde con lo descrito por Cerchiari (1978), Sarra *et al.* (1981), Gualteri y Betti (1984), Danêk (1986) y Wu *et al.* (1987), para cepas diferentes de este microorganismo, registrando este último autor un efecto positivo proporcional a la dosificación. No obstante, la bibliografía ofrece gran variabilidad de resultados para las cepas de *Str. faecium*. Así, mientras Maeng *et al.* (1989) sólo observaron aumentos significativos en la ganancia en peso, Cupere *et al.* (1992) únicamente encuentran ese efecto

favorable en la eficiencia nutritiva y Kluber *et al.* (1985) no apreciaron efectos sobre cualquiera de los dos parámetros enunciados.

De acuerdo pues, con lo expuesto en los párrafos anteriores, parece deducirse que la administración de BAL a los animales no siempre determina una respuesta favorable. Por tanto, explicar o intentar una explicación del efecto positivo de las BAL, a la luz de los conocimientos actuales, no resulta fácil. En la bibliografía la mayor parte de los autores fundamentan esta acción a través de los mecanismos que se potencian en el organismo para disminuir las situaciones o estados de estrés (Moberg, 1987; Vanbelle *et al.*, 1989; Fernandes y Shahani, 1990; Gilliland, 1990; Fuller, 1992; Smoragiewicz *et al.*, 1993) y prevenir las diarreas en los animales recién nacidos (Gilliland y Speck, 1977; Rammelsberg y Radler, 1990; Montes, 1993). Moberg (1987) confirmando lo ya manifestado por Smith (1965), Tannock (1983) y Monnier y Desbals (1985) observó que cuando a un animal se le sometía a estrés experimental (estrés nutritivo, ambiental o emocional), se desencadenaban importantes cambios en su flora intestinal que afectaban principalmente a los gérmenes anaerobios (incluidos los lactobacilos), con una notable disminución de los mismos. Esta disminución está condicionada por un descenso en la secreción de mucina, privando a las bacterias anaerobias de su fuente de energía y facilitando en cambio el aumento exacerbado en el número de coliformes.

Un hecho observado en nuestras investigaciones y que conviene destacar es que la mejora en crecimiento de los animales tras la administración de BAL, era más ostensible en las primeras edades o después del destete, que en los animales de más edad, lo que ya ha sido manifestado por Dilworth y Day (1978), Nielsen *et al.* (1988), Porter y Allen (1989). En este sentido, Pedersen y Tannock (1989) advierten que en el adulto, los nichos correspondientes a los lactobacilos intestinales estarían ocupados por la flora indígena o autóctona de modo que la colonización permanente de una cepa de BAL administrada requiere el desplazamiento de la ya existente, que en el caso del animal adulto resulta difícil de inducir. En cambio, si al recién nacido que posee una flora microbiana todavía inestable, se le administran BAL inmediatamente después del nacimiento, y de forma continuada en los días posteriores, las *nuevas* bacterias establecerán competencia con las restantes en los nichos intestinales, asegurando así una alta concentración de BAL en el tracto digestivo.

En la explicación del efecto favorable de las BAL se han esgrimido argumentos diversos y de modo especial aquellos relacionados con los cambios en la flora intestinal y el aumento en la utilización de nutrientes. De acuerdo con Pedersen y Tannock (1989) las modificaciones experimentadas en la flora intestinal, como consecuencia de la administración de cultivos específicos de BAL, evitarían alteraciones en el equilibrio de la flora digestiva que, a su vez, serían causa de variaciones en el crecimiento y la eficiencia nutritiva.

La relación entre el efecto favorable de las BAL y los cambios en la flora intestinal, es un hecho consignado por Underdahl *et al.* (1983), Danêk (1986), Fuller (1992) y Chateau *et al.* (1993) entre otros. De acuerdo con nuestras propias observaciones, puede indicarse que no aparece una relación directa y constante entre la ganancia de peso y las variaciones que para determinados grupos bacterianos se aprecian en la flora intestinal, excepto la relación BAL/Coliformes que siempre aparece incrementada en términos muy amplios tanto al administrar lactobacilos como estreptococos (Piva, 1979, 1981; Wadstrom, 1984).

El aumento en el número de lactobacilos de la flora intestinal, que se origina al administrar cepas determinadas de BAL, puede considerarse como la primera manifestación de éxito en la colonización y posible adherencia al epitelio intestinal, contribuyendo a explicar los resultados favorables de la administración de BAL. Ahora bien, ¿cuál es el efecto o los efectos que se derivan del aumento en los lactobacilos sobre el resto de la flora intestinal o sobre la utilización ulterior de los compuestos nutritivos y no nutritivos de los alimentos?. De acuerdo con Fuller, (1992) es importante diferenciar si la administración de BAL determina un aumento en la población de lactobacilos indígenas o bien si el incremento observado se debe a la colonización y multiplicación en el área intestinal de los propios lactobacilos administrados. Estos, de conformidad con lo expuesto por numerosos investigadores, establecerían una acción antagónica sobre algunas agrupaciones microbianas y, de modo principal sobre los

coliformes (Tortuero, 1973; Tagg, 1976; Fuller, 1977, 1992; Muralidhara *et al.*, 1977; Francis, 1978; Piva *et al.*, 1979, 1981; Sarra *et al.*, 1981; Watkins *et al.*, 1983; Jernigan *et al.*, 1984; Wadstrom, 1984; Scipioni *et al.*, 1988; Perdigon *et al.*, 1991; Chateau *et al.*, 1993). Según Apella *et al.* (1992), este efecto antagónico o inhibidor no sería consecuencia del descenso en el pH intestinal o de cambios en la producción de ácidos orgánicos por los lactobacilos, sino más bien por sustancias inhibidoras (antibióticos) extracelulares y difusibles producidas por los lactobacilos, y que son activas frente a numerosos microorganismos Gram- (Tagg *et al.*, 1976). Esta hipótesis podría explicar, en parte, la diferente respuesta obtenida en ambientes *nuevos* y *viejos*, como observó Tortuero (1973). De modo que la variabilidad en la respuesta estaría condicionada al microbismo de la propia explotación.

En todo caso, las BAL difieren de su acción antagónica entre unas y otras cepas. Tortuero (1973) y Johansson *et al.* (1993) han encontrado cierta relación entre el efecto aditivo de las BAL y una disminución de los enterococos. Sin embargo, Cupere *et al.* (1992) no observó diferencias significativas en el recuento de coliformes, enterococos ni lactobacilos al administrar *L. acidophilus*. Gilliland y Speck (1977b) llegaron a la conclusión de que en las aves las bacterias Gram+ (*Clostridium perfringens*) son más sensibles que las Gram- (*E. coli*) a la inhibición ejercida por los *L. acidophilus*. En nuestro estudio sobre flora intestinal y BAL, no hemos apreciado cambios dignos de mención respecto a la concentración de gérmenes del grupo *Clostridium*. Más aún, supuesto que cada

especie animal tiene una flora intestinal bien diferenciada y específica (Havenaar y Huis, 1992), las posibles hipótesis dirigidas a explicar la relación de la flora intestinal con el efecto estimulante sobre crecimiento, han sido muy variadas, y no siempre aceptables. Así, no es posible establecer una relación constante entre el descenso en los anaerobios sulfito-reductores y el efecto positivo de las BAL, cuando la población de anaerobios en las aves es muy baja (Muralidhara *et al.*, 1977), como hemos podido comprobar en íleon y ciegos de los pollos de 8 semanas y en el contenido ileal de los gazapos.

Watkins *et al.* (1982), Fuller (1986) y Rodtong *et al.* (1993) intentan explicar la acción de la flora implantada por la producción de metabolitos bacterianos (ácidos orgánicos) que reducirían el pH intestinal en los primeros tramos del tracto digestivo. Sin embargo, este descenso de pH no parece ser para Gilliland y Speck (1977b) el responsable del antagonismo ejercido sobre los gérmenes patógenos, sugiriendo que la inhibición estaría más vinculada a factores asociados a la producción de ácido láctico o a las condiciones de acidez que potenciarían la actividad de los factores inhibitorios. En esta idea Hentges (1983) pone en tela de juicio la acción directa de los ácidos orgánicos producidos por las BAL sobre el control de las bacterias patógenas intestinales.

