



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ciencias Naturales  
Maestría en Recursos Bióticos

**“El uso de probióticos en la dieta de lechones recién destetados y su efecto sobre las diarreas posdestete y la salud intestinal”**

Opción de titulación  
**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
Maestría en Ciencias

**Presenta:**

Samantha Elizabeth Bautista Marín

Dirigido por:

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza

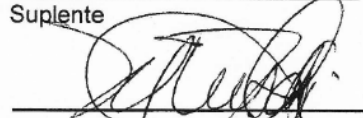
Tércia Cesária Reis de Souza  
Presidente

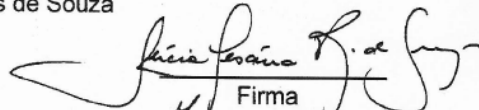
Gerardo Mariscal Landín  
Secretario

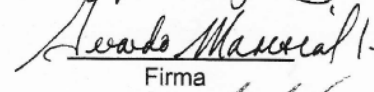
Araceli Aguilera Barreyro  
Vocal

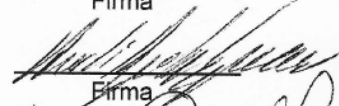
María Guadalupe Bernal Santos  
Suplente

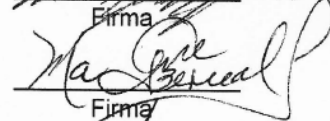
María de Jesús Guerrero Carrillo  
Suplente

  
Dra. Margarita Teresa de Jesús  
García Gasca  
Director de la Facultad

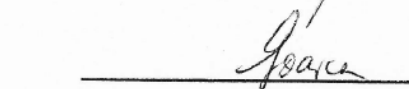
  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Firma

  
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca  
Piña  
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Agosto 2015

## Resumen

El uso de antibióticos en alimentos para animales ha disminuido por los problemas en salud pública. Al destete, los lechones sufren trastornos en el tracto gastrointestinal, afectando su salud y productividad controlándose con antibióticos, por lo que es importante desarrollar alternativas que solucionen ésta problemática. El objetivo de este estudio fue conocer los ajustes morfofisiológicos de los lechones recién destetados, como respuesta a cambios en el nivel de proteína cruda y a la adición de antibióticos y/o probióticos. Se utilizaron 100 lechones que se dividieron en cinco dietas experimentales: 1) alta en proteína cruda (24%) con antibiótico sin probiótico (APCa); 2) alta en proteína cruda (24%) con antibiótico y con probiótico (APCap); 3) alta en proteína cruda (24%) sin antibiótico con probiótico (APCp); 4) baja en proteína cruda (18%), sin antibiótico y sin probiótico (BPC); 5) baja en proteína cruda (18%), sin antibiótico con probiótico (BPCp). Se evaluó el comportamiento productivo, la presencia y severidad de diarreas, el peso de los órganos del tracto gastrointestinal, la morfología de las vellosidades intestinales y la secreción de mucinas en yeyuno y colon. El comportamiento productivo no presentó diferencias significativas ( $P>0.05$ ). Los animales que consumieron la dieta APCa tuvieron la menor presencia y severidad de las diarreas posdestete comparadas con los otros tratamientos ( $P<0.05$ ). Los animales que consumieron las dietas altas en proteína incrementaron el peso del páncreas casi al doble al día 14 posdestete ( $P<0.05$ ). Los animales que consumieron las dietas APCa y BPC presentaron un mayor peso del intestino delgado en comparación con las demás dietas ( $P<0.05$ ). Todos los animales presentaron disminución en la altura de las vellosidades al día 7 posdestete y una recuperación al día 14 ( $P<0.05$ ). La profundidad de las criptas del colon se vio influenciada por la dieta. Los animales que consumieron APCa y APCap secretaron menos mucinas y los que consumieron la dieta APCp presentaron una mayor secreción ( $P<0.05$ ). Ni el nivel de proteína, ni la adición de probióticos igualan el efecto de los antibióticos en la dieta, por lo que no se recomienda su uso en lechones recién destetados. Deben realizarse estudios sobre el efecto de los antibióticos sobre los probióticos y de éstos últimos sobre el medio ambiente intestinal.

**(Palabras clave:** lechones, diarrea posdestete, antibióticos, probióticos, nivel de proteína)

## Summary

The antibiotics use in animal feed has declined by public health problems and have sought alternatives to replace them. At weaning, piglets suffer gastrointestinal disorders, affecting their health and productivity being controlled with antibiotics, making it important to develop alternatives that solve this problem. The aim of this study was to determine the morphophysiological adjustments of weaned piglets in response to changes in crude protein level and the addition of antibiotics and/or probiotics. 100 piglets were divided into five experimental diets: 1) high crude protein (24%) with antibiotic without probiotic (APCa); 2) high crude protein (24%) with antibiotic and probiotic (APCap); 3) high crude protein (24%) without antibiotic probiotic (APCp); 4) low crude protein (18%) without antibiotic without probiotic (BPC); 5) low crude protein (18%), without antibiotic with probiotic (BPCp). Performance, presence and severity of diarrhea, weight of gastrointestinal tract organs, intestinal morphology and mucin secretion in the jejunum and colon were evaluated. The performance did not show statistical differences ( $P > 0.05$ ). Animals fed with APCa had the lowest presence and severity of post-weaning diarrhea compared with other treatments. The animals fed with high-protein diets increased the weight of the pancreas almost double until 14 post-weaning day ( $P < 0.05$ ). Animals fed with APCa and BPC diets had the highest weight of the small intestine compared to other diets ( $P < 0.05$ ). All animals showed a decrease in villus height at 7 post-weaning day and a recovery at 14 post-weaning day ( $P < 0.05$ ). The depth of the colonic crypts was influenced by diet. Animals fed with APCa and APCap diets secreted less mucin and those who consumed APCp diet had a higher secretion ( $P < 0.05$ ). Protein level or use of probiotics did not have the same effect of antibiotics in the diet, so use in weaned piglets is not recommended. Studies should be conducted on the effect of antibiotics on probiotics and their effect on intestinal environment.

**(Key words:** piglets, post-weaning diarrhea, antibiotics, probiotics, protein level)

## DEDICATORIA

A mis padres por su amor, paciencia, apoyo y confianza.

A mis hermanos por estar a mi lado.

A Konisg por su amor incondicional.

A Mau por su apoyo durante mi formación.

A Camila por ser mi motivación y fuerza.

## **AGRADECIMIENTOS**

A CONACyT por su apoyo con el proyecto CB-2012-0100000000179898.

A FOFI-UAQ 2013 por el apoyo financiero para la realización de este proyecto.

A los integrantes del cuerpo académico de “Morfofisiología y Nutrición Animal”.

A la Dra. Tércia Reis por asesorarme y ser mi madre académica.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, a la Facultad de Ciencias Naturales, en especial al Laboratorio de Nutrición Animal, por brindar todas las facilidades para la realización de este proyecto.

Al INIFAP por facilitar las instalaciones para poder llevar a cabo este experimento.

A la empresa Synbios, en especial a la Dra. Socorro Correa por donar el probiótico empleado en este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

<b>CONTENIDO</b>	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>i</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA</b>	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>viii</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
2.1. Desarrollo del tracto gastrointestinal (TGI)	3
2.2. Destete	4
2.3. Alternativas al uso de antibióticos en alimentos para el consumo animal	8
2.3.1. Nivel de proteína dietética	8
2.3.2. Fibra dietética	9
2.3.3. Probióticos	10
2.4. La morfofisiología y la salud intestinal	13
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
3.1. Objetivo General	19
3.2. Objetivos particulares	19
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>20</b>
4.1. Animales y dietas experimentales	20
4.2. Manejo general de los animales	22
4.3. Comportamiento productivo	22
4.4. Monitoreo de diarreas	22
4.5. Sacrificio y toma de muestras	22
4.6. Morfología de vellosidades intestinales	23
4.7. Cuantificación de mucinas	23
4.8. Análisis estadístico	24
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>26</b>

5.1. Comportamiento productivo	26
5.2. Monitoreo de diarreas	27
5.3. Peso de órganos digestivos	28
5.4. Morfología de vellosidades intestinales	31
5.5. Cuantificación de mucinas	34
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>36</b>
6.1. Comportamiento productivo	36
6.2. Monitoreo de diarreas	37
6.3. Peso de órganos digestivos	39
6.4. Morfología de vellosidades intestinales	42
6.5. Cuantificación de mucinas	44
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>47</b>
<b>8. LITERATURA CITADA</b>	<b>49</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CONTENIDO

	<b>Página</b>
Figura 1. Efecto de la alimentación parenteral y enteral sobre el desarrollo del intestino delgado en lechones a término y pretérmino de 6 días de edad (adaptado Sangild <i>et al.</i> , 2002).....	4
Figura 2. Desarrollo de los órganos digestivos de acuerdo a la edad (adaptado de Sangild <i>et al.</i> , 2002).....	5
Figura 3. Efecto de la dieta posdestete sobre la altura de las vellosidades intestinales (adaptado de Hetty <i>et al.</i> , 1998).....	6
Figura 4. Principales eventos desencadenadores de las diarreas posdestete (adaptado de Dirkzwager <i>et al.</i> , 2005).....	7
Figura 5. Efecto de la semana posdestete sobre la presencia y severidad de las diarreas.....	27
Figura 6. Efecto del nivel de proteína y de la adición de probiótico sobre la presencia y severidad de las diarreas.....	28



## ÍNDICE DE CUADROS

### CONTENIDO

	<b>Página</b>
Cuadro 1. Efecto del nivel de proteína y carbohidratos fermentables sobre la altura de las vellosidades (AV), la profundidad de criptas (PCrip.) y la relación altura vellosidad:profundidad de cripta (AV:PCrip.) (adaptado Bikker <i>et al.</i> , 2006).....	15
Cuadro 2. Efecto del nivel de proteína dietética sobre la altura de las vellosidades (AV), profundidad de las criptas (PCrip.) y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta (AV:PCrip.) en las diferentes porciones del intestino delgado (adaptado Nyachoti <i>et al.</i> , 2006).....	16
Cuadro 3. Composición química y centesimal de las dietas experimentales.....	21
Cuadro 4. Efecto del nivel de proteína y de la adición de probiótico sobre el comportamiento productivo de los lechones durante las 2 primeras semanas posdestete.....	26
Cuadro 5. Efecto de la edad posdestete sobre el peso relativo de los órganos digestivos.....	30
Cuadro 6. Efecto de la edad posdestete y la dieta sobre la altura de vellosidades (AV) y la profundidad de las criptas intestinales (PCrip.).....	33
Cuadro 7. Efecto de la edad posdestete y la dieta sobre la secreción de mucinas (mg/g) en yeyuno y colon.....	35

## 1. Introducción

El destete es una etapa crítica para los lechones, puesto que ellos sufren cambios importantes principalmente en su alimentación, medio ambiente y estatus social. De éstos el que tiene más impacto es el cambio de alimento, ya que el lechón al destete posee un tracto gastrointestinal inmaduro y la modificación de la dieta, hace que se generen ciertos disturbios gastrointestinales que se ven reflejados en las diarreas posdestete y en el bajo desarrollo productivo de los animales (Lallès *et al.*, 2007).

Tradicionalmente la presencia de diarreas posdestete se prevenía empleando antibióticos en la dieta, con la finalidad de evitar el sobre-crecimiento bacteriano. Sin embargo, debido a la actual resistencia de las bacterias a los antibióticos, en la Unión Económica Europea y en los Estados Unidos se ha prohibido el uso de éstos en las dietas para animales, por lo que los esfuerzos se han enfocado en la búsqueda de alternativas que permitan hacer frente a esta prohibición (Stein y Kil, 2006; Opapeju *et al.*, 2009).

Una de las alternativas que se ha empleado es la disminución de proteína en la dieta, bajo la hipótesis de que con una baja cantidad de proteína el lechón tendrá mayor posibilidad de digerirla por completo y con esto se disminuirá la presencia de sustrato disponible para la fermentación bacteriana a nivel intestinal. Disminuyendo la proliferación de bacterias potencialmente patógenas, controlando las diarreas y mejorando la productividad (Bikker *et al.*, 2007; Wellock *et al.*, 2008; Opapeju *et al.*, 2009).

Otra alternativa es el uso de probióticos, los cuales se caracterizan por realizar modificaciones en el medio ambiente intestinal encaminadas a favorecer el crecimiento de bacterias benéficas, con lo que se inhibe la proliferación de bacterias patógenas consiguiendo de esta manera el objetivo de disminuir las diarreas posdestete, eficientizando la productividad (Alexopoulos *et al.*, 2004; Estienne *et al.*, 2005; Canibe *et al.*, 2008; Walker, 2008).

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el efecto del nivel de proteína en la dieta, con la presencia o ausencia de antibiótico y probiótico sobre el comportamiento productivo, el desarrollo de órganos digestivos, la morfología de las vellosidades intestinales, la secreción de mucinas y la presencia y severidad de las diarreas en los lechones recién destetados.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Desarrollo del tracto gastrointestinal (TGI)**

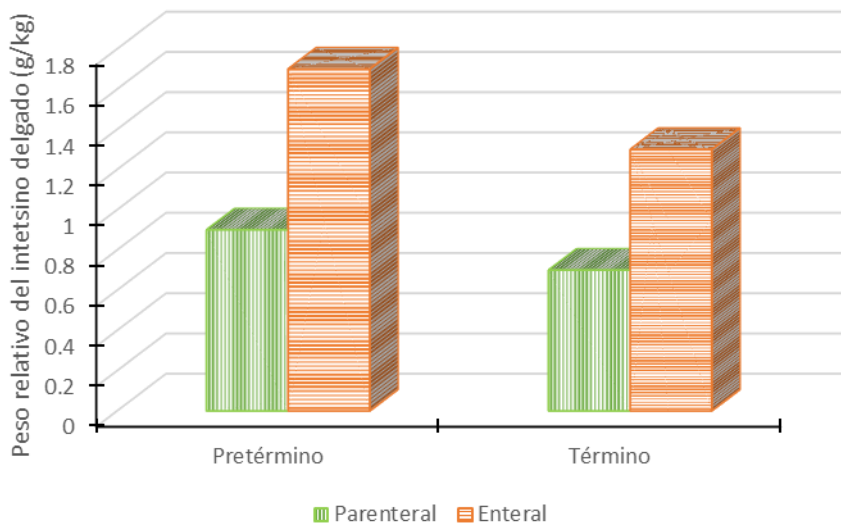
El desarrollo del tracto intestinal es un proceso muy organizado desde el punto de vista temporal y espacial, dando como resultado células especializadas en absorción de nutrientes y secreción de sustancias con funciones endócrinas e inmunológicas. Este proceso se divide en 5 fases: 1) morfogénesis, 2) citodiferenciación y preparación del epitelio fetal para absorción de calostro y leche, 3) nacimiento y periodo posparto, 4) periodo de lactancia y, 5) destete y crecimiento; periodos en los cuales se dan modificaciones en las funciones digestivas y de transporte, para que al final el TGI obtenga características de un órgano adulto (Vásquez y Vega, 2012).

Los procesos de morfogénesis y diferenciación intestinal son similares en las diferentes especies de mamíferos, variando solamente en el ritmo y tiempo. El TGI de los cerdos se desarrolla muy poco durante la vida fetal, pero se acelera después del nacimiento aumentando su longitud, diámetro y peso en los primeros días de vida, siendo los órganos del TGI los que crecen más rápido que cualquier otro órgano del cuerpo, maximizándose el crecimiento una vez que se lleva a cabo el destete (Reis de Souza *et al.*, 2012).

El desarrollo gastrointestinal está determinado por el tipo de alimentación y el crecimiento es estimulado por la presencia de alimento en el intestino. Sangild *et al.* (2002) administraron alimentación parenteral y enteral a lechones a término (115 días de gestación) y pretérmino (107 días de gestación), y observaron diferencias significativas en el peso relativo del intestino delgado (g/kg de peso vivo) en lechones de 6 días de edad (Figura1).

Al momento del destete el cambio de alimentación hace que el TGI pase por un proceso de adaptación, lo cual genera cambios morfológicos y funcionales que generan un retroceso en el desarrollo de los órganos digestivos (Sangild *et al.*, 2002). Dicho retroceso, puede causar trastornos en el consumo de alimento y

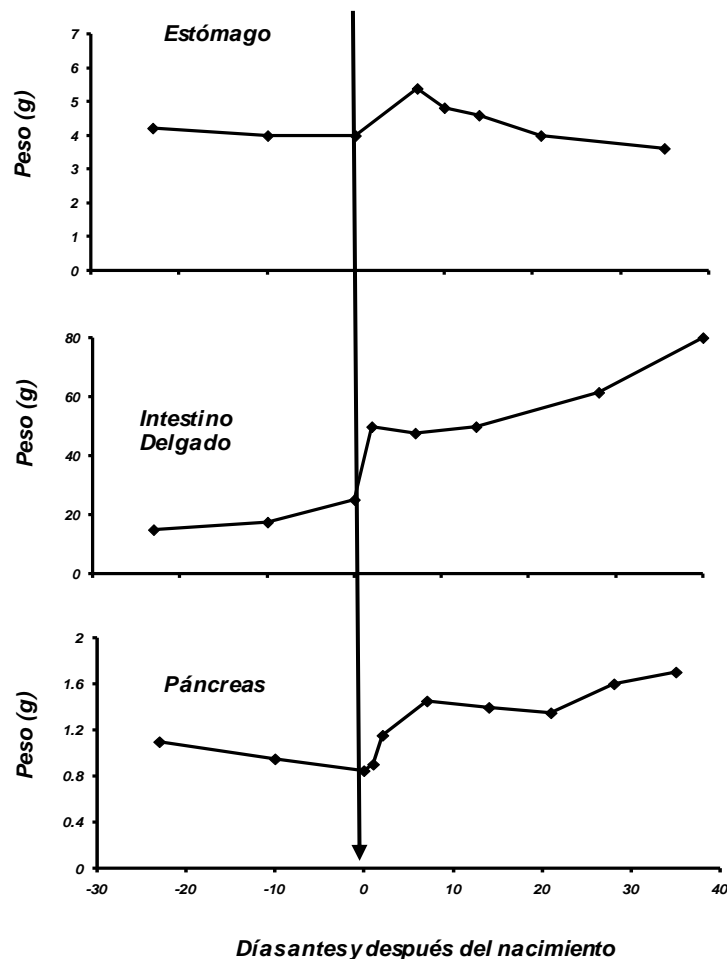
alteraciones en el proceso digestivo, viéndose reflejado con el desarrollo del síndrome diarreico posdestete. Posteriormente, el desarrollo del aparato digestivo está íntimamente ligado con el consumo de alimento sólido. Los animales que consumen una mayor cantidad de alimento, y por ende más energía, tienen un mayor crecimiento del estómago, páncreas, intestino delgado e hígado (Reis de Souza *et al.*, 2012) (Figura 2).



**Figura 1.** Efecto de la alimentación parenteral y enteral sobre el desarrollo del intestino delgado en lechones a término y pretérmino de 6 días de edad (adaptado Sangild *et al.*, 2002).

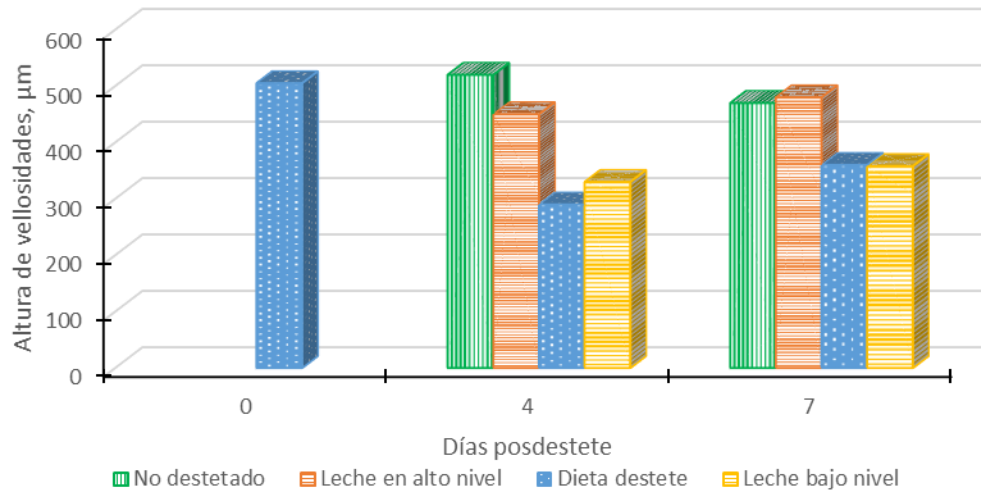
## 2.2 Destete

Durante el destete los lechones sufren la separación de la madre y de la camada, cambio del medio ambiente (instalaciones) y de alimentación (Reis de Souza *et al.*, 2010), lo cual genera un estrés que altera su desarrollo gastrointestinal y por ende su capacidad productiva. Todo esto sumado al poco desarrollo y cambios que presenta el tracto gastrointestinal en cuanto a fisiología, microbiología e inmunología; hace que este periodo sea el más crítico en la vida del cerdo, en el que se presenta una fase de anorexia y subnutrición (Cranwell, 1995; Lallès *et al.*, 2007).



**Figura 2.** Desarrollo de los órganos digestivos de acuerdo a la edad (adaptado de Sangild *et al.*, 2002).

Debido a estos cambios, el periodo inmediato al destete se caracteriza por una atrofia de vellosidades e hipertrofia de criptas (Hetty *et al.*, 1998) (Figura 3). Como consecuencia se desarrolla una baja capacidad digestiva en los lechones recién destetados que se caracteriza por una disminución en la capacidad de digestión y absorción lo que hace que queden remanentes de alimento sin digerir o parcialmente digerido en la luz intestinal. El alimento parcialmente digerido en intestino es colonizado por bacterias permitiendo su proliferación, lo cual incrementa la producción de toxinas bacterianas que desencadenarán lo que se denomina “Síndrome diarreico posdestete” (Dirkzwager *et al.*, 2005) (Figura 4).

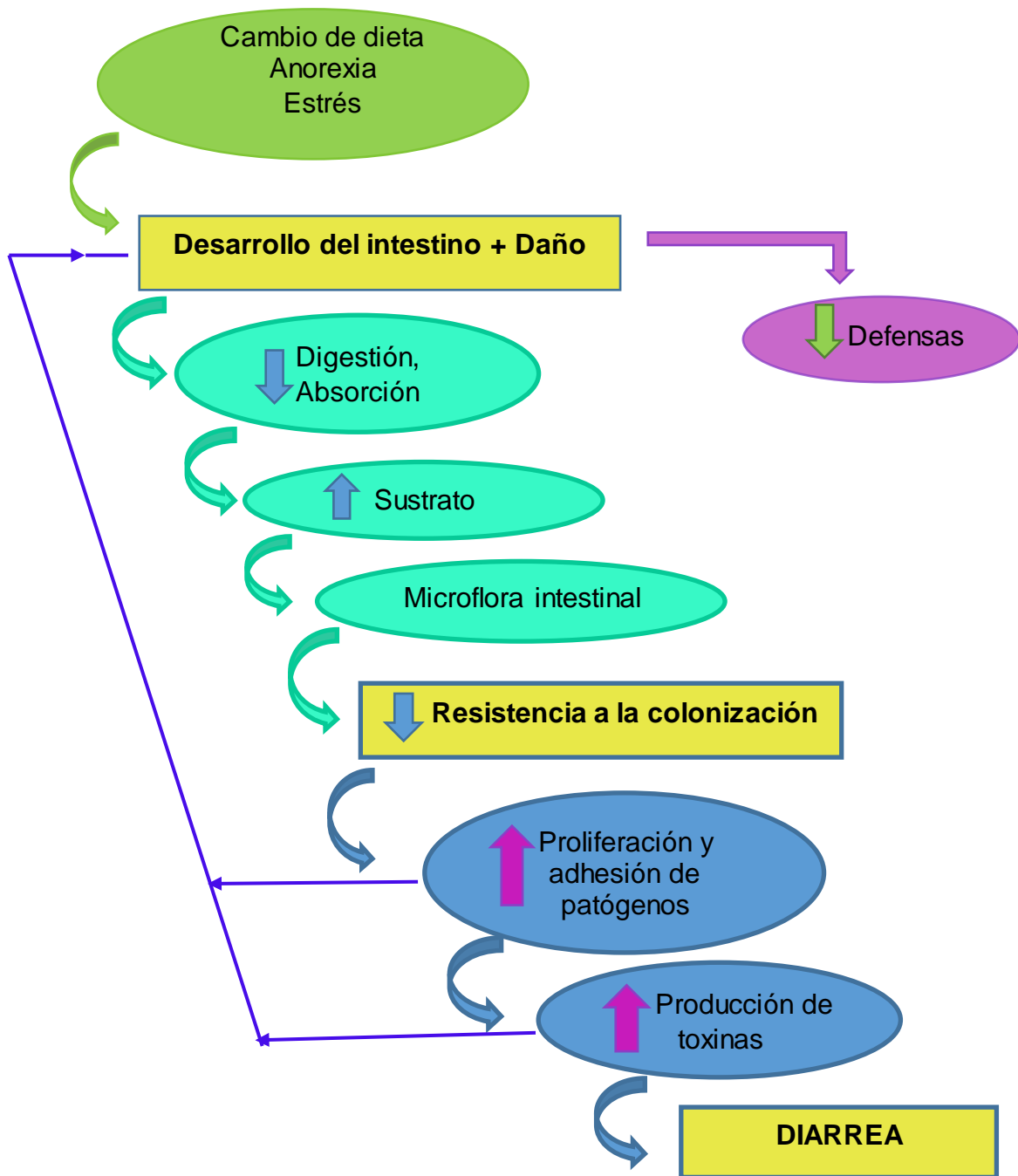


**Figura 3.** Efecto de la dieta posdestete sobre la altura de las vellosidades intestinales (adaptado de Hetty *et al.*, 1998).

Un pobre rendimiento asociado al destete en lechones, es el resultado de este estrés multifactorial (Williams *et al.*, 2005; Dong *et al.*, 1996; Lallès *et al.*, 2007; Heo *et al.*, 2012; Windey *et al.*, 2012).

Esta problemática se ha venido solucionando con la inclusión de antibióticos en la dieta para controlar las diarreas posdestete, a través del control sobre la composición de la microbiota intestinal, permitiendo una mayor “eficiencia” intestinal, optimizando el crecimiento de los animales y una protección contra microorganismos patógenos que provocan diarreas (Gaskins *et al.*, 2002; Heo *et al.*, 2012).

Por lo anterior se han dirigido varias investigaciones con la finalidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos en alimentos para el consumo animal.



**Figura 4.** Principales eventos desencadenadores de las diarreas posdestete (adaptado de Dirkzwager *et al.*, 2005).



## **2.3 Alternativas al uso de antibióticos en alimentos para el consumo animal.**

Para mantener una industria porcícola rentable, se han estudiado alternativas que reemplacen el uso de antibióticos que son efectivos en la reducción de la presencia y severidad de los problemas digestivos asociados con el periodo inmediato al destete, tales como la suplementación con ácidos orgánicos, prebióticos y probióticos, minerales traza, así como diversos niveles y fuentes de proteína (Heo *et al.*, 2012).

### **2.3.1 Nivel de proteína dietética**

Entre todas las soluciones nutricionales propuestas para disminuir la presencia y severidad de las diarreas posdestete (DPD) en lechones, la reducción del nivel de proteína cruda (PC) dietética ha sido una de las alternativas más estudiadas, sin embargo, evalúan en su mayoría el impacto en el desarrollo zootécnico de los animales y los resultados en relación al control de las DPD no han sido conclusivos (Hermes *et al.*, 2009).