Otros factores determinantes del efecto estimulante de las BAL en el animal, y que hemos esbozado reiteradamente, son los relacionados con la especificidad, capacidad de adherencia y dosificación de la cepa utilizada. Si las

BAL no colonizan y se adhieren al epitelio intestinal, los resultados son imprevisibles. A su vez, la adherencia de las bacterias al epitelio gastrointestinal requiere un alto grado de especificidad de las mismas (Fuller, 1978; Wesney y Tannock, 1979; Barrow *et al.*, 1980). Sin embargo, se han registrado algunas excepciones a esta especificidad. Así, lactobacilos aislados de pollos son capaces de adherirse al epitelio escamoso del lechón (Tannock *et al.*, 1982). Y Jonsson (1986) advierte que especies de lactobacilos con buena adherencia en el intestino del cerdo no siempre colonizan su epitelio intestinal. Por otra parte, algunas bacterias esporuladas colonizan el contenido intestinal, no se adhieren al epitelio y son capaces de ejercer el efecto estimulante. Esta es la razón por la que mientras las BAL que se adhieren al epitelio pueden administrarse cada 2-3 días, las que no tienen capacidad de adherencia han de administrarse diariamente. Por ello, diversos autores (Cole y Fuller, 1984; Fox, 1988; Tournut, 1989) afirman que una sola dosis alta (10^9 UFC) a lechones recién nacidos puede ser suficiente para obtener resultados positivos. Sin embargo, Pedersen y Tannock (1989) estiman que en animales mayores la duración del tratamiento a dosis altas debe de ser prolongado (1-2 meses) para que exista una verdadera implantación y las BAL colonicen la capa externa de las vellosidades intestinales. La dosificación es tan importante que, según Dennis (1987b), si la cantidad de BAL administrada es excesiva los resultados no sólo no son favorables sino negativos.

Soslayando las hipótesis emitidas anteriormente en las que hemos relacionado el efecto estimulante de las BAL administradas con los cambios que pueden acontecer en la flora intestinal parece más aceptable explicar el efecto positivo de las BAL por su influencia sobre la utilización de nutrientes o sobre el metabolismo de los productos finales de origen proteico. En este sentido, los resultados obtenidos por Martín (1992) parecen concluyentes y a ellos vamos a referirnos de modo más extenso. Es de advertir no obstante, que en las investigaciones de este autor se utilizaron piensos en los que se había sustituido el maiz por cebada. Pero, en cualquier caso, es asumible que una gran parte de los efectos encontrados tienen plena validez para explicar la respuesta positiva de los animales a la administración de BAL. Martín (1992) comprobó en primer lugar un aumento en los valores de energía metabolizable de las raciones y una mejora significativa en la digestibilidad del almidón de la cebada al administrar a los pollos una mezcla de *L. acidophilus* + *Str. faecium*. Sobre la acción de los lactobacilos en la digestibilidad del almidón Szylit (1978) había sugerido la capacidad amilolítica de estas bacterias y Champ *et al.* (1981) advirtieron una mayor degradación del almidón de maiz en las aves con una flora intestinal íntegra frente a aquellas otras libres de gérmenes. Otros autores (Hutanen y Pensack, 1965; Boyd y Edwards, 1967) admiten que la flora intestinal puede modificar la digestibilidad de la grasa, y Tortuero (1973) al comprobar un aumento en la digestibilidad de la grasa cuando adicionaba al agua de bebida *L. acidophilus* + *L. casei* relacionó el incremento en la ganancia de peso en la primera semana de edad de los pollos con la inhibición parcial del síndrome de

malabsorción de la grasa que suele acontecer entre los 4 y 8 primeros días de vida. Asimismo, Martín (1992) ha comprobado una mayor digestibilidad de la grasa y de los aminoácidos al adicionar *Str. faecium* o una mezcla de *L. acidophilus* + *Str. faecium*. Al mismo tiempo encontró una mejor absorción del calcio, lo que posteriormente sería corroborado por Tortuero (datos sin publicar, 1994) en ponedoras. El efecto de las BAL sobre la absorción de calcio sería consecuencia del descenso en el pH intestinal lo que facilitaría la absorción de este mineral.

Por otra parte, y en relación con el metabolismo del N a nivel de intestino grueso, Scheuermann (1993) ha observado un incremento en la retención de nitrógeno acompañado de una reducción de urea en sangre, cuando administró *Bacillus* 5832 a los lechones, considerando estos resultados como indicativos de uno de los mecanismos de acción de las BAL y una de las líneas de investigación más sugestivas para explicar la respuesta favorable a la utilización de BAL como aditivos biológicos.

Cuantificar el efecto de las BAL como estimulantes del crecimiento es prácticamente imposible, ya que la respuesta depende, según se ha mencionado, de un amplio espectro de variables de índole genético, alimenticio y ambiental (Muralidhara *et al.*, 1977; Savage, 1983; Costerton *et al.*, 1983; Fox, 1988). Esta dependencia extrínseca condiciona una amplia gama de respuestas a la administración de BAL (Fuller, 1989). Así, en explotaciones con desinfección

programada y óptimas condiciones ambientales, los efectos sobre el crecimiento siempre serán menores que en las que el hacinamiento, la ventilación y la temperatura sean inadecuadas (Riise, 1986).

La utilización de microorganismos como aditivos para los piensos ha aumentado de modo notable en los últimos años. Razones diversas, como la protección de los gérmenes frente a condiciones adversas, la obtención de nuevas cepas, etc. han permitido este sensible incremento. No es por tanto una utopía aventurar que en un futuro próximo, la aplicación de la Biotecnología y la Genética, como ya afirmara McCarthy *et al.* en 1988, permitan no sólo disponer de nuevas cepas con alta capacidad de adherencia, válidas para cualquier especie animal, sino influir en la propia actividad del intestino (enzimática, inmunitaria, antibiótica).

Al iniciar el estudio bibliográfico, recordamos a Metchnikoff como progenitor de la flora intestinal indígena. Las palabras finales de esta memoria han de ser un homenaje a este investigador, que en los albores de nuestro siglo introdujo un nuevo concepto de la microflora láctica.

VI. RESUMEN

VI. RESUMEN

Con el fin de determinar los efectos de la administración oral de bacterias ácido-lácticas sobre el crecimiento y la flora intestinal de animales jóvenes, se han llevado a cabo 14 experimentos en pollos, gazapos y lechones.

En aves se han realizado cuatro pruebas experimentales, con un total de 375 pollos de estirpe Cobb, de 1 ó 28 días de edad, a los que se administraron diariamente, bien en el agua de bebida o en el pienso, monocultivos o cultivos mixtos de bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* Cernelle 68, *Streptococcus faecium* CL15 y una mezcla de *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*). Los resultados obtenidos han demostrado que únicamente en los pollos que recibieron *Streptococcus faecium* Cernelle 68 en el pienso, desde la 4ª a la 8ª semana de vida, aumentó significativamente la ganancia de peso (7,8 %). Las restantes cepas de bacterias ácido-lácticas utilizadas no tuvieron efecto favorable sobre el crecimiento, más aún la ganancia de peso fue menor. Por el contrario, la eficiencia nutritiva mejoró tras la administración de los distintos microorganismos, excepto cuando se adicionó en el pienso una mezcla de *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*. Esta mejora de la eficiencia nutritiva del pienso fue más evidente cuando se administraron el *Streptococcus faecium* Cernelle 68 ó el CL15 a animales de 0 a 3-4 semanas de edad (6-18

%). El estudio microbiológico del contenido intestinal puso de manifiesto que la administración de los distintos microorganismos dió lugar a un aumento importante en las bacterias ácido-lácticas tanto en el íleon (47->1000 %) como a nivel de ciegos (23-360 %). Sin embargo, no siempre se apreció una reducción constante en el número de coliformes. La relación bacterias ácido-lácticas/coliformes aumentó especialmente en el contenido ileal (21->1500 %).