Existen diferentes resultados en cuanto a la respuesta zootécnica debidas al uso de dietas bajas en proteína suplementadas con aminoácidos cristalinos. Opapeju *et al.* (2009) realizaron un estudio ofreciendo dietas altas (22.5%) y bajas (17.6%) en proteína cruda cubriendo el requerimiento de aminoácidos cristalinos a lechones recién destetados, en donde se observó que la dieta baja en proteína disminuyó la fermentación proteolítica, lo cual causó una reducción del nitrógeno amoniacal a nivel del colon y esto disminuyó la severidad de las diarreas logrando que no se observaran diferencias significativas en el comportamiento zootécnico de ambos grupos de animales. Nyachoti *et al.* (2006) realizaron un experimento utilizando cuatro dietas con 17, 19, 21 y 23% de proteína cruda, respectivamente, donde se observó una disminución en la ganancia diaria de peso linealizada con el nivel de proteína dietética, con lo cual concluyeron que la reducción de la proteína dietética en los alimentos iniciadores para lechones suplementados con algunos aminoácidos, debe considerarse minuciosamente, ya que, si bien se disminuye la producción de metabolitos tóxicos a nivel intestinal, la disponibilidad

de nutrientes disminuye a medida que disminuye la cantidad de proteína, por lo que se debe tener cuidado con el balance de aminoácidos en la dieta (Htoo *et al.*, 2007; Wellock *et al.*, 2008). Stein y Kil (2006) indican que si se suplementa la dieta con fuentes cristalinas de lisina, metionina, treonina, triptófano y valina, es posible disminuir la cantidad dietética de proteína entre un 3 y 5%, sin afectar el crecimiento de los animales, con la finalidad de reducir los problemas diarreicos generados por la alta inclusión de proteína en las dietas.

### **2.3.2 Fibra dietética**

Se define como una mezcla compleja de carbohidratos que se encuentra asociada a diferentes elementos y se localiza en las paredes celulares de las células vegetales. Está compuesta por polisacáridos no amiláceos ligados a lignina, proteínas, ácidos grasos, ceras, etc., que no pueden ser digeridos por las enzimas endógenas de los animales, quedando disponibles para la fermentación microbiana (Bach Knudsen, 2001).

Dependiendo de la composición de la fibra dietética, se puede estimular el crecimiento y el metabolismo de especies bacterianas específicas, las cuales son potencialmente benéficas para la salud intestinal del hospedero. Dicha fermentación lleva a la producción principalmente de ácidos grasos volátiles de cadena corta (acético, propiónico, butírico y láctico) y a su vez disminuye las concentraciones de amonio a nivel intestinal debido a que éste es utilizado por las bacterias para su crecimiento (Konstantinov *et al.*, 2013).

El ácido láctico y los ácidos grasos volátiles disminuyen el pH del contenido intestinal, lo cual tiene un efecto negativo sobre las bacterias potencialmente patógenas. El ácido acético puede metabolizarse en cerebro y músculo, mientras que el butírico es una fuente de energía esencial para los colonocitos y el propiónico tiene propiedades antibacterianas (Donohoe *et al.*, 2011).

Carneiro *et al.* (2008) utilizaron diferentes fuentes de fibra para evaluar el comportamiento productivo y el desarrollo morfofisiológico de los órganos digestivos, para lo anterior formularon dietas utilizando salvado de trigo y cascarilla de maíz (37.47% y 80.45% de FDN, respectivamente). No se observaron diferencias estadísticas relativas a los tratamientos en cuanto al comportamiento productivo se refiere. El tipo de fibra utilizado en las dietas tuvo efectos significativos en el peso del estómago (9.83 vs 11.30 g/kg, para los animales que consumieron salvado de trigo y cascarilla de maíz, respectivamente) y sobre el peso del intestino delgado (9.58 vs 17.18 g/kg, para los animales que consumieron salvado de trigo y cascarilla de maíz, respectivamente).

Roca-Canudas *et al.* (2007) mencionan que las modificaciones dietéticas relacionadas con los carbohidratos no digeribles determinan diferencias sobre los parámetros productivos y digestivos cuando se consideran los distintos tipos de carbohidratos. Las dietas que contienen remolacha forrajera pueden provocar modificaciones en las propiedades fisicoquímicas del contenido del colon, sin cambiar la diversidad de la microbiota, mientras que el salvado de trigo determina una disminución microbiana en el colon proximal.

Taciak *et al.* (2010) formularon cuatro dietas con diferentes tipos de proteína (caseína y concentrado proteico de papa) y fibra (celulosa y fibra de papa) para la alimentación de cerdos de 15 días de edad durante 21 días, sin encontrar diferencias en el pH del contenido intestinal y observando una tendencia a producir una mayor cantidad de butirato ( $P < 0.07$ ) en los animales que consumieron la dieta con celulosa. Con los datos anteriores se hace claro el efecto modulador que tiene la fibra sobre la ecofisiología intestinal.

### **2.3.3 Probióticos**

Los probióticos son microorganismos vivos que ejercen un efecto benéfico para el tracto intestinal del hospedero, sin perturbar las funciones fisiológicas normales. Dentro de los microorganismos que han sido autorizados para su empleo en la

alimentación animal hay diferentes grupos de bacterias probióticas (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus facíminis*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*) y entre las levaduras probióticas el género más común es *Sacharomyces*, siendo las especies más comunes *S. cerevisiae* y *S. cerevisiae* var *Boulardii* (Chaucheyras-Durand y Durand, 2008).

El tracto digestivo de los animales es estéril al nacimiento, el contacto con su madre y con el ambiente permite que se establezca una variada microflora. Los organismos benéficos producen enzimas que complementan la habilidad digestiva del hospedero y su presencia provee una barrera contra patógenos invasores. En esta situación, es preferible la alimentación con bacterias deseables que están presentes en los productos probióticos, ya que al usar antibióticos, destruyen tanto bacterias perjudiciales como bacterias benéficas (Walker, 2008; Stein y Kil, 2006).

Se ha sugerido que las bacterias benéficas ejercen sus efectos en los siguientes aspectos: adhesión a la pared del tracto digestivo para prevenir la colonización por microorganismos patógenos, neutralización de enterotoxinas producidas por bacterias patógenas, las cuales causan pérdida de fluidos, tienen actividad bactericida y mejoran la inmunidad (Quintero y Huerta, 1996; Choudhari *et al.*, 2008).

Un buen probiótico debe cumplir con las siguientes características según Figueroa *et al.* (2006) y Choudhari *et al.* (2008):

- El cultivo debe ejercer un efecto positivo en el hospedero, debe ser ácido resistente y resistente a la bilis.
- Debe poseer un alto rango de supervivencia y multiplicarse rápidamente en el tracto digestivo.
- Debe ser una cepa específica.
- No debe ser patógeno ni tóxico para el hospedero.

- La capacidad de adhesión de los microorganismos probióticos a las superficies epiteliales debe ser firme y rápida.
- Debe ser lo suficientemente resistente para soportar fabricación comercial, procesamiento y distribución de manera que se puede entregar con vida para el intestino.
- Debe tener la capacidad de reducir el número de microorganismos patógenos en intestino.

Se ha observado que la administración vía oral de bacterias probióticas tienen un efecto sobre el sistema inmunológico del intestino, lo que aumenta las posibilidades para mayor competencia por receptores y por sitios de adhesión de la mucosa intestinal, mayor inhibición del crecimiento de algunas especies de enteropatógenos, aumento de la competencia por nutrientes con bacterias patógenas, mayor prevención de transposición bacteriana, y aumento de la secreción de mucina protectora del intestino (Figuroa *et al.*, 2006).

Los microorganismos intestinales tienen una función importante en el efecto de protección de la mucosa intestinal frente a infecciones. Los mecanismos de acción mencionados estimulan el efecto de protección que previene la invasión de patógenos. La respuesta inmune del huésped comprende dos componentes: uno de ellos es la defensa no específica innata o natural que se activa desde el primer encuentro con el patógeno, y el otro es la defensa específica o adaptativa que se activa únicamente contra el patógeno que estimula la respuesta y cuyo desarrollo requiere algunos días de maduración (Figuroa *et al.*, 2006).

Los probióticos por un lado, suprimen el crecimiento de microorganismos patógenos en el intestino y la presencia de diarrea, por otro lado incrementan la biodisponibilidad de los nutrientes de la dieta e incrementan la ganancia diaria de peso, la eficiencia y la conversión alimenticia, esto debido al aumento en la disponibilidad de aminoácidos y la mejor digestibilidad de las fuentes proteicas y energéticas, así como al aumento de la digestibilidad de la fibra, por vías

fermentativas en el intestino grueso (Quintero y Huerta, 1996; Choudhari *et al.*, 2008).

Es importante enfatizar que los probióticos no podrán competir con los productos antimicrobianos como agentes terapéuticos, pero pueden reducir la presencia y la severidad de los trastornos intestinales, entre ellos, los que frecuentemente son causados por el uso inadecuado de antibióticos. Esta actividad se puede ver favorecida si estos compuestos son incorporados de manera rutinaria en la dieta normal de lechones, favoreciendo el desarrollo morfofisiológico y mejorando la salud intestinal (Quintero y Huerta, 1996).

#### **2.4 La morfofisiología y la salud intestinal**

Las alternativas mencionadas anteriormente van dirigidas a modificar el medio ambiente digestivo con la finalidad de lograr el mantenimiento de la salud intestinal. Esta puede ser definida como la capacidad del TGI para mantenerse en equilibrio (eubiosis), ya que es un ecosistema en constante cambio (Robinson *et al.*, 2010). Existen tres principales componentes de la salud intestinal: la dieta, la morfofisiología y la microbiota comensal. La morfofisiología tiene diferentes componentes, uno de ellos es la mucosa, que está compuesta por el epitelio digestivo y las mucinas que recubren el epitelio. La microbiota comensal y las mucinas interactúan con las células del huésped generando un sensible y dinámico equilibrio en el TGI, asegurando el correcto funcionamiento del proceso digestivo (Montagne *et al.*, 2003).

Al momento del destete el TGI sufre una serie de alteraciones debido al nuevo alimento ofrecido. Durante este periodo el animal se caracteriza por tener una limitada capacidad para digerir y utilizar eficientemente los nutrientes presentes en las dietas iniciadoras (Robinson *et al.*, 2010). Se conocen varios factores como los causantes de la menor capacidad de digerir y absorber nutrientes, entre estos, se encuentran la presencia de antígenos en la dieta que afectan la inmunidad local intestinal, la fibra dietética y los factores antinutricionales presentes en las materias primas (ácido fítico, taninos, lectinas, compuestos fenólicos, etc.) (Pluske

*et al.*, 1997; Vente-Spreewenbergh y Beynen, 2003; Lallès *et al.*, 2004; Lallès *et al.*, 2007). Como consecuencia de lo anterior se observan alteraciones en la integridad de la mucosa intestinal, dentro de las cuales se encuentran la disminución de la actividad enzimática del borde en cepillo de los enterocitos, causada por una atrofia de las vellosidades intestinales, que se da como consecuencia de una pérdida masiva de enterocitos maduros en el último tercio de la vellosidad (Lallès *et al.*, 2004). Puede darse una disminución de hasta 75% del tamaño de las vellosidades durante las primeras 24 h posdestete (Makkink *et al.*, 1994; Hedemann *et al.*, 2003). A medida que se pierden enterocitos maduros se incrementa la tasa de renovación celular, ésta no es totalmente eficiente encontrándose enterocitos inmaduros en las vellosidades atrofiadas que no pueden expresar su máxima capacidad enzimática.

Dentro de las enzimas que presentan actividad disminuida está la enterocinasa, una enzima clave en la digestión de las proteínas, ya que ésta activa a la tripsina que a su vez activa al resto de los zimógenos pancreáticos encargados de la digestión proteica. Lo anterior hace que se altere el equilibrio gastrointestinal favoreciendo el crecimiento de bacterias potencialmente patógenas que se encargan de fermentar los remanentes proteicos no digeridos. A partir de dicha fermentación se producen cambios fisiológicos en el TGI, que se ven reflejados con incrementos en el pH del contenido intestinal, lo cual altera la absorción de agua produciéndose diarrea (Windey *et al.*, 2012). La recuperación de la altura de las vellosidades se observa desde el tercer día posdestete, lo cual está directamente relacionado con el incremento en el consumo de alimento por parte de los animales. Una vez que los lechones inician con el consumo de alimento se inicia la adaptación a los componentes dietéticos por parte del TGI, permitiendo una mejor digestión y absorción, logrando los niveles de energía y proteínas necesarias para favorecer la proliferación, migración y maduración de los enterocitos, recuperándose de esta manera el tamaño de la vellosidad (Opapeju *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2011).

En las dietas bajas en proteína dietética, se debe cuidar el balance de los aminoácidos con la finalidad de evitar una deficiencia que pueda afectar el desarrollo de la mucosa intestinal. Wu *et al.* (2011) mencionan que las dietas bajas en proteína tienen el riesgo de ser deficientes en glutamina y arginina, aminoácidos esenciales durante el período de destete para los lechones, debido a la importancia que estos tienen en la proliferación, migración y maduración de los enterocitos en la vellosidad intestinal.

Bikker *et al.* (2006), publicaron un estudio realizado en lechones recién destetados utilizando dietas altas en fibra, bajas en proteína; altas en proteína y bajas en fibra y sus combinaciones, corrigiendo los contenidos de aminoácidos con aminoácidos cristalino. Concluyendo que ni la cantidad de fibra ni la cantidad de proteína en la dieta afectaban la morfología de las vellosidades intestinales (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efecto del nivel de proteína y carbohidratos fermentables sobre la altura de las vellosidades (AV), la profundidad de criptas (PCrip.) y la relación altura vellosidad:profundidad de cripta (AV:PCrip.) (adaptado Bikker *et al.*, 2006).

	Dietas				P		
	PC		CF		PC	CF	EEM
	Baja	Alta	Bajos	Altos			
<b>AV</b>	388	402	397	393	0.578	0.869	13
<b>PCrip.</b>	364	369	358	376	0.673	0.159	8
<b>AV:PCrip.</b>	1.08	1.10	1.12	1.06	0.726	0.475	0.04

Baja PC: proteína cruda (15%); Alta PC: dieta alta en proteína cruda (21%); Bajos CF: Dieta baja en carbohidratos fermentables (7.7%); Altos CF: Dieta alta en carbohidratos fermentables (13.6%); P: Valor de P; PC: proteína cruda; CF: carbohidratos fermentables; EEM: error estándar de la media.

Nyachoti *et al.* (2006) utilizando dietas con cuatro diferentes niveles de proteína (17, 19, 21 y 23% respectivamente), corrigiendo el contenido de aminoácidos, no observaron diferencias significativas ni en la altura de las vellosidades ni en la profundidad de las criptas del duodeno, ni del íleon; mientras que en el yeyuno la



altura de las vellosidades presentaron un comportamiento cúbico y la profundidad de las criptas un comportamiento cuadrático ( $P<0.05$ ) (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Efecto del nivel de proteína dietética sobre la altura de las vellosidades (AV), profundidad de las criptas (PCrip.) y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta (AV:PCrip.) en las diferentes porciones del intestino delgado (adaptado Nyachoti *et al.*, 2006).

	Nivel de proteína dietética (%)				P	EEM
	23	21	19	17		
<b>Duodeno</b>						
AV	583	550	529	533	**	29.3
PCrip.	192	181	192	168	**	8.9
AV:PCrip.	3.1	3.1	2.8	3.3	**	0.21
<b>Yeyuno</b>						
AV	482	519	451	442	**	29.8
PCrip.	183	187	199	169	**	7.7
AV:PCrip.	2.7	2.8	2.3	3.3	**	0.15
<b>Íleon</b>						
AV	427	480	421	445	**	27.5
PCrip.	169	170	183	160	**	8.1
AV:PCrip.	2.6	3	2.3	2.8	**	0.17

P: probabilidad estadística; \*\*:  $P<0.01$ ; EEM: error estándar de la media.

El otro componente importante de la morfofisiología intestinal son las mucinas, producidas por las células de Goblet, son proteínas conjugadas con carbohidratos (glucoproteínas) y otros compuestos como fosfolípidos, proteínas y agua, que forman una capa continua de entre 100-200  $\mu\text{m}$  de espesor sobre la superficie epitelial (Sharma y Shumacher, 1995).

Estas mucinas tienen dos funciones fundamentales, la primera servir como barrera física entre la luz y la mucosa intestinal, brindando protección y lubricación al epitelio gastrointestinal, y la segunda son moléculas clave en el reconocimiento bacteriano por parte de los enterocitos. Las mucinas están compuestas por diferentes tipos de carbohidratos: N-acetilglucosamina, galactosa, N-acetilgalactosamina, fucosa, ácido siálico, manosa, glucosa y xilosa (Bry *et al.*, 1996).

Las glucoproteínas se clasifican en N- u O-, de acuerdo al átomo al que está ligado su cadena lateral. En las N-glucoproteínas, el oligosacárido se encuentra ligado al átomo de nitrógeno de la cadena lateral de asparagina, mientras que en las O-glucoproteínas, el oligosacárido se encuentra unido al átomo de oxígeno de la cadena lateral de serina o treonina, éstas últimas son las comunes en el TGI porcino; es por esto, que en las dietas bajas en proteína debe tenerse especial atención en cumplir con los requerimientos de estos aminoácidos en específico, con la finalidad de permitir la adecuada síntesis de mucinas (Mouricout y Julien, 1987; Montagne *et al.*, 2003).

Las células de Goblet reaccionan de diferente manera de acuerdo al desafío presente en el TGI. En ocasiones, el incremento de fibra dietética o un aumento en la biomasa intestinal, las células de Goblet acrecentan la producción de mucina, con la finalidad de aumentar el grosor de la capa protectora del epitelio intestinal (Montagne *et al.*, 2003). La microbiota intestinal puede modular el tipo de mucina producida de dos maneras: a) iniciando la producción de glucoconjugados por parte de las células del hospedero, necesarios para el establecimiento de un nicho intestinal específico para cada tipo bacteriano y b) modulando el patrón de glucosilación tanto cuantitativa como cualitativamente, por medio del cambio en la distribución de los carbohidratos, modificando de esta manera la capacidad de adhesión de las bacterias.

Sharma y Shumacher (1995) indican que la presencia de determinado tipo de microflora influye sobre las porciones relativas al tipo de mucinas, ya sean sialiladas o fucosiladas. Bry *et al.* (1996) demostraron que el *Bacteroides thetaiotaomicron* inducía la producción de  $\alpha$ -1,2 fucosiltransferasa, una enzima encargada de unir un residuo de fucosa al glucoconjugado secretado por la célula de Goblet, así, la bacteria aseguraba la colonización utilizando la fucosa como fuente de energía. Además se ha demostrado que las bacterias pueden alterar a los glucoconjugados a través del uso de endo y exo glucosidasas, limitando de esta manera el sustrato disponible para otro tipo bacteriano como fuente energética (MacFarlane y Cummings, 1991).

Con base en los antecedentes descritos, se puede concluir que el medio ambiente gastrointestinal se ve altamente influenciado por estímulos externos, dentro de los cuales la dieta juega un papel fundamental. Todos los componentes de la morfofisiología intestinal interactúan entre sí con la finalidad de establecer un equilibrio en el medio ambiente que vaya a favor de la salud intestinal del hospedero, por lo que los factores dietéticos tienen la capacidad de modificar dicho entorno, favoreciendo o desfavoreciendo la salud intestinal.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo General**

Conocer los ajustes morfofisiológicos que sufren los lechones sometidos a las condiciones de estrés inherentes al destete, en respuesta a modificaciones en los componentes dietéticos aportados, con énfasis en el nivel de proteína cruda y la adición de antibióticos y/o probióticos.

#### **3.2. Objetivos particulares**

En la ausencia y/o presencia de antibióticos y probióticos y utilizando dos niveles de proteína en dietas para lechones recién destetados, se pretende evaluar su efecto sobre:

- El comportamiento zootécnico de los animales.
- La presencia y severidad de diarreas.
- El peso de los órganos del tracto gastrointestinal.
- La morfología microscópica de la mucosa intestinal, en cuanto a la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas de Lieberkühn.
- La secreción de mucinas en yeyuno y colon.

#### **4. Material y Métodos**

El experimento se realizó en la granja experimental del CENID-Fisiología, INIFAP, ubicado en Ajuchitlán, Colón, Querétaro. Los análisis químicos se efectuaron en el laboratorio de Nutrición Animal y los análisis histológicos se realizaron en el laboratorio de Histopatología de la Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. En todo momento se respetaron los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (Diario Oficial de la Federación, 2001); así como los lineamientos de la International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS, 2012).

##### **4.1 Animales y dietas experimentales**

Se utilizaron 100 lechones (Fertilis 20 X G Performance, Genetiporc®). Los lechones fueron destetados al día  $23 \pm 1.6$  de edad con un peso de  $7.26 \pm 1$  kg. Los animales se distribuyeron con base en su peso, siendo 5 lechones por corral y 4 corrales por tratamiento, haciendo un total de 20 lechones por tratamiento.

Se formularon cinco tratamientos (dietas) experimentales, cubriendo los requerimientos nutricionales para esta etapa productiva (destete) (NRC,2012): Dieta 1, alta en proteína cruda (24%) con antibiótico sin probiótico (APCa); Dieta 2, ración alta en proteína cruda (24%) con antibiótico y con probiótico (APCap); Dieta 3, alta en proteína cruda (24%) sin antibiótico con probiótico (APCp); Dieta 4, baja en proteína cruda (18%), sin antibiótico y sin probiótico (BPC); Dieta 5, baja en proteína cruda (18%), sin antibiótico con probiótico (BPCp) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Composición química y centesimal de las dietas experimentales.

	Dietas <sup>1</sup>				
	APCa	APCap	APCp	BPC	BPCp
<b>Ingredientes (%)</b>					
Maíz amarillo	43.35	43.27	43.32	52.35	52.28
Pasta de soya	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Concentrado de soya	4.00	4.00	4.00	--	--
Harina de pescado Menhaden	9.65	9.65	9.65	3.30	3.30
Suero de Leche	24.69	24.69	24.69	24.69	24.69
Aceite de maíz	0.93	0.93	0.93	0.82	0.82
Lisina	0.04	0.04	0.04	0.60	0.60
Aminogut*	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Treonina	--	--	--	0.20	0.20
Metionina	0.02	0.02	0.02	0.22	0.22
Triptófano	--	--	--	0.06	0.06
Isoleucina	--	--	--	0.05	0.05
Carbonato de calcio	--	--	--	0.38	0.38
Fosfato Bicálcico	0.62	0.62	0.62	0.66	0.66
Lincospectin**	0.05	0.05	--	--	--
Bioplus 2B***	--	0.08	0.08	--	0.08
Minerales	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Premezcla vitaminas-minerales <sup>£</sup>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
<b>Composición Química</b>					
Materia seca (%) <sup>¤</sup>	92.80	92.77	92.91	93.11	92.34
Proteína cruda (%) <sup>¤</sup>	24.66	24.84	24.41	18.00	18.06
Fibra Detergente neutro (%) <sup>¤¤</sup>	6.16	6.15	6.15	7.02	7.01
Energía metabolizable (Kcal/kg) <sup>¤¤</sup>	3300	3300	3300	3300	3300

\*Aminogut, L-glutamina y L- ácido glutámico (1:1), (Ajinomoto, Japón); \*\*Lincospectin premix, 2.2 g lincomicina, 2.2 g espectinomicina (Zoetis, USA); \*\*\*Bioplus 2B: *B. subtilis* y *B. licheniformis* (1:1) (Chr Hansen, Dinamarca); <sup>£</sup>Premezcla vitaminas y minerales (vitaminas por kilogramo de dieta: vitamina A 10,200 UI; vitamina D 1980 UI; vitamina E 60 UI; Vitamina K 1.20 mg; colina 967 mg; niacina 36 mg; pantotenato 17 mg; riboflavina 7.2 mg; vitamina B12 38 µg; tiamina 0.3 mg; piridoxina 0.31 mg; biotina 0.08 mg; folato 0.75 mg; cobre 14.4 mg; yodo 800 mg; hierro 105 mg; manganeso 36 mg; selenio 0.3 mg; zinc 144 mg). <sup>¤</sup> Valor analizado; <sup>¤¤</sup> Valor calculado. <sup>1</sup> Ver descripción en la página 20.

## **4.2 Manejo general de los animales**

Los lechones se alojaron en una sala de destete con ambiente controlado (30, 28, 26  $\pm$  2°C durante la primera, segunda y tercera semana posdestete, respectivamente). La sala de destete estaba equipada con corrales de destete elevados a 38 cm de altura, con piso de rejilla, con 115 cm de ancho y 150 cm de largo, para una superficie efectiva de 1.7 m<sup>2</sup>, equipados con un bebedero de chupón y un comedero tipo tolva (con 6 bocas). Los lechones tuvieron libre acceso al agua durante todo el periodo experimental.

## **4.3 Comportamiento productivo**

El alimento se ofreció en tres horarios: 8:00, 12:00 y 16:00 horas y se registró diariamente. Al final de la semana se midió el rechazo y se calculó el consumo diario de alimento (CDA). Los animales se pesaron al final de cada semana con la finalidad de calcular la ganancia diaria de peso (GDP) y la eficiencia alimenticia (EA).

## **4.4 Monitoreo de diarreas**

Se evaluaron las diarreas de cada corral durante la mañana de cada día. La presencia de diarrea se midió con base a una evaluación visual de la consistencia fecal (Ball y Aherne, 1987), con una escala de 0 a 3, en donde: 3 describe una diarrea severa, muy líquida; 2 diarrea moderada, semi-líquida; 1 diarrea ligera, pastosa; y 0 indica no existencia de diarrea. La calificación diaria por corral fue sumada en cada semana y en el total del periodo experimental, para calcular la severidad. La presencia se midió en función del número de días en que la diarrea fue observada en cada corral.

## **4.5 Sacrificio y toma de muestras**

Cinco lechones con un peso similar, se sacrificaron al día 0 (día del destete) y se consideraron como un grupo control que no consumió alimento sólido. A los días 7 y 14 posdestete, se sacrificaron cinco lechones por tratamiento, teniendo como criterio de selección el peso de los animales.

En cada sacrificio, los lechones se tranquilizaron con azaperona (Sural ®) a una dosis de 20 mg/kg de peso vivo, una vez obtenidas las muestras biológicas a evaluar, se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital sódico (Pentotal ®), se procedió a la apertura de la cavidad abdominal para la colecta de órganos. Los órganos gastrointestinales se vaciaron, lavaron y pesaron, reportando su valor absoluto (gramos) y relativo al peso vivo ( $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$  de peso vivo).

#### **4.6 Morfología de vellosidades intestinales**

Para verificar el efecto de las diferentes dietas experimentales y del día posdestete sobre la integridad intestinal se midió la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas (Nyachoti *et al.*, 2006). Se obtuvo una muestra de cada sección intestinal de 10 cm de largo que fue incidida longitudinalmente sobre la unión mesentérica, se lavaron con solución salina, se extendieron y sujetaron sobre una lámina de corcho y se sumergieron en formol neutralizado al 10 %. Posteriormente, se procesaron las diversas porciones intestinales y se incluyeron en parafina, se hicieron cortes de 5 micras de espesor, se tiñeron con hematoxilina-eosina y se observaron en un microscopio óptico Carl Zeiss (modelo Primo Star). Se efectuaron diez mediciones por laminilla para determinar el promedio de la altura (del ápice hasta la base) de las vellosidades, así como la profundidad de las cripta, utilizando el software ZEN 2012 SP1 de Zeiss.

#### **4.7 Cuantificación de mucinas**

Se tomó una porción de yeyuno y colon, de las cuales se raspó la mucosa sobre una base refrigerada, hasta obtener la muestra suficiente en dos viales de 1.5 ml y se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. De las mucosas obtenidas, se pesaron 300 mg aproximadamente, estas muestras se homogeneizaron en 2 ml de buffer de Tris-HCl 0.05M y posteriormente la extracción y purificación de las mucoproteínas se efectuó mediante la técnica propuesta por Faure *et al.* (2002). Brevemente, los raspados de mucosa se sometieron a incubación con proteasas fúngicas durante 2h a



37°C bajo agitación. Se detuvo la actividad enzimática sometiendo la muestra a refrigeración (4°C) durante 10 min, posteriormente se agregó hidrocloreto de guanidinio hasta alcanzar una concentración final de 4 M. Se agregó ditiotreititol al 10 mM y se dejó bajo agitación por dos horas a temperatura ambiente y luego se agregó iodoacetamida al 25mM y se incubó durante dos horas a temperatura ambiente bajo agitación. Las mucinas fueron purificadas por gravedad utilizando columnas cromatográficas rellenas de sefarosa.