En gazapos se programaron cinco pruebas experimentales, en las que se emplearon 240 conejos recién destetados, raza Neozelandesa, de 3 ó 4 semanas de edad. Los animales recibieron diariamente bien en el pienso, en agua o en leche, cepas aisladas de *Lactobacillus casei* o *Streptococcus faecium* (Cernelle 68 o CL15) o bien una mezcla de *Lactobacillus casei* + *Streptococcus faecium* Cernelle 68. Excepto cuando el *Lactobacillus casei* se administró en el agua desde la 4ª a la 8ª semana de edad, para los restantes microorganismos se observó una respuesta favorable de la ganancia de peso, especialmente en los animales a los que se administró en el pienso *Streptococcus faecium* CL15 desde la 4ª a la 8ª semana de vida (13 %). La eficiencia nutritiva mejoró en todos los casos por la administración de las distintas bacterias ácido-lácticas, y de modo especial como observáramos en el crecimiento, en los gazapos que tomaron *Streptococcus faecium* CL15 (7 %). La administración conjunta de *Lactobacillus casei* + *Streptococcus faecium* Cernelle 68 mejoró los resultados observados al administrar *L. casei* aisladamente. El análisis microbiológico intestinal puso de manifiesto, que excepto la adición al pienso de *Lactobacillus*

casei, todos los microorganismos utilizados originaron un incremento en el número de bacterias ácido-lácticas en íleon (11-650 %), ciego (50-1000 %) y colon (17-344 %), lo que determinó en general una reducción de coliformes en íleon (10-96 %), ciego (14-77 %) y colon (14-81 %). Con algunas excepciones, la relación bacterias ácido-lácticas/coliformes aumentó notablemente en todos los tramos intestinales analizados (20-4.200 %).

En los cinco experimentos realizados en cerdos se utilizaron 126 lechones, Large-White, recién destetados, de 3, 4 ó 5 semanas de vida. En cada experimento se administraron, aisladamente, concentrados de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* o *Streptococcus faecium* CL15. No se observó respuesta favorable a la administración de *Lactobacillus casei*, excepto cuando el lactobacilo se vehiculó en leche, tanto a las 4 como a las 6 semanas de edad; el efecto positivo, no obstante, no fué significativo. La administración de *Lactobacillus acidophilus* o de *Streptococcus faecium* CL15 en leche, determinó una mejora en la eficiencia nutritiva del pienso (5-9 % y 7-10 % respectivamente) y de la ganancia de peso, siendo ésta más evidente a las 5 semanas de edad (33 y 35 % respectivamente). El estudio microbiológico del contenido intestinal, puso de manifiesto que la administración de *Lactobacillus casei* sólo determinó un aumento de bacterias ácido-lácticas a nivel cecal, observándose un descenso de los lactobacilos en íleon y colon. Mientras el *Lactobacillus acidophilus* o el *Streptococcus faecium* CL15 originaron un incremento en el número de bacterias ácido-lácticas en íleon (300->1.000 %), ciego (37-93 %) y colon (35-650 %). El

número de coliformes se redujo en íleon (15-40 %), ciego (18-41 %) y colon (2-61 %) excepto en los animales que tomaron *Streptococcus faecium* CL15 en leche desde la 3ª a la 9ª semana de vida. Salvo algunas excepciones (íleon del tratamiento *Lactobacillus casei* y ciego y colon del *Streptococcus faecium* CL15), la relación bacterias ácido-lácticas/coliformes aumentó (58->1.000 %) en los tramos intestinales estudiados de los lechones que recibieron microorganismos lácticos.

A modo de resumen general, es posible afirmar que determinadas cepas de bacterias ácido-lácticas, administradas en agua o leche, o adicionadas al pienso, parecen favorecer el crecimiento de los gazapos y lechones. Tanto en estas especies animales, como en los pollos, la administración de estos microorganismos mejora la eficiencia nutritiva del pienso. Y a nivel intestinal originan un incremento de la relación bacterias ácido-lácticas/coliformes.

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que se ha determinado la respuesta de diferentes bacterias ácido-lácticas sobre el crecimiento, eficiencia nutritiva y flora intestinal de pollos, gazapos y lechones, es posible extraer las siguientes *conclusiones*:

1. En los **pollos**, la adición de bacterias ácido-lácticas (*L. casei*, *L. acidophilus*, *Str. faecium* C68 y CL15 o una mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei*+ *L. acidophilus*) al pienso o al agua de bebida, no dió lugar a una mejora apreciable en la ganancia de peso. La eficiencia nutritiva del pienso, por el contrario, experimentó una mejora sensible por la adición de microorganismos, excepto cuando se administró la mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus*.
2. En los **gazapos**, la utilización de *Str. faecium* C68, CL15 o *L. casei* + *Str. faecium* C68 en el pienso, agua o leche, supuso un aumento en la ganancia de peso, mientras el *L. casei* administrado aisladamente no tuvo efectos sobre el crecimiento. La eficiencia nutritiva del pienso mejoró por la administración de todas las bacterias.
3. En los **lechones**, la administración de *L. acidophilus* o *Str. faecium* CL15 dió lugar a un aumento en la ganancia de peso, siendo este efecto tanto

mayor cuanto más jóvenes eran los animales. El *L. casei*, por el contrario, no tuvo influencia sobre el crecimiento. La eficiencia nutritiva del pienso se vió mejorada por la administración de estas bacterias.

4. El análisis microbiológico del contenido ileal y cecal en los **pollos**, o del íleon, ciego y colon en **gazapos** y **lechones** puso de manifiesto que la administración de *L. casei*, *L. acidophilus*, *Str. faecium* C68 ó CL15, *L. casei* + *Str. faecium* C68 o una mezcla de *Str. faecium* + *L. helveticus* + *L. casei* + *L. acidophilus* aumentaban el número de bacterias ácido-lácticas especialmente en el íleon, aumento que no siempre se correspondió con un descenso de coliformes. Sin embargo, en todos los casos, la relación bacterias ácido-lácticas/coliformes fue mayor en los grupos problema.

VIII. BIBLIOGRAFIA

VIII. BIBLIOGRAFIA

- ALLISON, M., ROBINSON, I., BUCKLIN, J. and BOOTH, G. 1979. Comparison of bacterial populations of the pig cecum and colon based upon enumeration with specific energy sources. *Applied and Environmental Microbiology*, **37**: 1142-1151.
- APELLA, M., GONZALEZ, S., NADER DE MACIAS, M., ROMERO, N. and OLIVER, G. 1992. *In vitro* studies on the inhibition of the growth of *Shigella sonnei* and *L. acidophilus*. *Journal of Applied Bacteriology*, **73**: 480-483.
- ARNABOLDI, R., ROTTIGNI, C. and VIGEZZI, P. 1984. Trattamento dei suini con batteri lattici (*Streptococcus faecium* e pool di *Lactobacillus*): prime considerazioni sui risultati ottenuti. *Industria del Latte*, **20**: 51-58.
- BAIRD, D. 1977. Probiotics help boost feed efficiency. *Feedstuffs*, **49**: 11-12.
- BARROW, P., BROOKER, B., FULLER, R. and NEWPORT, M. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine. *Journal of Applied Bacteriology*, **48**: 147-154.
- BAYER, R., CHAWAN, C. and BIRD, F. 1975. Scanning electron microscopy of the chicken crop. *Poultry Science*, **54**: 703-707.
- BEALMEAR, P., HOLTERMANN, O. and MIRAND, E. 1984. Influence of the microflora on the immune response. I. General characteristics of the germ-free animal. In *Germ-free Animal in Biomedical Research*. Ed. Coates & Gustafsson, London, pp. 335-346.