Una vez extraídas las mucinas se dializaron utilizando una membrana con poros que permitían retener proteínas con pesos superiores a 14,000 Daltones contra agua desionizada por 48 h a 4°C, las muestras dializadas se liofilizaron para eliminar la humedad. Posteriormente, se realizó un gel de electroforesis (SDS-PAGE). La cantidad de mucinas se calculó mediante el uso del software Quantity One (BioRad®) por medio de la utilización de una curva estándar que contenía albúmina sérica bovina (Faure *et al.*, 2002).

#### **4.8 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico del comportamiento productivo, el peso de los órganos digestivos, la morfología de la mucosa intestinal y la cuantificación de mucinas, se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 5x2, en donde las dietas y la edad posdestete fueron los factores principales (5 dietas y 2 edades posdestete). En el caso de presencia y severidad de las diarreas se utilizó un diseño de medidas repetidas en el tiempo. Para el comportamiento productivo y diarreas la unidad experimental fue el corral; mientras que para el peso de órganos, la morfología de las vellosidades intestinales y la cuantificación de mucinas, la unidad experimental fue el lechón (Steel y Torrie, 1997). En todos los casos las diferencias estadísticas se aceptaron con un valor de  $P < 0.05$  y

las medias se compararon mediante la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1997; SAS 2008).

## 5. Resultados

### 5.1 Comportamiento productivo

Los resultados de comportamiento productivo se resumen en el Cuadro 4. A pesar de las diferencias numéricas observadas en la GDP entre los tratamientos, éstas no fueron significativas ( $P>0.05$ ). El consumo diario de alimento de cada semana y del periodo experimental total, tuvieron valores muy similares, por lo que no presentaron diferencias estadísticas significativas. Como reflejo de lo anterior, la eficiencia alimenticia tampoco presentó diferencias significativas ( $P>0.05$ ).

**Cuadro 4.** Efecto del nivel de proteína y de la adición de probiótico sobre el comportamiento productivo de los lechones durante las 2 primeras semanas posdestete.

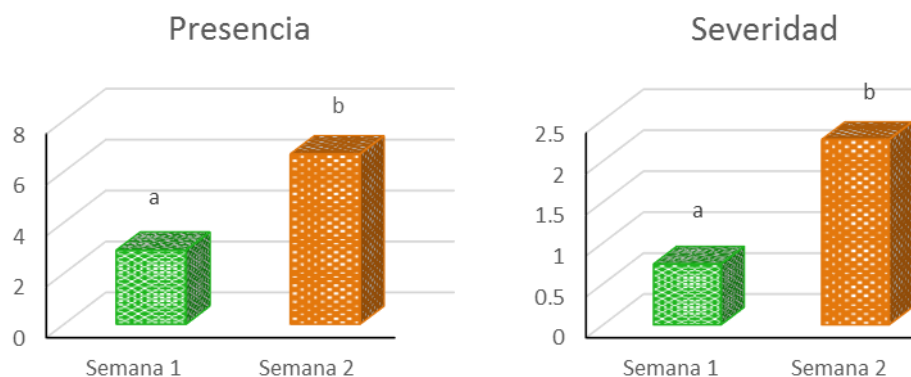
	Dietas					P	EEM
	APCa	APCpa	APCp	BPC	BPCp		
<b>Semana 1</b>							
GDP (g/día)	82.4	108.9	67.1	43.0	86.6	NS	9.2
CDA (g/día)	179.8	185.9	178.0	179.8	181.1	NS	6.2
EA	0.5	0.6	0.4	0.2	0.5	NS	0.05
<b>Semana 2</b>							
GDP (g/día)	171.3	71.4	155.6	110.0	99.3	NS	15.9
CDA (g/día)	297.7	238.1	257.7	254.8	220.9	NS	9.7
EA	0.6	0.2	0.6	0.4	0.4	NS	0.06
<b>Periodo total</b>							
GDP (g/día)	119.3	82.5	103.3	80.8	91.8	NS	8.6
CDA (g/día)	278.7	249.3	246.9	252.9	241.6	NS	8.0
EA	0.5	0.3	0.4	0.3	0.4	NS	0.03

APCa: dieta alta en proteína cruda con antibiótico; APCap: dieta alta en proteína cruda con antibiótico y con probiótico; APCp: dieta alta en proteína cruda con probiótico; BPC: dieta baja en proteína cruda; BPCp: dieta baja en proteína cruda con probiótico; GDP: ganancia diaria de peso; CDA: consumo diario de alimento; EA: eficiencia alimenticia; P: significancia estadística; EEM: error estándar de la media; NS:  $P>0.05$ .

## 5.2 Monitoreo de diarreas

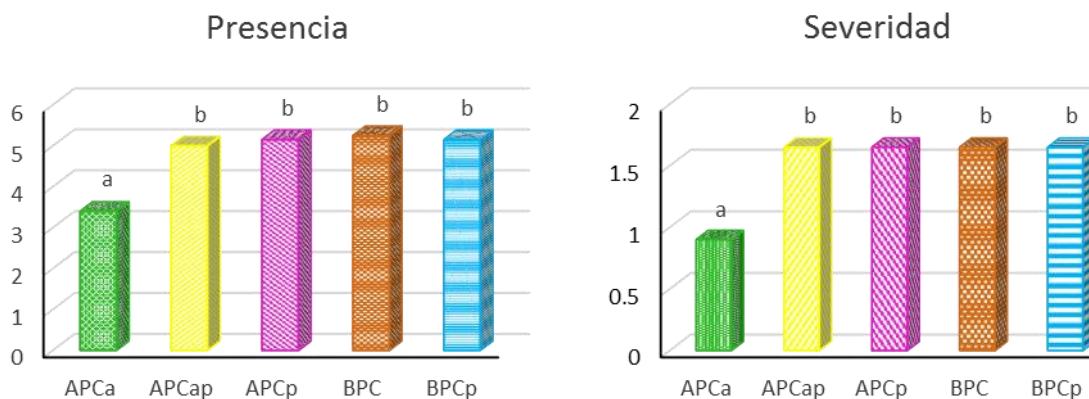
Los resultados de la presencia y severidad de las diarreas se observan en las Figuras 5 y 6. Se observó un efecto del tratamiento (dieta) ( $P < 0.001$ ) y de la edad ( $P < 0.001$ ), sin embargo no hubo interacción entre ellos ( $P > 0.05$ ).

Los animales que consumieron la dieta APCa fueron los que presentaron la menor presencia y severidad de las diarreas en relación a los lechones que consumieron los demás tratamientos. Durante la segunda semana posdestete, las diarreas se presentaron en un mayor número de días y tuvieron una mayor severidad en relación a la primera semana.



Las barras con diferente literal, indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

**Figura 5.** Efecto de la semana posdestete sobre la presencia y severidad de las diarreas.



APCa: dieta alta en proteína cruda con antibiótico; APCap: dieta alta en proteína cruda con antibiótico y con probiótico; APCp: dieta alta en proteína cruda con probiótico; BPC: dieta baja en proteína cruda; BPCp: dieta baja en proteína cruda con probiótico; las barras con diferente literal indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ).

**Figura 6.** Efecto del nivel de proteína y de la adición de probiótico sobre la presencia y severidad de las diarreas.

### 5.3 Peso de órganos digestivos

Los resultados del peso de órganos digestivos de la semana 1 y 2, pueden observarse en el Cuadro 5.

Los pesos relativos de estómago e intestino grueso no se vieron afectados por ninguno de los efectos evaluados (edad posdestete, dieta e interacción ExD) ( $P > 0.05$ ). En cuanto al peso relativo del hígado, se observó un efecto de la edad ( $P < 0.001$ ), en donde hubo un crecimiento del órgano entre los días 7 y 14 posdestete en todos los animales, exceptuando en aquellos animales que consumieron la dieta BPCp, en los cuales no se observó crecimiento del hígado entre los días 7 y 14 posdestete.

Se observó una interacción entre la edad y la dieta en el peso relativo del páncreas ( $P < 0.05$ ); entre el día 7 y 14 posdestete, los animales que consumieron dietas altas en proteína (APCa, APCap y APCp) presentaron un incremento en el peso relativo de dicho órgano, mientras que en los animales que consumieron las dietas bajas en proteína, éste permaneció constante (Cuadro 5).

Por otro lado, también se observó una interacción entre la edad posdestete y la dieta en el peso relativo del intestino delgado ( $P < 0.001$ ); los animales que consumieron las dietas APCa y BPC aumentaron el peso relativo del intestino delgado entre los días 7 y 14 posdestete, mientras que en los lechones que consumieron las dietas APCap, APCp y BPCp, el peso de dicho órgano permaneció constante.

**Cuadro 5.** Efecto de la edad posdestete sobre el peso relativo de los órganos digestivos.

Órgano	Dietas										P			EEM
	APCa	APCap	APCp	BPC	BPCp	E	D	ExD						
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14				
<b>Estómago</b>	7.2	7.5	6.9	7.8	7.2	7.5	6.7	7.2	7.3	7.0	NS	NS	NS	0.13
<b>I.G.</b>	15.2	16.8	16.0	18.1	16.3	19.8	17.9	19.1	18.4	14.6	NS	NS	NS	0.44
<b>Hígado</b>	22.4	27.9	22.4	26.7	23.3	26.4	22.8	27.0	24.9	24.9	***	NS	NS	0.43
<b>Páncreas</b>	1.2 <sup>c</sup>	2.0 <sup>ab</sup>	1.3 <sup>c</sup>	2.1 <sup>a</sup>	1.3 <sup>c</sup>	1.8 <sup>b</sup>	1.1 <sup>c</sup>	1.5 <sup>bc</sup>	1.2 <sup>c</sup>	1.4 <sup>c</sup>	***	***	*	0.04
<b>I.D.</b>	37.5 <sup>d</sup>	63.9 <sup>a</sup>	56.5 <sup>ab</sup>	55.5 <sup>b</sup>	49.7 <sup>bc</sup>	54.2 <sup>b</sup>	37.5 <sup>d</sup>	51.2 <sup>b</sup>	43.4 <sup>cd</sup>	49.4 <sup>bc</sup>	***	**	***	0.8

APCa: dieta alta en proteína cruda con antibiótico; APCap: dieta alta en proteína cruda con antibiótico y con probiótico; APCp: dieta alta en proteína cruda con probiótico; BPC: dieta baja en proteína cruda; BPCp: dieta baja en proteína cruda con probiótico; I.G.: Intestino grueso; I.D.: Intestino delgado; P: probabilidad estadística; E: efecto de la edad; D: efecto de la dieta; ExD: efecto de la interacción edad y dieta; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; NS:  $P > 0.05$ ; EEM: error estándar de la media; <sup>a, b, c, d</sup>: valores con diferentes literales en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas debidas a la interacción entre edad y dieta.

#### 5.4 Morfología de vellosidades intestinales

Las mediciones de las vellosidades y criptas intestinales pueden observarse en el Cuadro 6.

Se observó una interacción entre la edad y la dieta en todas las variables estudiadas ( $P < 0.001$ ). Al día 14 posdestete los animales que consumieron las dietas altas en proteína, recuperaron la altura de sus vellosidades en todas las porciones intestinales. En los animales que consumieron las dietas bajas en proteína (BPC y BPCp) no se reflejó un crecimiento durante todo el periodo experimental (527 vs 565  $\mu\text{m}$  en duodeno; 533 vs 549  $\mu\text{m}$  en yeyuno y 517 vs 531  $\mu\text{m}$  en íleon), para el día 7 y 14 respectivamente, ya que el incremento de la altura de las vellosidades entre estos días fue mínimo.

En duodeno, los animales que consumieron las dietas APCa, BPC y BPCp no presentaron cambios en la profundidad de las criptas entre el día 7 y 14 posdestete, mientras que los animales que consumieron las dietas APCap y APCp tuvieron una disminución del 20% en promedio de la profundidad de las criptas del día 7 con respecto al día 14 posdestete ( $P < 0.001$ ). La profundidad de las criptas de yeyuno e íleon de los animales que consumieron la dieta APCa se mantuvieron constantes entre el día 7 y 14 posdestete ( $P > 0.05$ ). En el yeyuno de los animales que consumieron las dietas APCap y APCp se observó un incremento importante en la profundidad de las criptas (116%); en íleon también se observó dicho incremento, pero en una menor proporción ( $P < 0.001$ ). En yeyuno, los animales que consumieron las dietas BPC y BPCp no presentaron diferencias en la profundidad de las criptas entre los días 7 y 14 posdestete, mientras que en íleon, los animales que consumieron la dieta BPC experimentaron un crecimiento en la profundidad de las criptas y los que consumieron la dieta BPCp una disminución de las mismas ( $P < 0.001$ ).



En cuanto a la profundidad de las criptas del colon, los animales que consumieron las dietas APCap y APCp se mantuvieron constantes entre el día 7 y 14 posdestete. Los animales que consumieron las dietas APCa y BPC presentaron un descenso en la profundidad de las criptas entre los días 7 y 14 posdestete. Por último, los animales que consumieron la dieta BPCp presentaron un incremento en la profundidad de las criptas entre los días 7 y 14 posdestete.

**Cuadro 6.** Efecto de la edad posdestete y la dieta sobre la altura de vellosidades (AV) y la profundidad de las criptas intestinales (PCrip).

Edad	Dietas										P			EEM
	APCa		APCap		APCp		BPC		BPCp		E	D	ExD	
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14				
<b>Duodeno<sup>1</sup></b>														
AV	756 <sup>b</sup>	832 <sup>a</sup>	441 <sup>e</sup>	569 <sup>c</sup>	424 <sup>e</sup>	587 <sup>c</sup>	532 <sup>d</sup>	576 <sup>c</sup>	522 <sup>d</sup>	554 <sup>cd</sup>	***	***	***	2.90
PCrip.	108 <sup>c</sup>	106 <sup>c</sup>	120 <sup>b</sup>	106 <sup>c</sup>	126 <sup>a</sup>	106 <sup>c</sup>	127 <sup>a</sup>	129 <sup>a</sup>	126 <sup>a</sup>	131 <sup>a</sup>	***	***	***	0.60
<b>Yeyuno<sup>1</sup></b>														
AV	619 <sup>b</sup>	835 <sup>a</sup>	422 <sup>f</sup>	544 <sup>cd</sup>	496 <sup>e</sup>	532 <sup>d</sup>	518 <sup>de</sup>	559 <sup>c</sup>	549 <sup>cd</sup>	539 <sup>cd</sup>	***	***	***	2.88
PCrip.	110 <sup>d</sup>	105 <sup>d</sup>	127 <sup>c</sup>	277 <sup>a</sup>	124 <sup>c</sup>	265 <sup>b</sup>	125 <sup>c</sup>	119 <sup>cd</sup>	126 <sup>c</sup>	127 <sup>c</sup>	***	***	***	1.17
<b>Íleon<sup>1</sup></b>														
AV	571 <sup>b</sup>	611 <sup>a</sup>	415 <sup>e</sup>	513 <sup>c</sup>	415 <sup>e</sup>	521 <sup>c</sup>	553 <sup>bc</sup>	535 <sup>c</sup>	481 <sup>d</sup>	527 <sup>c</sup>	***	***	***	2.85
PCrip.	109 <sup>e</sup>	106 <sup>e</sup>	127 <sup>cd</sup>	140 <sup>b</sup>	120 <sup>d</sup>	149 <sup>a</sup>	122 <sup>d</sup>	132 <sup>c</sup>	130 <sup>cd</sup>	123 <sup>d</sup>	***	***	***	0.85
<b>Colon<sup>1</sup></b>														
PCrip.	223 <sup>e</sup>	205 <sup>f</sup>	327 <sup>cd</sup>	318 <sup>d</sup>	335 <sup>c</sup>	324 <sup>cd</sup>	379 <sup>a</sup>	351 <sup>b</sup>	336 <sup>c</sup>	379 <sup>a</sup>	***	***	***	1.37

APCa: dieta alta en proteína cruda con antibiótico; APCap: dieta alta en proteína cruda con antibiótico y con probiótico; APCp: dieta alta en proteína cruda con probiótico; BPC: dieta baja en proteína cruda; BPCp: dieta baja en proteína cruda con probiótico; P: probabilidad estadística; E: efecto de la edad; D: efecto de la dieta; ExD: efecto de la interacción entre edad y dieta; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; EEM: error estándar de la media; <sup>a, b, c, d, e, f</sup>: valores con diferentes literales en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas debidas a la interacción entre edad y dieta. <sup>1</sup>Valores expresados en micras ( $\mu\text{m}$ ).

## **5.5 Cuantificación de mucinas**

Los resultados obtenidos de la cuantificación de mucinas en yeyuno y colon, pueden observarse en el Cuadro 7.

La cuantificación de mucinas en yeyuno y colon mostró una interacción entre la edad posdestete y la dieta ( $P < 0.001$ ). Todos los animales presentaron un incremento en la secreción de mucinas entre los días 7 y 14 posdestete. Los animales que consumieron antibiótico en la dieta (APCa y APCap) presentaron el menor incremento en la secreción de mucinas, mientras que los animales que consumieron la dieta APCp presentaron el mayor incremento en la secreción de mucinas y los animales que consumieron las dietas bajas en proteína (BPC y BPCp) presentaron valores intermedios. Por último, la secreción de mucinas en colon fue mayor que en yeyuno en todos los animales utilizados en este experimento.

**Cuadro 7.** Efecto de la edad posdestete y la dieta sobre la secreción de mucinas (mg/g) en yeyuno y colon.

	Dietas										<i>P</i>			EEM
	APCa		APCap		APCp		BPC		BPCp		E	D	ExD	
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14				
<b>Yeyuno</b>	5.7 <sup>e</sup>	14.3 <sup>b</sup>	5.5 <sup>e</sup>	14.1 <sup>b</sup>	13.4 <sup>c</sup>	17.0 <sup>a</sup>	12.6 <sup>d</sup>	12.4 <sup>d</sup>	12.9 <sup>cd</sup>	12.2 <sup>d</sup>	***	***	***	0.06
<b>Colon</b>	19.4 <sup>f</sup>	33.2 <sup>b</sup>	19.6 <sup>f</sup>	33.0 <sup>b</sup>	30.7 <sup>c</sup>	36.5 <sup>a</sup>	27.3 <sup>de</sup>	26.6 <sup>e</sup>	28.2 <sup>d</sup>	26.9 <sup>e</sup>	***	***	***	0.10

APCa: dieta alta en proteína cruda con antibiótico; APCap: dieta alta en proteína cruda con antibiótico y con probiótico; APCp: dieta alta en proteína cruda con probiótico; BPC: dieta baja en proteína cruda; BPCp: dieta baja en proteína cruda con probiótico; *P*: probabilidad estadística; E: efecto de la edad; D: efecto de la dieta; ExD: efecto de la interacción entre edad y dieta; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; EEM: error estándar de la media; <sup>a, b, c, d, e, f</sup>: valores con diferentes literales en una misma fila indican diferencias estadísticas significativas debidas a la interacción entre edad y dieta.

## 6. Discusión

### 6.1 Comportamiento productivo

El nivel de proteína dietética o la inclusión de antibiótico y/o probióticos no tuvieron un papel importante en los parámetros productivos de los animales en el presente trabajo. El efecto del antibiótico no se observó en los animales que consumieron las dietas altas en proteína (APCa y APCap). Esto difiere de lo que indica la literatura donde se ha visto que el antibiótico en la dieta funciona como promotor de crecimiento (Opapeju *et al.*, 2009). Stein y Kil (2006), Wellock *et al.* (2006) y Opapeju *et al.* (2009) mencionan que los animales alimentados con una dieta alta en proteína y con antibiótico deben tener un crecimiento acorde a su potencial genético. Sin embargo, el destete implica un desafío para los lechones debido a que durante los primeros tres días se observa un consumo errático de alimento, independientemente del tipo de dieta, mientras que unos animales comen, otros sufren una anorexia transitoria que se ve reflejada en el bajo crecimiento, lo que da lugar a una gran variación en el comportamiento productivo (Bruininx *et al.*, 2001; Lallés *et al.*, 2007; Opapeju *et al.*, 2009). En el presente experimento se observó una gran variación en las ganancias de pesos de los animales al interior de cada tratamiento. Esto probablemente no permitió diferenciar estadísticamente las diferencias numéricas observadas, tal como lo mencionan Steel y Torrie (1997). Probablemente el estrés al que se sometieron los lechones sobrepasó la capacidad del antibiótico (Stein y Kil, 2006), o de la presencia de probiótico o mismo de la reducción del nivel de proteína dietética para controlar la proliferación microbiana durante el destete, ya que, como fue mencionado anteriormente, en todos los corrales se presentaron animales con diarrea. El uso de dietas bajas en proteína no influyó en el peso de los animales, ya que como mencionan Bikker *et al.*, (2006) y Hermes *et al.* (2009), dietas bajas en proteína corregidas con aminoácidos cristalinos, aseguran una dieta balanceada para cubrir los requerimientos nutricionales de los animales.

En la semana dos posdestete, los lechones del grupo sin antibiótico mejoró sus parámetros productivos y las diferencias numéricas entre ambos grupos

desaparecieron. Esto puede deberse a que, una vez que los animales se adaptaron a la dieta (después de una semana de consumo) fueron más eficientes para digerir y absorber los componentes dietéticos e incrementaron la capacidad de utilización de los nutrimentos para su crecimiento (Lallès *et al.*, 2007).

La respuesta encontrada en el presente trabajo en relación al uso de probióticos no fue la esperada. Meng *et al.* (2010) refieren que uno de los mecanismos de acción de los probióticos es mejorar la digestión de los nutrientes debido a que las bacterias proveen de enzimas exógenas al animal, las cuales digieren nutrimentos que el animal no está en capacidad de digerir (Alexopoulos *et al.*, 2004). Esto es muy importante en los lechones recién destetados, ya que poseen un tracto gastrointestinal inmaduro, siendo incapaces de digerir completamente el alimento, por lo que la presencia de probiótico debería ser benéfica, permitiendo que el animal obtenga una mayor cantidad de nutrientes que puedan ser asimilados para su crecimiento (Lallès *et al.*, 2007). Sin embargo, en la literatura se han encontrado datos controversiales, en donde se menciona que los probióticos tienen un efecto benéfico sobre el crecimiento de los animales (Escobar *et al.*, 2014), en otros estudios se observa que al contrario, los probióticos tiene un efecto detrimental en la salud intestinal del cerdo, lo que conlleva a pérdidas importantes de peso (Yan *et al.*, 2009; Meng *et al.*, 2010). Probablemente estas controversias tienen que ver con el tipo, la dosis y el tiempo de consumo del probiótico, o que los productos comerciales no cumplen con las características adecuadas que reportan Figueroa *et al.* (2006) y Choudhari *et al.* (2008).

## **6.2 Monitoreo de diarreas**

En el presente trabajo, independientemente de la dieta consumida, todos los corrales presentaron lechones con diarrea y ésta tuvo un grado mediano de severidad, lo que indica que fue un evento inherente al estrés, de origen nutricional o no, al que los lechones se enfrentaron en la primera semana después del destete (Dirkzwager *et al.*, 2005).

En la mayoría de los trabajos descritos en la literatura se observa un efecto positivo en la reducción de las diarreas posdestete al reducir el nivel de proteína cruda en la dieta (Ball y Aherne, 1987; Yue y Qiao, 2008; Wellock *et al.*, 2008; Heo *et al.*, 2009). Sin embargo, en el presente trabajo durante todo el periodo experimental, los animales que consumieron la dieta alta en proteína con antibiótico (APCa) tuvieron la menor presencia y severidad de diarreas en relación a los que consumieron las dietas bajas en proteína, mostrando que el antibiótico fue más efectivo, manteniendo controlada a la población bacteriana y sus procesos fermentativos (Hermes *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2014). Esta controversia aparentemente puede ser explicada por la concentración de proteína dietética. En este trabajo las dietas bajas en proteína tenían 18% de PC, mientras que datos publicados por diferentes autores evidencian que el consumo de dietas con niveles menores a 18% de PC reduce la fermentación proteínica en el tracto gastrointestinal (Nyachoti *et al.*, 2006; Htoo *et al.*, 2007; Heo *et al.*, 2009; Escobar *et al.*, 2014), mejora la consistencia fecal (Yue y Qiao, 2008; Wellock *et al.*, 2008) y disminuye la respuesta inflamatoria del tracto gastrointestinal, favoreciendo una mejor salud intestinal (Opapeju *et al.*, 2009).

La adición de probióticos a la dieta alta en proteína con antibiótico (APCap), no mostró un efecto sinérgico en la reducción de las diarreas, indicando que probablemente la presencia de antibiótico inactivó la acción esperada de los probióticos en el control de las diarreas. Tampoco la adición de probiótico a la dieta baja en proteína (BPCp) produjo un efecto positivo. Estos resultados contradicen a Morales *et al.* (2014), quienes utilizaron el mismo probiótico del presente estudio y no observaron diferencias en la presencia y severidad de diarreas adicionando a las dietas antibiótico y/o probióticos. También Estienne *et al.* (2005) reportan que los lechones alimentados con dietas adicionadas con probióticos tuvieron una baja presencia y severidad de diarreas.

La efectividad de los probióticos no siempre es consistente, ya que estos no necesariamente son benéficos a los cerdos, debido a las variaciones en el diseño

de los protocolos de investigación y a su interacción con microorganismos comensales y patógenos dentro del intestino (Alexopoulos *et al.*, 2004). Así mismo, Yan *et al.* (2009) y Meng *et al.* (2010), postulan que el efecto de los probióticos depende del tipo de probiótico utilizado, la dosis ofrecida y la concentración de los nutrientes en las dietas que los adicionan, así como de las variaciones que pueden observarse entre los animales; es por esto que en algunos casos se observan efectos benéficos y en otros efectos dañinos.

La baja presencia de las diarreas en la primera semana posdestete y su incremento en la segunda semana, probablemente puede deberse a un mayor consumo de alimento, que trae consigo una alta disponibilidad de sustrato para la proliferación de bacterias potencialmente patógenas (Williams *et al.*, 2005; Lallès *et al.*, 2007). Los animales de este estudio incrementaron su consumo diario de alimento en un 40% en promedio entre la primera y segunda semana posdestete. Los lechones durante las dos primeras semanas posdestete están pasando por un proceso de adaptación y de incremento de su capacidad digestiva. La severidad de las diarreas también mostró un comportamiento similar a la presencia de las mismas en función del tiempo posdestete, lo que corrobora lo reportado Escobar *et al.* (2014). Sin embargo, comparando los resultados de este trabajo con los presentados por estos autores, se observa un índice de severidad de diarreas promedio mayor de los animales del presente trabajo en la semana dos en relación a lo reportado por ellos (2.3 vs 1.8), a pesar de la similitud que presentan en la semana uno posdestete (0.7 vs 0.8). Esto sugiere que las condiciones experimentales (manejo, higiene, etc.) juegan un papel importante en la severidad de las diarreas posdestete (Le Bellego y Noblet, 2002; Dirkwager *et al.*, 2005).

### **6.3 Peso de órganos digestivos**

El desarrollo del páncreas está influenciado por la cantidad de alimento consumido por los lechones en el periodo posdestete (Lallès *et al.*, 2007). Entre los días 7 y 14 posdestete se incrementó el consumo de alimento (254 g en promedio) y eso además del nivel de proteína en la dieta, hizo que aquellos animales que



consumieron dietas altas en proteína presentaron un páncreas más pesado, esto debido a la función enzimática que tiene que desarrollar el animal para poder desdoblar los nutrimentos ingeridos. Por otro lado, los animales que consumieron las dietas bajas en proteína, no tuvieron el sustrato necesario para estimular el crecimiento del páncreas, por lo cual este órgano fue más pequeño (Lallès *et al.*, 2004).

En cuanto al peso del estómago, no se observaron diferencias significativas debidas a la edad ni a las dietas, esto puede deberse a que el estómago crece conforme el animal va creciendo (Nyachoti *et al.*, 2006).

En el caso del peso relativo del hígado, no presentó diferencias significativas debidas a las dietas, pero sí debido a la edad, lo cual coincide con Quiniou y Noblet (1995), quienes indican que este órgano se desarrolla a la par del animal, debido a su importancia metabólica, ya que su función no se limita solo a metabolismo proteico.