- BHAT, P., ALBERT, M., RAJAN, D., PONNIAH, J., MATHAN, V. and BAKER, S. 1980. Bacterial flora of the jejunum: a comparison of luminal aspirate and mucosal biopsy. *Journal of Medical Microbiology*, **13**: 247-256.
- BIBEL, D. 1988. Elie Metchnikoff's *Bacillus* of long life. *American Society for Microbiology News*, **54**: 661-665.
- BJORNEKLETT, A. and MIDTVEDT, T. 1981. Influence of three antimicrobial agents (Penicillin, Metronidazole and Doxycyclin) on the intestinal microflora of healthy humans. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, **16**: 473-480.
- BLOKSMA, N., ETTEKOVEN, H., HOTHVIS, F., VAN NOORLE-JANSEN, L., DE REUVER, M., KREEFLENBERG, J. and WILLERS, J. 1981. Effects of lactobacilli on parameters of non-specific resistance of mice. *Medical Microbiology and Immunology*, **170**: 45-53.
- BOGDANOV, I., POPKHIRSTOV, P. and MARINOV, L. 1962. Anticancer effect of antibioticum bulgaricum on sarcoma 180 and on the select form of Ehrlich carcinoma. *Abstract VIII International Cancer Congress*, pp. 364.
- BOTTAZZI, V., BATTISTOTTI, B. e BOSI, F. 1981. Caratteristiche dei fermenti lattici impiegati come eufermenti nell'alimentazione. *Suinicoltura*, **20**: 39-43.
- BOYD, F. and EDWARDS, H. 1967. Fat absorption by germ-free chicks. *Poultry Science*, **46**: 1481-1483.
- BROOKER, B. and FULLER, R. 1975. Adhesion of *Lactobacilli* to the chicken crop epithelium. *Journal of Ultrastructure Research*, **52**: 21-31.

- BUENROSTRO, J. and KRATZER, F. 1983. Effect of *Lactobacillus* inoculation and antibiotic feeding of chickens on availability of dietary biotin. *Poultry Science*, **62**: 2022-2029.
- BURKETT, R., THAYER, R. and MORRISON, R. 1977. Supplementing market broiler rations with *Lactobacillus* and live yeast cultures. *Animal Science of Agricultural Researchs Reports*. Oklahoma State University.
- CERCHIARI, E. 1978. Impiego di lattobacilli nello svezzamento precoce dei suinetti. *Suinicoltura*, **19**: 43-46.
- COLE, C. and FULLER, R. 1984. A note on the effect of host specific fermented milk on the coliform population of the neonatal rat gut. *Journal of Applied Bacteriology*, **56**: 495-498.
- COLE, C., ANDERSON, P., PHILIPS, S., FULLER, R. and HEWITT, D. 1984. The effect of yogourth on the growth, lactose-utilising gut organisms and β -glucuronidase activity of caecal contents of lactose-fed, lactase-deficient animals. *Food Microbiology*, **1**: 217-222.
- COLE, C., FULLER, R. and NEWPORT, M. 1987. The effect of diluted yoghurt on the gut microbiology and growth of piglets. *Food Microbiology*, **4**: 83-85.
- COLLINS, F. and CARTER, P. 1978. Growth of *Salmonellae* in orally infected germfree mice. *Infection & Immunity*, **21**: 41-47.
- COSTERTON, J., ROSCE, K. and CHENG, K. 1983. Colonization of particulates, mucous and intestinal tissue. *Progress of Nutrition Science*, **7**: 91-105.
- COUCH, J. 1978. Poultry researchers outline benefits of bacteria, fungistatic compounds, other feed additives. *Feedstuffs*, **50**: 6-11.

- CUPERE, F., DEPREZ, P., DEMEULENAERE, D. and MUYLLE, E. 1992. Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental *Escherichia coli* enterotoxaemia in weaned piglets. *Journal of Veterinary Medicine*, **39**: 277-284.
- CHAMP, M., SZYLIT, O. and GALLANT, D. 1981. The influence of microflora on the breakdown of maize starch granules in the digestive tract of chicken. *Poultry Science*, **60**: 179-187.
- CHATEAU, N., CASTELLANOS., I. and DESCHAMPS, A. 1993. Distribution of pathogen inhibition in the *Lactobacillus* isolates of a commercial probiotic consortium. *Journal of Applied Bacteriology*, **74**: 36-40.
- CHATEAU, N., DESCHAMPS, A. HADJSASSI, A. 1994. Heterogeneity of bile salts resistance in the *Lactobacillus* isolates of a probiotic consortium. *Letters in Applied Microbiology*, **18**: 42-44.
- CHOPRA, S., BLACKWOOD, A. and DALE, D. 1963. Intestinal microflora associated with enteritis of early-weaned pigs. *Canadian Journal of Medical Veterinary Science*, **27**: 290-294.
- DANEK, P. 1986. Changes in the faecal microflora of piglets during the administration of *Str. faecium* M-74 (Lactiferm) in a feed mixture. *Zivocisná Vyroba* **31**: 1019-1027. (Citado por *Nutrition Abstracts and Reviews*, Series B, 1987, Vol. 57 (7) pp. 402).
- DENNIS, S. 1987a. Mean body weight, feed conversion and percent mortality of broilers treated with a microbial inoculant. Microbial Genetics Division, Pioneer Hi-Bred International, Des Moines, Iowa.

- DENNIS, S. 1987b. The effects of *Lactobacillus* and *Streptococcus* on the growth and microflora of stressed mice. *Annual Meeting American Society of Microbiology*, **11**: 7.
- DICKMAN, M., CHAPPELKA, A. and SCHAEGLER, R. 1975. The microbial ecology of the upper small bowel. *American Journal of Gastroenterology*, **65**: 57-62.
- DILWORTH, B. and DAY, E. 1978. *Lactobacillus* cultures in broiler diets. *Poultry Science*, **57**: 1101-1108.
- DONALDSON, R. 1973. The relation of enteric bacterial populations to gastrointestinal function and disease. In *Gastrointestinal Disease*. Ed. W.B. Saunders Company, pp. 70-82.
- DRASAR, B. and HILL, M. 1972. Intestinal bacteria and cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, **25**: 1399-1404.
- DUBOS, R. 1963. *Staphylococci* and infection immunity. *American Journal of Diseases of Children*, **105**: 643-645.
- DUBOS, R. and SCHAEGLER, R. 1964. The digestive tract as an ecosystem. *American Journal of Medical Science*, **248**: 267-271.
- DUCHA, J., LARA, C. and RODRIGUEZ, A. 1990. Correlation between airborne aerobic flora and intestinal flora in young rabbits bred in rabbitries. *Journal of Applied Rabbit Research*, **12**: 228-230.
- DUCLUZEAU, R. and RAIBAUD, P. 1979. Ecologie microbienne du tube digestif. *Actualités scientifiques de l'I.N.R.A.* Masson Ed., Paris.

- DUCLUZEAU, R., BELLIER, M. and RAIBAUD, P. 1970. Transit digestif de divers inoculums bactériens introduits *per os* chez des souris axéniques et "holoxéniques" (conventionnelles): effect antagoniste de la microflore du tractus gastro-intestinal. *Concours Médical*, **213**: 533-548.
- DUCLUZEAU, R., LADIRE, M. and RAIBAUD, P. 1984. Effect de l'ingestion de son de blé sur la flore microbienne fécale de donneurs humains et de souris gntoxéniques receveuses et sur les effets de barrière exercés par ces flores à l'égard de divers microorganismes potentiellement pathogènes. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, **135A**: 303-318.
- FERNANDES, C. and SHAHANI, K. 1990. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary lactobacilli. *Journal of Food Protection*, **53**: 704-710.
- FETHIERE, R. and MILES, R. 1987. Intestinal tract weight of chicks fed an antibiotic and probiotic. *Nutrition Reports International*, **36**: 1305-1309.
- FOX, S. 1988. Probiotics: Intestinal inoculants for production animals. *Veterinary Medicine*, **8**: 806-830.
- FRANCIS, C., JANKY, D. ARAFA, A. and HARMS, R. 1978. Interrelationship of *Lactobacillus* and zinc bacitracin in the diets of turkey poults. *Poultry Science*, **57**: 1687-1689.
- FRETER, R. 1956. Experimental enteric *Shigella* and *Vibrio* infection in mice and guinea pigs. *Journal of Experimental Medicine*, **104**: 411-418.
- FRETER, R. 1962. *In vivo* and *in vitro* antagonisms of intestinal bacteria against *Shigella flexnerii*. II. Inhibitory mechanisms. *Journal of Infectious Diseases*, **110**: 38-46.