Por otro lado, el desarrollo del intestino delgado presentó diferencias significativas debidas a la edad y a la dieta, quienes interactúan influenciando el crecimiento del órgano. Entre los días 7 y 14 posdestete, los animales que consumieron la dieta APCa incrementaron el peso relativo del intestino delgado muy probablemente debido a que el antibiótico controló los desafíos que pueden presentarse en intestino delgado, debido al uso de dietas altas en proteína. Como lo mencionan Stein y Kil (2006), uno de los efectos de los antibióticos sobre el intestino es incrementar el crecimiento del órgano. Los animales que consumieron las dietas APCp y BPCp no presentaron diferencias, ya que a pesar de la disminución de consumo de alimento observada durante los primeros 3 días posdestete, el órgano comienza su recuperación justo cuando los lechones comienzan a consumir alimento (de Lange y Coudenys, 1996).

Los animales que consumieron la dieta BPC también experimentaron un crecimiento del intestino delgado entre los días 7 y 14 posdestete, esto está relacionado probablemente con un incremento en el consumo de alimento y que dicha dieta estaba corregida con aminoácidos esenciales permitiendo un desarrollo adecuado del órgano.

Los animales que consumieron las dietas APCap, APCp y BPCp no presentaron diferencias en el peso del intestino delgado, lo cual podría indicar que el probiótico no tiene un efecto adecuado sobre el medio ambiente intestinal que favorezca el crecimiento del órgano, ya que como lo menciona Estienne *et al.* (2005), el efecto de los probióticos a nivel intestinal depende de diferentes factores como lo son: tipo de probiótico, protocolo utilizado, estado sanitario del animal, etc.

El desarrollo del intestino grueso, se ve influenciado por el sustrato que llega a su luz (Williams *et al.*, 2005). Los lechones al ser destetados sufren trastornos gastrointestinales que limitan su digestión, es claro que el principal componente de las dietas de los lechones es la proteína, por lo que es el nutrimento que más llega al intestino grueso. La proteína que alcanza esta porción intestinal es fermentada por los microbios y producen metabolitos que pueden causar daños importantes en la mucosa intestinal, con pérdida de células, lo cual influye de manera importante en el peso del órgano. Otro de los componentes dietéticos que puede alcanzar la luz del intestino grueso es la fibra, ésta es fermentada produciéndose ácidos grasos de cadena corta, los cuales favorecen el crecimiento del órgano (Montagne *et al.*, 2003; Hermes *et al.*, 2010). En el presente estudio, la diferencia del contenido de fibra detergente neutro entre las dietas altas y bajas en proteína solo alcanzó un 2%, lo cual probablemente no fue suficiente para marcar una diferencia debida a los tratamientos. La edad posdestete en el presente estudio, tampoco influyó en el crecimiento del órgano, ya que en este caso el órgano creció simultáneamente con el animal, impidiendo observar diferencias significativas (Cuadro 5).

#### **6.4 Morfología de vellosidades intestinales**

Varios autores postulan que las vellosidades intestinales se atrofian durante los primeros días posdestete debido a una disminución en el consumo de alimento, para posteriormente recuperarse en las semanas siguientes, una vez que se recupere el consumo de alimento (Pluske *et al.*, 1997; Lallès *et al.*, 2004; Hedemann *et al.*, 2003). En el presente estudio se evidencia la interacción existente entre la edad posdestete y las diferentes dietas. Entre los días 7 y 14 posdestete, aquellos animales que consumieron las dietas altas en proteína, presentaron un incremento en la altura de las vellosidades intestinales, muy probablemente se deba al efecto combinado que tiene un mayor consumo de alimento durante la segunda semana posdestete, una mejor adaptación a la dieta y una alta biodisponibilidad de nutrientes que pueden ser utilizados para la recuperación de las vellosidades intestinales, además del efecto que tiene el antibiótico en la dieta APCa (Lallès *et al.*, 2007).

Las dietas bajas en proteína tienden a proteger al epitelio intestinal por medio de la producción de ácidos grasos volátiles, sobre todo el butírico que estimula el crecimiento de las vellosidades (Burrin *et al.*, 2001), lo cual puede comprobarse con el tamaño de las vellosidades observado en el presente estudio, comparándolas con las vellosidades de los animales que consumieron las dietas APCap y APCp los cuales presentaron una mayor atrofia debido probablemente al efecto dañino que tienen los productos de la fermentación de proteína (ácidos isobutírico, isocaproico e isovalérico, amonio y aminos) (Windey *et al.*, 2012).

El incremento de la profundidad de las criptas de Lieberkühn observada en el presente trabajo, indica un comportamiento esperado, ya que varios autores mencionan que a medida que la vellosidad se atrofia se presenta un incremento en la profundidad de las criptas (Hedemann *et al.*, 2003; Lallès *et al.*, 2007). Tal es el caso de los animales que consumieron las dietas APCap, APCp, BPC y BPCp, los cuales presentaron la mayor profundidad de criptas, contrario a los animales

que consumieron la dieta APCa quienes presentaron las criptas más pequeñas, en todas las porciones intestinales.

En cuanto a la profundidad de las criptas del colon, los animales que consumieron la dieta APCa presentaron las criptas más pequeñas, lo cual evidencia el efecto del antibiótico limitando la presencia de bacterias potencialmente patógenas, preservando la mucosa intestinal en buen estado, como lo aseveran Opapeju *et al.* (2009) y Hermes *et al.* (2010). El uso de dietas sin antibiótico pudo haber estimulado el crecimiento de las criptas en el colon por medio de 2 mecanismos: 1) la presencia de una gran cantidad de proteína dietética en el colon incrementó la producción de metabolitos de la fermentación bacteriana, los cuales dañaron la mucosa intestinal, causando una pérdida de células que debieron ser rápidamente reemplazadas provocando un incremento de la tasa mitótica en las criptas de dicho órgano, produciendo su hiperplasia y por ende un incremento en la profundidad de las criptas (Windey *et al.*, 2012). 2) la disminución de la cantidad de proteína en la dieta dada a través de un incremento de carbohidratos en la misma, pudo favorecer un perfil de fermentación “benéfico”, el cual mejoró la producción de ácido butírico del cual se sabe tiene propiedades proliferativas a nivel de las criptas intestinales. (Burrin *et al.*, 2001). De manera contraria, este efecto no se observó en las criptas de los animales que consumieron la dieta BPC, muy probablemente debido a que durante la segunda semana posdestete los animales se adaptaron mejor a la dieta, disminuyendo el desafío que implica el destete sobre la mucosa intestinal. Los animales que consumieron la dieta BPCp, presentaron criptas más profundas al día 14 posdestete, evidenciando el posible efecto simbiótico existente entre una mayor disponibilidad de carbohidratos en la dieta baja en proteína y la presencia de probióticos en ésta. Estienne *et al.* (2005) mencionan que los probióticos al tener un sustrato que consumir, incrementan la producción de ácidos grasos volátiles, entre ellos el butírico, el cual produce el efecto trófico a nivel intestinal como se mencionó anteriormente.

## 6.5 Cuantificación de mucinas

La mucina es una secreción que forma una capa mucosa sobre el epitelio intestinal que tiene la función de proteger a las células del tracto gastrointestinal de los componentes dañinos presentes en la digesta (Abbasi *et al.*, 2014).

La secreción de mucinas en el tracto gastrointestinal puede estar influenciada por varios factores de la dieta, tales como el nivel de proteína, la cantidad de treonina, la ausencia o presencia de antibiótico, la cantidad de polisacáridos no amiláceos (PNA), así como la microbiota asociada a la mucosa y a la digesta intestinal (Montagne *et al.*, 2003; Nichols y Bertolo, 2008; Duerkop *et al.*, 2009; Abbasi *et al.*, 2014).

Nichols y Bertolo (2008) y Abbasi *et al.* (2014) mencionan que las dietas bajas en proteína disminuyen la presencia de células de Goblet en el yeyuno, lo cual se ve reflejado en una menor secreción de mucinas, pero en el momento en que se adiciona treonina en una dieta baja en proteína, el número de células de Goblet se incrementa produciéndose una mayor cantidad de mucinas. El presente estudio corrobora lo dicho anteriormente, ya que tanto en yeyuno como en colon los lechones que se alimentaron con dietas bajas en proteína (BPC y BPCp) tuvieron una secreción de mucinas incluso mayor a las que se observaron en el yeyuno de los animales que consumieron dietas altas en proteína adicionadas con antibiótico (APCa y APCap) al día 7 posdestete.

Las mucinas son particularmente ricas en treonina, prolina y serina, de estos, la treonina representa entre el 28 y 40% del total del perfil de aminoácidos de las mucinas (Abbasi *et al.*, 2014). Por lo anterior, la corrección de estos aminoácidos esenciales en la dieta, es fundamental para una adecuada secreción de mucinas. Esto indica que las dietas bajas en proteína tenían un perfil adecuado de aminoácidos.

Entre los días 7 y 14, la secreción de mucinas se incrementó en los animales que consumieron las dietas altas en proteína y en mayor cantidad en los animales que consumieron la dieta APCp, muy probablemente esto se debió a que la ausencia de antibiótico en esta dieta propició la proliferación de bacterias patógenas, lo que causó una respuesta por parte de la mucosa secretando más mucinas. Los animales que consumieron las dietas bajas en proteína mantuvieron constante la secreción de mucinas entre los días 7 y 14 posdestete, tanto en yeyuno como en colon, esto se debe muy probablemente a que la disminución en la cantidad de proteína dietética favorece el establecimiento de un equilibrio a nivel intestinal, haciendo innecesario una respuesta por parte de la mucosa, desde el punto de vista de secreción de mucinas (Abbasi *et al.*, 2014).

La secreción de mucinas sirve como barrera inmune en contra del establecimiento de bacterias patógenas en el epitelio intestinal (Johansson *et al.*, 2008). La inclusión de antibióticos en la dieta contribuye a la disminución de la carga bacteriana patógena y no patógena, lo cual disminuiría la secreción de mucinas intestinales. El presente trabajo demostró que el uso de antibiótico en las dietas indujo una menor secreción de mucinas en yeyuno, en comparación con las dietas que no tuvieron antibiótico (APCp, BPC y BPCp) (Cuadro 7).

Morel *et al.* (2003) y Hedemann *et al.* (2003) mencionan que la cantidad de fibra en la dieta puede influenciar una mayor secreción de mucinas, por el efecto abrasivo que tiene ésta sobre el epitelio intestinal, por lo que, indirectamente, los animales que consumen dietas con un mayor contenido de fibra se verán protegidos contra la proliferación bacteriana patógena. En este estudio la concentración de fibra detergente neutro fue similar entre los tratamientos, indicando que el factor fibra dietética no tuvo influencia sobre la secreción de mucinas.

La mucina participa en el proceso de translocación bacteriana que se presenta entre el hospedero y la microbiota autóctona, lo cual genera el establecimiento de

condiciones óptimas para el mantenimiento de la salud intestinal, impidiendo la translocación de bacterias patógenas (Hooper, 2004; Duerkop *et al.*, 2009). En el presente experimento, se observó que la inclusión de probióticos en las dietas no generó cambios en la secreción de mucinas.

## **7. Conclusiones**

La variación observada en los pesos de los animales durante los 14 días posdestete no permitió que se encontraran diferencias significativas en la GDP, por lo que hubiera sido deseable utilizar un mayor número de animales para la prueba de comportamiento.

Con los datos obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que ni el nivel de proteína ni la adición de probióticos en las dietas de lechones recién destetados tuvieron un impacto similar al uso de antibióticos (APCa) sobre la presencia y severidad de las diarreas, lo que confirma su efectividad en dosis subterapéuticas para prevenir las diarreas posdestete.

El crecimiento del páncreas y del intestino delgado se vio influenciado por las dietas consumidas por los lechones, ya que previnieron la baja del peso relativo del páncreas entre el día 0 y 7 posdestete. El incremento en el nivel de proteína cruda y la adición de antibiótico y probiótico, previno la disminución de peso relativo del intestino delgado durante la primera semana posdestete.

El desarrollo de las vellosidades del intestino delgado presentó el comportamiento esperado, observándose vellosidades altas en los animales que no consumieron ninguna de las dietas experimentales, para posteriormente observar una caída en su tamaño al día 7 posdestete y una recuperación al día 14 posdestete. Sin embargo, la dieta APCa provocó una recuperación más rápida de las vellosidades en todas las porciones intestinales, lo cual puede relacionarse directamente con la disminución en la presencia y severidad de las diarreas posdestete. En las criptas del intestino grueso, se observó claramente el efecto de los componentes dietéticos, puesto que se encontraron las criptas más pequeñas en los animales que consumieron la dieta APCa. No está muy claro si los resultados observados en la profundidad de las criptas de colon, se deben al efecto trófico que produce una mayor concentración de ácidos grasos volátiles por la fermentación de carbohidratos, principalmente el butirato o por el efecto que tiene la diarrea sobre



el epitelio intestinal, ya que estos animales presentaron una alta presencia y severidad de diarreas.

A nivel de colon se presenta una mayor secreción de mucinas que en yeyuno. El efecto sobre la producción de mucinas, es debido a la cantidad de proteína en la dieta y al antibiótico, no siendo muy claro el efecto del probiótico y su combinación con el antibiótico sobre dicha variable, por lo que es importante investigar el efecto que tienen los antibióticos sobre los probióticos, porque puede ser que los antibióticos hayan modulado el efecto de los probióticos en la dieta APCap.

Por lo anterior, se puede concluir que ni el uso de dietas bajas en proteína ni de probióticos son capaces de igualar los parámetros productivos ni la presencia y severidad de las diarreas observadas en lechones que reciben dietas suplementadas con antibióticos.

## 8. Literatura citada

- Abbasi M.A., Mahdavi A.H., Samie A.H., Jahanian R. 2014. Effects of different levels of dietary crude protein and threonine on performance, humoral immune responses and intestinal morphology of broiler chicks. *Braz. J. Poult. Sci.* 16:35-44.
- Alexopoulos C., Georgoulakis I.E., Tzivara A., Kyriakis C.S., Govaris A., Kyriakis S.C. 2004. Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. *J. Vet. Med.* 51: 306-312.
- Bach Knudsen K. E. 2001. The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 90: 3-20.
- Ball R.O., Aherne F.X. 1987. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. *Can. J. Anim. Sci.* 67: 1105-1115.
- Bikker P., Dirkzwager A., Fledderus J., Trevisi P., le Huërou-Luron I., Lallès J.P., Awati A. 2006. The effect of dietary protein and fermentable carbohydrates levels on growth performance and intestinal characteristics in newly weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 84: 3337-3345.
- Bikker P., Dirkzwager A., Fledderus J., Trevisi P., le Huërou-Luron I., Lallès J.P., Awati A. 2007. Dietary protein and fermentable carbohydrates contents influence growth performance and intestinal characteristics in newly weaned pigs. *Livest. Sci.* 108: 194-197.
- Bruininx E.M.A.M., van der Peet-Schwering C.M.C., Schrama J.W., Veijken P.F.G., Vesseur P.C., Everts H., Den Hartog L.A., Beynen A.C. 2001. Individually measured feed intake characteristics and growth performance of group-housed weanling pigs: effects of sex, initial body weight, and body weight distribution within groups. *J. Anim. Sci.* 79: 301-308.