- FRIEND, B. and SHAHANI, K. 1984. Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. *Journal of Food Protection*, **47**: 717-723.
- FULLER, R. 1973. Ecological studies on the *Lactobacillus* flora associated with the crop epithelium of the fowl. *Journal of Applied Bacteriology*, **36**: 131-139.
- FULLER, R. 1975. Nature of the determinant responsible for the adhesion of lactobacilli to chicken crop epithelial cells. *Journal of General Microbiology*, **87**: 245-250.
- FULLER, R. 1977. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *British Poultry Science*, **18**: 85-94.
- FULLER, R. 1978. Epithelial attachment and other factors controlling the colonization of the intestine of the gnotobiotic chicken by lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, **45**: 389-395.
- FULLER, R. 1986. Probiotics. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, 1S-7S.
- FULLER, R. 1989. A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, **66**: 365-378.
- FULLER, R. 1992. History and development of probiotics. In *Probiotics: the scientific basis*. Ed. R. Fuller, Chapman & Hall, London, pp. 1-8.
- FULLER, R. 1992. Effect of Probiotics on gut micro-ecology. In *The Lactic Acid Bacteria*, Vol.1. Ed. B. Wood, Elsevier, Applied Science, London, pp. 171-192.

- FULLER, R. and TURVEY, A. 1971. Bacteria associated with the intestinal wall of the fowl. *Journal of Applied Bacteriology*, **34**: 617-622.
- FULLER, R. and BROOKER, B. 1974. Lactobacilli which attach to the crop epithelium of the fowl. *American Journal of Clinical Nutrition*, **27**: 1305-1311.
- FULLER, R. and BROOKER, B. 1980. The attachment of bacteria to the squamous epithelial cell and its importance in the microecology of the intestine. In *Microbial Adhesion to Surfaces*. Ed. R. Berkeley, J. Lynch, J. Melling, P. Rutter, and B. Vincent, Ellis Horwood Ltd. Chichester, pp. 495-507.
- FULLER, R., BARROW, P. and BROOKER, B. 1978. Bacteria associated with the gastric epithelium of neonatal pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**: 582-591.
- FULLER, R., HOUGHTON, S. and BROOKER, B. 1981. Attachment of *Str. faecium* to the duodenal epithelium of the chicken and its importance in colonization of the small intestine. *Applied and Environmental Microbiology*, **41**: 1433-1441.
- GALL, L. 1970. Normal fecal flora of man. *American Journal of Clinical Nutrition*, **23**: 1457-1465.
- GARDNER, P. 1978. Antibiotics in animal feed; the need for better epidemiologic studies. *Journal of Infections Diseases*, **138**: 101-104.
- GILLILAND, S. 1984. Importance of bile tolerance of *L. acidophilus* used as a dietary adjunct. *Journal of Dairy Science*, **67**: 3045-3051.

- GILLILAND, S. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, **87**: 175-188.
- GILLILAND, S. and SPECK, M. 1977. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*, **40**: 820-823.
- GIRARD-PIPAU, F., RAMBAUD, J. and PEROL, Y. 1981. Ecologie microbienne du jejunum supérieur normal et pathologique de l'homme. *Med. Mal. Infect.*, **11**: 238-248.
- GOLDIN, B. and GORBACH, S. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *American Journal of Clinical Nutrition*, **39**: 756-761.
- GORBACH, S. 1971. Intestinal microflora. *Gastroenterology*, **60**: 1110-1129.
- GORBACH, S. and GOLDIN, B. 1990. The intestinal microflora and the colon cancer connection. *Reviews of Infections Diseases*, **12**: S252-261.
- GOTZ, V. 1979. Prophylaxis against ampicillin associated diarrhea with a *Lactobacillus* preparation. *American Journal Hospital Pharmacologic*, **36**: 754-757.
- GOUET, P. and FONTY, G. 1973. Evolution of the intestinal microflora of conventional rabbits from birth to weaning. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, **13**: 733-744.
- GROSSOWICS, N., KAPLAN, D. and SCHNEERSON, S. 1947. Production of an antibiotic substance by a *Lactobacillus*. International Congress of Microbiology, 5th Congress. Rio de Janeiro, 137-138.

- GUALTIERI, M. e BETTI, S. 1984. Effetti della somministrazione di *Streptococcus faecium* a suinetti lattanti. *Suinicoltura*, **25**: 39-43.
- GUSTAFSON, R. 1991. Symposium: Antibiotic residues in meat and milk. *Journal of Dairy Science*, **74**: 1428-1432.
- HALE, O. and NEWTON, G. 1979. Effects of a nonviable *Lactobacillus* species fermentation product on performance of pigs. *Journal of Animal Science*, **48**: 770-775.
- HARDIE, J. 1992. Genus *Streptococcus* Rosenbach 1884, 22^{AL}. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Vol.2). Ed. P.H.A. Sneath, Williams & Wilkins, Baltimore, USA, pp. 1043-1047.
- HAVENAAR, R. and HUIS, H. 1992. Probiotics: A general view. In *The Lactic Acid Bacteria*, Vol. 1. Ed. B. Wood, Elsevier Applied Science, London, pp. 151-171.
- HENRIKSSON, A., SZEWZYK, R. and CONWAY, P. 1991. Characteristics of the adhesive determinants of *L. fermentum* 104. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**: 499-502.
- HENTGES, D. 1983. Role of the intestinal microflora in host defense against infection. In *Human intestinal microflora in health and disease*. Ed. Hentges, New York Academic Press, Chapter 14, pp. 311-331.
- HILL, I., KENWORTHY, R. and PORTER, P. 1970. The effect dietary *Lactobacilli* on *in vitro* catabolic activities on the small intestinal microflora of newly weaned pigs. *Journal of Medical Microbiology*, **3**: 593-605.

- HOEPELMAN, A. and TUOMANEN, E. 1992. Consequences of microbial attachment: Directing host cell functions with adhesins. A review. *Infection and Immunity*, **60**: 1729-1733.
- HOLLISTER, A. 1990. Manipulation of intestinal microbial activity in young animals to control mortality. *Biotechnology in the feed industry. Proceeding of Alltech's Sixth Annual Symposium*. (Citado en *Nutrition Abstracts and Reviews*, Series B. 1991. **61**: 560).
- HOLLISTER, A., CHEEKE, P. ROBINSON, K. and PATTON, N. 1989. Effects of water-administered probiotics and acidifiers on growth, feed conversion and enteritis mortality of weanling rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, **12**: 143-147.
- HOLLISTER, A., CHEEKE, P., ROBINSON, K. and PATTON, N. 1990. Effects of dietary and acidifiers on performance of weanling rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, **13**: 6-9.
- HUHTANEN, C. and PENSACK, J. 1965. The development of the intestinal flora of the young chick. *Poultry Science*, **44**: 825-834.
- JERNIGAN, M., MILES, R. and ARAFA, A. 1984. Probiotics in poultry nutrition. A review. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series nº 5854.
- JOHANSSON, M., MOLIN, G., JEPPSSON, B., NOBAEK, S., AHRNE, S. and BENGMARK, S. 1993. Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: In vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 15-20.

- JONSSON, E. 1985. Lactobacilli as probiotics to pigs and calves. A microbiological approach. *Rapport Sveriges Lantbruksuniversitet* **148**: 1-65. (Citado en *Nutrition Abstract and Review Series B*. 1896. **56**: 149).
- JONSSON, E. 1986. Persistence of *Lactobacillus* strain in the gut of sucking piglets and its influence on performance and health. *Swedish Journal of Agricultural Research*, **16**: 43-47.
- JONSSON, E. and CONWAY, P. 1992. Probiotics for pigs. In *Probiotics: The scientific basis*. Ed. R. Fuller, Chapman & Hall, London, pp. 260-316.
- KANDLER, O. and WEISS, N. 1992. Regular non-sporing, Gram-positive rods. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Ed. P. Sneath, Baltimore, Williams & Wilkins, pp. 1209-1234.
- KATO, I., YOKOKURA, T. and MUTAI, M. 1983. Macophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiology and Immunology*, **27**: 611-618.
- KAVASNIKOV, E. and SUDENKO, V. 1967. Antibiotic properties of *Lactobacillus brevis*. *Mikrobiol. Zh. Kyyiv* **29**: 146. (Citado en *Dairy Science Abstracts*. 1967. **29**: 3972).
- KENWORTHY, R. and CRABB, W. 1963. The intestinal flora of young pigs with reference to early weaning, *Escherichia coli* and scours. *J. Comp. Pathol.*, **73**: 215-228.
- KINSEY, C. 1981. Use of microbial additives in feed: A literature review. *Am. Feed Mfg. Assoc Nutr. Council Report*, pp. 25-30.

- KLUBER, E., POLLMAN, D. and BLECHA, F. 1985. Effect of feeding *Streptococcus faecium* to artificially reared pigs on growth, haematology, and cell-mediated immunity. *Nutrition Report International*, **32**: 57-66.
- KODAMA, R. 1952. Studies on lactic acid bacteria. Lactolin: a new antibiotic substance produced by lactic acid bacteria. *Journal of Antibiotics*, **5**: 72.
- KOOPMAN, J., STADHOUDERS, A., KENNIS, H. and BOER, H. 1987. The attachment of filamentous segmented microorganisms to the distal ileum wall of the mouse: a scanning and transmission electron microscopy study. *Laboratory Animals*, **21**: 48-52.
- KOPELOFF, N. 1926. *Lactobacillus acidophilus*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md.
- KORNEGAY, E. 1986. Effect of dosing or feeding *Lactobacillus acidophilus* on blood cholesterol levels and growth rate of weanling and growing pigs. *Animal Science Research Report*, **5**: 14-19.
- LACZA-SZABO, S., GIPPERT, T., HULLAR, I. and VIRAG, G. 1990. Utilisation de *Str. faecium* M-74 dans l'alimentation du lapin de chair. *Cuniculture*, **96**: 263-266.
- LECLERC, H. and MORIAMEZ, J. 1980. Etude quantitative de la flore fécale de l'adulte et du nourrisson alimenté artificiellement. *Pathol. Biol.*, **28**:217-226.
- LEE, A. 1985. Neglected niches. The microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Advanced Microbiology and Ecology*, **8**: 115.
- LEJEUNE, C., BOUSSOUGANT, Y., DE PAILLERETS, F. GHNASSIA, J., GALLET, J., RAIBAUD, P. and DUCLUZEAU, R. 1981. Séquence d'installation

de la flore intestinale du nouveau-né. Etude para analyse différentielle quantitative. *Revue de Pédiatrie*, **4**: 223-242.

LINDGREN, S. et DOBROGOSZ, W. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Review*, **87**: 149-164.

LUCKEY, T. and FLOCH, M. 1972. Introduction to intestinal microecology. *American Journal of Clinical Nutrition*, **25**: 1291-1295.

LLOYD, A., CUMMING, R. and KENT, R. 1977. Prevention of *Salmonella typhimurium* infection in poultry by pretreatment of chickens and poults with intestinal extracts. *Australian Veterinary Journal*, **53**: 82-87.

MA, L., DEITCH, E., SPECIAN, E., STEFFEN, E. and BERG, R. 1990. Translocation of *Lactobacillus murinus* from the gastrointestinal tract. *Current Microbiology*, **20**: 177-184.

MACKOWIAK, P. 1982. The normal microbial flora. *N. Eng. J. Med.*, **307**: 83-93.

MAENG, W., KIM, C. and SHIN, H. 1989. Effect of feeding lactic acid bacteria concentrate (*Streptococcus faecium* Cernelle 68) on the growth rate and prevention of scouring in piglet. *Korean Journal of Animal Sciences*, **31**: 318-323.

MAN, J., ROGOSA, M. and SHARPE, M. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, **23**: 130-135.

MARCH, E. 1979. The host and its microflora: an ecological unit. *Journal of Animal Science*, **49**: 175-181.

- MARTIN, L. 1992. Posibilidades de mejorar el valor nutritivo de la cebada (*Hordeum vulgare* L.) para los pollos mediante la administración de bacterias productoras de ácido láctico o enzimas. *Tesis Doctoral*. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid.
- McALLISTER, J., KURTZ, H. and SHORT, E. 1979. Changes in the intestinal flora of young pigs with postweaning diarrhea or edema disease. *Journal of Animal Science*, **49**: 868.
- McCARTHY, D., LIN, J., RINCKEL, L. and SAVAGE, D. 1988. Genetic transformation in *Lactobacillus* sp. strain 100-33 of the capacity to colonize the nonsecreting gastric epithelium in mice. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**: 416-422.
- METCHNIKOFF, E. 1901. Sur la flore du corps humain. *Manchester Lit. Philos. Soc.* **45**: 1-38.
- METCHNIKOFF, E. 1908. Prolongation of life. G.P. Putnam's Sons, New York.
- MIKOLAJCIK, E. and HAMDAM, I. 1975. *Lactobacillus acidophilus*. I. Growth characteristics and metabolic products. *Culture Dairy Prod.*, **10**: 10.
- MOBERG, G. 1987. Colloquium on recognition and alleviation of animal pain and distress: problems in defining stress and distress in animals. *JAVMA*, **191**: 1207-1211.
- MOLLGAARD, H. 1946. On phytic acid, its importance in metabolism and its enzymic cleavage in bread supplemented with calcium. Experimental evidence of the beneficial effect of organic oxyacids on the absorption of Ca^{++} and phosphorus from rations containing phytic acid. *Biochemical Journal*, **40**: 589.

- MONNIER, M. and DESBALS, B. 1985. ACTH radioimmunoassay in the rabbit: Relationships between plasma ACTH response to stress, corticosteroids and diarrhea. *Reprod. Nutr. Dev.*, **25**: 1017-1028.
- MONTES, A. and PUGH, D. 1993. The use of probiotics in food-animal practice. *Veterinary Medicine*, **3**: 282-288.
- MORISHITA, K., MITSUOKA, M., KANEUCHI, S., YAMAMOTO, V. and OGATA, K. 1971. Specific establishment of *Lactobacilli* in the digestive tract of germ-free chickens. *Japan Journal of Microbiology*, **15**: 531-538.
- MURALIDHARA, K. 1977. Effect of feeding *Lactobacilli* on the coliform and *Lactobacillus* flora of intestinal tissue and feces from piglets. *Journal of Food Protection*, **40**: 288.
- MURALIDHARA, K., SHEGGEBY, G., ELLIKER, P., ENGLAND, D. and SANDINE, W. 1977. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. *Journal of Food Protection*, **40**: 288-295.
- NIELSEN, N., SUHR-JESSEN, T. and JENSEN, M. 1988. Inhibitive effect of 5 probiotic porcine *Lactobacillus* strains on the incidence and severity of experimentally induced post-weaning *E. coli* syndrome in pigs. *Proc. 10th IPVS Congress*, 111.
- NIELSEN, O., JORGENSEN, S., PEDERSEN, K. and JUSTESEN, T. 1994. Microbiological evaluation of jejunal aspirates and faecal samples after oral administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, **76**: 469-474.