- Bry L., Falk P.G., Midtvedt T., Gordon J.L. 1996. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem. *Science*. 273:1380-1383.
- Burrin D.G., Petersen Y., Stoll B., Sangild P. 2001. Glucagon-like peptide 2: A nutrient-responsive gut growth factor. *J. Nutr.* 131: 709-712.
- Canibe N., Miettinen H., Jensen B.B. 2008. Effect of adding *Lactobacillus plantarum* or a formic acid containing-product to fermented liquid feed on gastrointestinal ecology and growth performance of piglets. *Livest. Sci.* 114: 251-262.
- Carneiro M.S.C., Lordelo M.M., Cunha L.F., Freire J.P.B. 2008. Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 146: 124-136.
- CIOMS. 2012. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals. Council for International Organization of Medical Sciences and The International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS). [http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guiding\\_Principles\\_2012.pdf](http://grants.nih.gov/grants/olaw/Guiding_Principles_2012.pdf). Consultado el 13 diciembre 2014.
- Cranwell P.D. 1995. Development of the neonatal gut and enzyme systems. CAB International. 99-154.
- Chaucheyras-Durand F., Durand H. 2008. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef. Microb.* 1:3-9.
- Choudhari A., Shinde S., Ramteke B.N. 2008. Prebiotics and probiotics as health promoter. *Vet. World* 1: 59-61.

- de Lange K., Coudenys K. 1996. Interactions between nutrition and the expression of genetic performance potentials in grower-finisher pigs. University of Guelph. <http://www.nsif.com/conferences/1996/delange.htm>. Consultado el 15 enero 2015.
- Diario Oficial de la Federación. 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México, D.F.
- Dirkzwager A., Veldman B., Bikker P. 2005. A nutritional approach for the prevention of post weaning syndrome in piglets. *Anim. Res.* 54:231-236.
- Dong G., Zhou A., Yang F., Chen K., Wang K., Dao D. 1996. Effect of dietary protein levels on the bacterial breakdown of protein in the large intestine, and diarrhoea in early weaned piglets. *Acta Vet. Zootec. Sin.* 27:293-302.
- Donohoe D.R., Garge N., Zhang X., Sun W., O'Connell T.M., Bunger M.K., Bultman S.J. 2011. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab.* 13: 517-526.
- Duerkop B.A., Vaishnava S., Hooper L.V. 2009. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Cell* 31: 368-376.
- Escobar G. K., Reis de Souza T.C., Mariscal L.G., Aguilera B.A., Bernal M.G., Gómez S.J. 2014. Microbial fermentation patterns, diarrhea incidence, and performance in weaned piglets fed a low protein diet supplemented with probiotics. *Food Nutr. Sci.* 5: 1776-1786.
- Estienne M.J., Hartsock T.G., Harper A.F. 2005. Effects of antibiotics and probiotics on suckling pig and weaned pig performance. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 3: 303-308.

- Faure M., Moénnoz D., Montigon F., Fay L., Breuillé D., Finot P., Ballèvre O., Boza J. 2002. Development of a rapid and convenient method to purify mucins and determine their *in vivo* synthesis rate in rats. *Anal. Bioch.* 307: 244-251.
- Figueroa V.J.L., Chi M.E., Cervantes R.M., Dominguez V.I. 2006. Alimentos funcionales para cerdos al destete. *Vet. Méx.* 37: 117-136.
- Gaskins H.R., Collier C.T., Anderson D.B. 2002. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Anim. Biotechnol.* 13: 29-42.
- Hedemann M.S., Højsgaard S., Jensen B.B. 2003. Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 87:32-41.
- Heo J.M., Kim J.C., Hansen C.F., Mullan B.P., Hampson D.J., Pluske J.R. 2009. Feeding a diet with decreased protein content reduces indices of protein fermentation and the incidence of postweaning diarrhoea in weaned pigs challenged with an enterotoxigenic strain of *Escherichia coli*. *J. Anim. Sci.* 87: 2833-2843.
- Heo J.M., Opapeju F.O., Pluske J.R., Kim J.C., Hampson D.J., Nyachoti C.M. 2012. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Phys. Anim. Nutr.* DOI: 10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x
- Hermes G.P., Molist F., Ywazaki M., Gomez de Segura A., Gasa J., Torrallardona D., Pérez J.F. 2010. Effects of type of cereal and fiber level on growth and parameters of the gastrointestinal tract in young pigs. *Livest. Sci.* 133: 225-228.
- Hermes R.G., Molist F., Ywazaki M., Nofrarias M., Gomez de Segura A., Gasa J., Pérez J.F. 2009. Effect of dietary level of protein and fiber on the productive performance and health status of piglets. *J. Anim. Sci.* 87: 3569-3577.

- Hetty M.G., van Beers S., Nabuurs M.J.A., Vellenga L., van der Valk H.J.K., Wensing T., Breukink H.J. 1998. Weaning and the weanling diet influence the villous height and crypt depth in the small intestine of pigs and alter the concentrations of short-chain fatty acids in the large intestine and blood. *J. Nutr.* 128: 947-953.
- Hooper L.V. 2004. Bacterial contribution to mammalian gut development. *Trends Microbiol.* 12: 21-28.
- Htoo J.K., Araiza B.A., Sauer W.C., Rademacher M., Zhang Y., Cervantes M., Zijlstra R. T. 2007. Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 85: 3303-3312.
- Johansson M., Phillipson M., Petersson J., Velcich A., Holm L., Hansson G. 2008. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *PNAS.* 105: 15064-15069.
- Konstantinov S.R., Kuipers E.J., Peppelenbosch M.P. 2013. Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10: 741-745.
- Lallès J.P., Bosi P., Smidt H., Stokes C. 2007. Weaning a challenge to gut physiologists. *Livest. Sci.* 108: 82-93.
- Lallès J.P., Boudry G., Favier C., Le Floc'h N., Luron I., Montagne L., Oswald I.P., Pié S., Piel C., Sève B. 2004. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim. Res.* 53: 301-316.
- Le Bellego L., Noblet J. 2002. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglets fed low protein diets. *Livest. Prod. Sci.* 76: 45-58.
- Le Bon M., Davies H.E., Glynn C., Thompson C., Madden M., Wiseman J., Dodd C.E.R., Hurdidge L., Payne G., Le Treut Y., Craigon J., Töttemeyer S.,

Mellits K.H. 2010. Influence of probiotics on gut health in the weaned pig. *Livest. Sci.* 133: 179-181.

- MacFarlane G.T., Cummings J.H. 1991. The colonic flora, fermentation, and large bowel digestive function. In: Phillips S.F., Pemberton J.H., Shorter R.G., eds. *The Large Intestine: Physiology, Patophysiology and Disease*. Raven Press, New York.
- Makkink C.A., Berntsen J.M., op den Kamp B., Kemp B., Verstegen M. 1994. Gastric protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to two different dietary protein sources in newly weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 72: 2843-2850.
- Meng Q.W., Yan L., Ao X., Zhou T.X., Wang J.P., Lee J.H., Kim I.H. 2010. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 88: 3320-3326.
- Montagne L., Pluske J.R., Hampson D.J. 2003. A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young and non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Tech.* 108: 95-117.
- Morales J.P., Moneta A.I., Reis de Souza T.C., Machado G.Y., Mariscal L.G., Aguilera B.A., Escobar G.K. 2014. Efecto del nivel de proteína dietética y del uso de un probiótico (*Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*) en dietas para lechones sobre las diarreas posdestete. En *Memorias de VII Foro de Investigación de Posgrado, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México*. pp. 132-142.
- Morel P.C.H., Padilla R.M., Ravindran G. 2003. Effect of non-starch polysaccharides on mucin secretion and endogenous amino acid losses in pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16: 1332-1338.

- Mouricourt, M.A., Julien R.A. 1987. Pilus-mediated binding of bovine enterotoxigenic *Escherichia coli* to calf intestinal mucins. *Infect. Immun.* 55: 1216-1223.
- Nabuurs M.J.A., van Zijderveld F.G., Leeuw P.W. 1993. Clinical and microbiological field studies of diarrhoea in pigs at weaning in the Netherlands. *Res. Vet. Sci.* 55:70-77.
- Nichols N., Bertolo R. 2008. Luminal threonine concentration acutely affects intestinal mucosal protein and mucin synthesis in piglets. *J. Nutr.* 138: 1298-1303.
- NRC. 2012. Nutrient Requirements of Swine. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nyachoti C.M., Omogbenigun O., Rademacher M., Blank G. 2006. Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J. Anim. Sci.* 84: 125-134
- Opapeju F.O., Krause D.O., Payne R.L., Rademacher M., Nyachoti C.M. 2009. Effect of dietary protein level on growth performance, indicators of enteric health, and gastrointestinal microbial ecology of weaned pigs induced with postweaning colibacillosis. *J. Anim. Sci.* 87: 2635-2643.
- Pluske, J.R., Hampson D.J., Williams I.H. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livest. Prod. Sci.* 51: 215-236.
- Quiniou N., Noblet J. 1995. Prediction of tissular body composition from protein and lipid deposition in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 73: 1567–1575.
- Quintero M.A., Huerta L.N. 1996. Uso de probióticos en la nutrición de cerdos, una revisión. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 4: 75-82.



- Robinson C., Bohannon B., Young V. 2010. From structure to function: the ecology of host-associated microbial communities. *Microb. A. Mol. Biol. Rev.* 74: 453-476.
- Roca-Canudas M., Anguita M., Nofrarías M., Majó N., Pérez de Rozas A.M., Martín-Orúe S.M., Pérez J.F., Pujols J., Segalés J., Badiola I. 2007. Effects of different types of dietary non-digestible carbohydrates on the physico-chemical properties and microbiota of proximal colon digesta of growing pigs. *Livest. Sci.* 109: 85-88.
- Reis de Souza T., Mariscal L.G., Escobar G.K. 2010. Algunos efectos fisiológicos y nutricionales que afectan la presencia de diarreas posdestete en lechones. *Vet. Méx.* 41: 275-288.
- Reis de Souza T., Mariscal L.G., Escobar G.K., Aguilera B.A., Magné B.A. 2012. Cambios nutrimentales en el lechón y desarrollo morfofisiológico de su aparato digestivo. *Vet. Méx.* 43: 155-173.
- Sangild P.T., Petersen Y.M., Schmidt M., Elnif J., Petersen T.K., Buddington R.K., Greisen G., Michaelsen K.F., Burrin D.G. 2002. Preterm birth affects the intestinal response to parenteral and enteral nutrition in newborn pigs. *J. Nutr.* 132: 2673-2681.
- SAS. 2008 SAS/STAT User's Guide (Version 6, 4<sup>th</sup> Ed.). Cary NC: SAS Inst. Inc.
- Sharma R., Schumacher U. 1995. The influence of diets and gut microflora on lectin binding patterns of intestinal mucins in rats. *Lab. Invest.* 73: 558-564.
- Steel R.G.D., Torrie J.H. 1997. Principles and procedures of statistics. A Biometrical approach. 6<sup>th</sup> Edition. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd.
- Stein H.H., Kil D.Y. 2006. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: Dietary tools, Part 2. *Anim. Biotechnol.* 17: 217-231.

- Taciak M., Pastuszewska B., Tuśnio A., Świąch E. 2010. Effects of two protein and fibre sources on SCFA concentration in pig large intestine. *Livest. Sci.* 133:138-140.
- Vásquez C.M., Vega A.H. 2012. Desarrollo del epitelio del tracto intestinal y su participación en la defensa del organismo en mamíferos. *REDVET*. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070712.html>. Consultado 25 agosto 2014.
- Vente-Spreeuwenberg M.A.M., Beynen A.C. 2003. Diet-mediated modulation of small intestinal integrity in weaned piglets. In: *Weaning the Pig, Concepts and Consequences*, pp 145-199. Wageningen: Wageningen Academic Publisher.
- Walker W.A. 2008. Mechanism of action of probiotics. *Clin. Infect. Diseases* 46:S86-91.
- Wellock I.J., Houdijk J.G.M., Kyriazakis I. 2006. Effect of dietary non-starch polysaccharide solubility and inclusion level on gut health and the risk of post weaning enteric disorders in newly weaned piglets. *Livest. Sci.* 108: 186-189.
- Wellock I.J., Fortomaris P.D., Houdijk J.G.M., Kyriazakis I. 2008. Effects of dietary protein supply, weaning age and experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection on newly weaned pigs: health. *Animal*. 2: 834-842.
- Williams B.A., Bosch M.W., Awati A., Konstantinov S.R., Smidt H., Akkermans A.D.L., Verstegen M.W.A., Tamminga S. 2005. *In vitro* assessment of gastrointestinal tract (GIT) fermentation in pigs: Fermentable substrates and microbial activity. *Anim. Res.* 54: 191-201.
- Windey K., De Preter V.Y., Verbeke Z. 2012. Protein fermentation to gut health. *Mol. Nutr. Food Res.* 56: 184-196.

- Wu G., Bazer F.W., Johnson G.A., Knabe D.A., Burghardt R.C., Spencer T.E., Li X.L., Wang J.J. 2011. Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. *J. Anim. Sci.* 89: 2017-2030.
- Yan L., Wang J.P., Kim H.J. 2009. Influence of essential oil supplementation and diets with different nutrient densities on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, meat quality and fecal noxious gas content in grower- finisher pigs. *Livest. Sci.* 128: 115-122.
- Yue L.Y., Qiao S.Y. 2008. Effects of low-protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 weeks after weaning. *Livest. Sci.* 115: 144-152.