- NRC. 1984. Nutrient requirements of poultry, rabbits and pig. National Academy of Sciences. Washington DC.
- OCHI, Y., MITSUOKA, T. and SEGA, T. 1964. Studies on the intestinal flora of chickens. *Japanese Journal of Veterinary Science*, **20**: 7-12.
- OLSSON, T. 1961. Intestinal disorders in pigs: prophylaxis and therapy with *Lactobacillus acidophilus*. *Svensk Vet. Tidn.*, **18**: 353-363.
- OWINGS, W., REYNOLDS, D., HASIAK, R. and FERVET, P. 1990. Influence of dietary supplementation with *Str. faecium* M-74 on broiler body weight, feed conversion, carcass characteristics and intestinal microbial colonization. *Poultry Science*, **69**: 1257-1264.
- PARKER, R. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Animal Nutrition and Health*, **29**: 4-8.
- PASTEUR, L. 1885. Observations relatives à la note précédente de M. Duclaux. *Acad. Sci.*, **100**: 68-69.
- PEDERSEN, K. and TANNOCK, G. 1989. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, **55**: 279-283.
- PEDERSEN, K. and JORGENESEN, M. 1992. Lactic acid bacteria for mink. Colonisation and persistence of *Enterococcus faecium* Cernelle 68 in the digestive tract of mink. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **33**: 95-103.
- PEDERSEN, K., CHRISTENSEN, G., STEFFENSEN, M., SCHYUM, P. and JOHANSEN, A. 1992. Transfer of lactic acid bacterial strains from the feed to the

- sow, the environment and the piglets. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **33**: 297-303.
- PENNEY, R., FOLK, G., GALASK, R. and PETZOLD, C. 1986. The microflora of the alimentary tract of rabbits in relation to pH, diet and cold. *Journal of Applied Rabbit Research*, **9**: 152-156.
- PERDIGON, G., DE MACIAS, M., ALVAREZ, S., OLIVER, G. and DE RUIZ HOLGADO, A. 1986. Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infection and Immunity*, **53**: 404-410.
- PERDIGON, G., ALVAREZ, S. and PESCE, A. 1991. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. *Journal of Dairy Research*, **58**: 485-496.
- PIVA, G. 1981. Valutazione degli effetti della somministrazione di *Streptococcus faecium* nei conigli. Università Cattolica del Sacro Coure. Facoltà di Agraria. Istituto di Scienze della Nutrizione. Piacenza.
- PIVA, G., SANTI, E., SARRA, P. and BOTTAZZI, V. 1979. Impiego dello *Streptococcus faecium* CX nell'allevamento suini. *Suinicoltura*, **20** (10): 51-53.
- POLLMAN, D., DANIELDSON, D. and PEO, E. 1980a. Effects of microbial feed additives on performance of starter and growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, **51**: 577-581.
- POLLMAN, D., DANIELDSON, D., WREN, W., PEO, E. and SHAHANI, K. 1980b. Influence of *Lactobacillus acidophilus* inoculum on gnotobiotic and conventional pigs. *Journal of Animal Science*, **51**: 629-637.

- POLLMAN, D., DANIELSON, D. and PEO, E. 1980c. Effect of *Lactobacillus acidophilus* on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. *Journal of Animal Science*, **51**: 638-644.
- PORTER, P., and KENWORTHY, R. 1969. A study of intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning. *Res. Veterinary Sci.*, **10**: 440-447.
- PORTER, P. and ALLEN, W. 1989. The relationship between intestinal flora and the immunity of the intestinal tract. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **8**: 465-489.
- PREMI, L. 1974. Seminario internazionale su il ruolo terapeutico dei lattobacilli. Roma. (Citado por Piva *et al.*, 1979).
- RAHE, A. 1915. A study of the so-called implantation of the *Bacillus bulgaricus*. *Journal of Infections Diseases*, **16**: 210-220.
- RAIBAUD, P., DUCLUZEAU, R. and TANCREDE, C. 1977. L'effet de barrière dans le tube digestif moyen de défense de l'hôte contre les bactéries exogènes. *Med. Mal. Infect.*, **7**: 130-134.
- RAMMELSBERG, M. and RADLER, F. 1990. Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. *Journal of Applied Bacteriology*, **69**: 177-184.
- REDDY, G., FRIEND, B., SHAHANI, K. and FARMER, R. 1983. Antitumor activity of yoghurt components. *Journal of Food Protection*, **46**: 8-11.
- REDMOND, H. and MOORE, R. 1965. Biological effect of introducing *Lactobacillus acidophilus* into a large swine herd experiencing enteritis. *Svest. Vet.*, **18**: 287-288. (Citado en *Dairy Science Abstracts*, **28**: 2462).

- RETGER, L. and CHEPLIN, H. 1921. A treatise on the transformation of the intestinal flora with special reference to the implantation of *Bacillus acidophilus*. New Haven, Connecticut: Yale University Press.
- RIISE, T. 1986. The probiotic concept: a review. *Zootecnica International*, January.
- RODTONG, S., DOBBINSON, S., THODE ANDERSEN, S., McCONNELL, M. and TANNOCK, G. 1993. Derivation of DNA probes for enumeration of a specific strain of *Lactobacillus acidophilus* in piglet digestive tract samples. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 3871-3877.
- ROTH, F. and KIRCHGEBNER, J. 1986. Nutritive effects of *Str. faecium* strain M74 in broiler chicks. *Archives of Animal Nutrition*, **5**: 225-228.
- RUSSELL, E. 1979. Type and distribution of anaerobic bacteria in the large intestine of pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, **37**: 187-193.
- SAITO, H., TOMIOKA, H. and SATO, K. 1981. Enhanced resistance of *Lactobacillus* against *Listeria* infection in mice. *Medicine and Biology*, **102**: 273-277.
- SALANITRO, P., BLAKE, I. and MUIRHEAD, P. 1974. Studies on the cecal microflora of commercial broiler chickens. *Applied Microbiology*, **28**: 439-447.
- SALANITRO, J., BLAKE, I., MUIRHEAD, P., MAGLIO, M. and GOODMAN, J. 1978. Bacteria isolated from the duodenum, ileum and cecum of young chicks. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**: 782-790.

- SANDINE, W., MURALIDHARA, K., ELLIKER, P. and ENGLAND, D. 1972. Lactic acid bacteria in food and health: A review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacili. *Journal of Milk Food Technology*, **35**: 691-702.
- SARRA, P., BOTTAZZI, V., BOSI, E., TAROCCO, C. e BECCARO, P. 1981. Integrazione della dieta con *Streptococcus faecium* nell'allevamento del suino. *Riv. Zoot. Vet.*, **9**: 101-110.
- SARRA, R., CANTALUPO, R., MASSA, S. and TROVATELLI, L. 1991. Colonization of the gastrointestinal tracts of conventional piglets by *Lactobacillus* strains. *Journal of General and Applied Microbiology*, **37**: 219-223.
- SARRA, P., MORELLI, L. and BOTTAZZI, V. 1992. The lactic microflora of fowl. In *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Ed. B. Wood, Elsevier Applied Science, London, pp. 4-19.
- SAVAGE, D. 1969. Microbial interference between indigenous yeast and *Lactobacillus* in rodent stomach. *Journal of Bacteriology*, **98**: 1278-1283.
- SAVAGE, D. 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiol.*, **31**: 107-133.
- SAVAGE, D. 1979. Introduction to mechanisms of association of indigenous microbes. *American Journal of Clinical Nutrition*, **32**: 113-118.
- SAVAGE, D. 1980. Adherence of normal flora to mucosal surfaces in bacterial adherence. Ed. E.H. Beachey, Chapman & Hall, London, pp. 33-59.

- SAVAGE, D. 1983. Mechanisms by which indigenous microorganisms colonize gastrointestinal epithelial surfaces. *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, **7**: 65-74.
- SAVAGE, D. 1984. Adherence of the normal flora. In *Attachment of organisms to the gut mucosa*. Ed. E. Boedeker, CRC press, USA, pp. 3-10.
- SAVAGE, D. 1989. The ecological digestive system and its colonisation. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **8**: 259-273.
- SAVAGE, D. and DUBOS, R. 1968. Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.*, **128**: 97-110.
- SAVAGE, D. and BLUMERSHINE, R. 1974. Surface-surface associations in microbial communities populating epithelial habitats in the murine gastrointestinal ecosystem: scanning electron microscopy. *Infec. Immun.*, **10**: 240-250.
- SCIPIONI, R., PARISINI, P., BIAVATI, B. e VOLPELLI, L. 1988. Efficacia di probiotici e lisati proteici nella nutrizione del suinetto. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, **12**: 423-430.
- SCHAEDLER, R. 1973. *Symposium on gut microflora and nutrition in the non-ruminant. The relationship between the host and its intestinal microflora. Proceeding of Nutrition Society*, **32**: 41.
- SCHEUERMANN, S. 1993. Effect of the probiotic Paciflor (CIP 5832) on energy and protein metabolism in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, **41**: 181-189.

- SCHLEIFER, J. 1985. A review of the efficacy and mechanism of competitive exclusion for the control of *Salmonella* in poultry. *World Poultry Science Journal*, **41**: 72-83.
- SCHNEITZ, C., NUOTIO, L. and LOUNATMA, K. 1993. Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* to avian intestinal epithelial cells mediated by the crystalline bacterial cell surface layer (S-layer). *Journal of Applied Bacteriology*, **74**: 290-294.
- SHAHANI, K. and AYEBO, A. 1980. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. *American Journal of Clinical Nutrition*, **33**: 2448-2457.
- SHAHANI, K., VAKIL, J. and KILARA, A. 1976. Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. 2. Isolation of Acidophilin from *L. acidophilus*. *Culture Dairy Products Journal*, **12**: 8.
- SHECK, M. 1976. Interactions among *Lactobacilli* and man. *Journal of Dairy Science*, **59**: 338.
- SISSONS, J. 1989. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhea and promote digestion in farm animals. A review. *Journal Science Food Agricultural*, **49**: 1-13.
- SMITH, H. 1965. The development of the flora of the alimentary tract in young animals. *J. Path. Bacteriol.*, **90**: 495-513.
- SMITH, H. 1967. The effect of the use of antibacterial drugs, particularly as food aditives, on the emergence of drug resistant strains of bacteria in animals. *New Zealand Veterinary Journal*, **15**: 153-166.

- SMITH, H. and CRABB, W. 1961. The faecal bacterial flora of animals and man. Its development in the young. *J. Pathol. Bacteriol.*, **82**: 53-66.
- SMORAGIEWICZ, W., BIELECKA, M., BABUCHOWSKI, A., BOUTARD, A. et DUBEAU, H. 1993. Review: Les probiotiques. *Canadian Journal of Microbiology*, **39**: 1089-1095.
- STRAW, T. 1988. Bacteria of the rabbit gut and their role in the health of the rabbit. *Journal of Applied Rabbit Research*, **11**: 142-150.
- SZYLIT, O., CHARLET, M., CHAMP, M., POPOT, F., LE COZ, Y., GALPIN, J. and RAINBAUD, P. 1978. Influence of the gnotoxenic state on the utilization of carbohydrates by chickens. *VI International Symposia Gnotobiology*, Ulm. pp. 23.
- TACCONI, G., ROSSI, J. e COLETTI, M. 1978. Ricerche sulla presenza di lattobacilli nell'intestino e nelle feci di conigli sani. *Archivio Veterinario Italiano*, **29**: 57-61.
- TAGG, J., DAJANI, A. and WANNAMAKER, L. 1976. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological Review*, **40**: 722-756.
- TANCREDE, C. and RAIBAUD, P. 1978. Abord écologique de la flore digestive. I. Un écosystème qui fait partie des moyens de défense anti-infectieux. *Concours Médical*, **100**: 3889-3894.
- TANNOCK, G. 1983. Effect of dietary and environmental stress on the gastrointestinal microbiota. In *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*. Ed. D. Hentges, Academic Press, New York, pp. 517-539.

- TANNOCK, G. 1988. The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiological Sciences*, **5**: 4-8.
- TANNOCK, G. 1989. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, **55**: 279-283.
- TANNOCK, G. 1992. The lactic microflora of pigs, mice and rats. In *The lactic acid bacteria*. Vol. 1. Ed. B. Wood, Elsevier Applied Science, London, pp. 21-48.
- TANNOCK, G., SZYLIT, O., DUVAL, Y. and RAIBAUD, P. 1982. Colonization of tissue surfaces in the gastrointestinal tract of gnotobiotic animals by lactobacillus strains. *Canadian Journal of Microbiology*, **28**: 1196-1198.
- TANNOCK, G., BLUMERSHINE, R. and ARCHIBALD, R. 1987. Demonstration of epithelium-associated microbes in the oesophagus of pigs, cattle, rats and deer. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **45**: 199-203.
- TANNOCK, G., FULLER, R. and PEDERSEN, K. 1990. *Lactobacillus* succession in the piglet digestive tract demonstrated by plasmid profiling. *Applied and Environmental of Microbiology*, **56**: 1310-1316.
- TEN BRINK, B., MINEKUS, M., BOL, J. and HUIS IN T'VELD, J. 1987. Production of antibacterial compounds by lactobacilli. *Microbiology Reviews*, **46**: 64.
- TISSIER, H. 1900. Recherches sur la flore intestinale du nourrisson. Thèse Paris.
- TORTUERO, F. 1973. Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. *Poultry Science*, **52**: 197-203.

- TORTUERO, F., RODRIGUEZ, M^aL. y BARRERA, J. 1989. Bacterias ácido-lácticas en dietas de habines para pollos. *Archivos de Zootecnia*, **38**: 153-165.
- TOURNUT, J. 1989. Applications of probiotics to animal husbandry. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **8**: 259-273.
- UNDERDAHL, N., TORRES-MEDINA, A. and DOSTER, A. 1983. Effect of *Streptococcus faecium* C68 in control of *Escherichia coli*-induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *American Journal Veterinary Research*, **43**: 2227-2232.
- VAN DER WAAIJ, D., BERGHUIS-DE VRIES, J. and LEKKERKERK VAN DER WEES, J. 1971. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *Journal of Hygiene*, **69**: 405-411.
- VANBELLE, M., TELLER, E. and FOCANT, M. 1989. Probiotics in animal nutrition: a review. *Archives of Animal Nutrition*, **7**: 543-567.
- VINCENT, J., VEOMETT, R. and RILEY, R. 1959. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Bacteriology*, **78**: 477-484.
- WADSTROM, T. 1984. *Streptococcus faecium* M74 in control of diarrhoea induced by a human enterotoxigenic *Escherichia coli* strain in an infant rabbit model. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene*, **A 257**: 357-363 (Nutrition Abstracts and Reviews Series B).
- WAKSMAN, S. 1945. Microbial antagonism and antibiotic substances. New York, The Commonwealth Fund., pp. 39-54.

- WATKINS, B. and KRATZER, F. 1984. Drinking water treatment with commercial preparations of a concentrated *Lactobacillus* culture for broiler chickens. *Poultry Science*, **63**: 1671-1673.
- WATKINS, B., MILLER, B. and NEIL, D. 1982. *In vivo* inhibitory effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotic chicks. *Poultry Science*, **61**: 1298-1308.
- WESNEY, E. and TANNOCK, G. 1979. Association of rat, pig and fowl biotypes of Lactobacilli with the stomach of gnotobiotic mice. *Microbiol. Ecol.*, **5**: 35-42.
- WHEATER, D., HIRSCH, A. and MATTICK, A. 1951. "Lactobacillin". An antibiotic from lactobacilli. *Nature*, **168**: 659.
- WILSON, K. and PERINI, F. 1988. Role of competition for nutrients in suppression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. *Infection and Immunity*, **56**: 2610-2614.
- WU, M., WUNG, L., CHEN, S. and KUO, C. 1987. Study on the feeding value of *Streptococcus faecium* M74 for pigs: 1. Large scale feeding trial of *Streptococcus faecium* M74 on the performance of weaning pigs. *English Summary of Annual Research Report*, 11-12.
- YU, B. and TSEN, H. 1993. *Lactobacillus* cells in the rabbit digestive tract and the factors affecting their distribution. *Journal of Applied Bacteriology*, **75**: 269-275.
- YUSTE, P., SOHN, H., FAKLER, T., GILLILAND, S. and MAXWELL, C. 1992. Effect of *L. acidophilus* on the performance of early-weaned pigs. *Animal Science Research Report*, **36**: 52-55.