

## ESTIMULADORES DE LA INMUNIDAD

Gerardo Santomá  
TECNA. Barcelona.

### 1.- INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos estamos asistiendo en Europa a una presión creciente para que se disminuya el uso de antibióticos y promotores de crecimiento en la producción animal. Desde 1970 la Comisión de la U.E. ha prohibido 16 sustancias. Más recientemente, se han prohibido algunos promotores de crecimiento de naturaleza antibiótica (e.g. todos en Suecia, Avoparcina, Virginiamicina en Dinamarca) y se están estableciendo los límites máximos de residuos en los productos animales con el consiguiente establecimiento de períodos de retirada para tales antibióticos.

Todo ello, junto a una demanda creciente por parte del consumidor de productos cada vez más naturales y los riesgos de desarrollo de microorganismos patógenos en medicina humana resistentes a determinados antibióticos, ha desencadenado que o bien por imperativo legal, o bien por demanda del mercado, los fabricantes de pienso de los países del norte y centro de Europa estén disminuyendo el uso de este tipo sustancias.

En esta situación, dado que los promotores de crecimiento funcionan tanto mejor cuanto peores son las condiciones de explotación, por el control que ejercen sobre la microflora intestinal y por la mejora en la utilización de los nutrientes, parece que el camino lógico, por lo que a la nutrición se refiere, sea el de intentar *optimizar la capacidad de defensa del animal*, especialmente en aquellas situaciones de inmunodepresión o inmunosupresión fisiológicas causadas por factores de manejo (e.g. destetes precoces, transportes, densidades, restricciones nutritivas), por factores ambientales (temperaturas, ventilaciones, humedades relativas), o por factores patológicos (e.g. virus inmuno-depresores).

### 2.- TIPOS DE ADITIVOS QUE MEJORAN LA CAPACIDAD DE DEFENSA DE LOS ANIMALES FRENTE A MICROORGANISMOS PATOGENOS

En el campo de los aditivos, durante los últimos años estamos asistiendo a la proliferación de productos de muy diverso origen, cuyo objetivo está en proporcionar al animal, bien de forma exógena, bien estimulando sus propias defensas, un status de salud que haga cada vez más innecesaria la aplicación de antibióticos.

Entre estos compuestos los más utilizados y conocidos en alimentación animal están: los niveles más elevados que los estrictamente nutricionales de algunos ácidos grasos, algunas vitaminas y algunos minerales, los acidificantes, enzimas, algunos aromatizantes, antioxidantes, fungistáticos y probióticos. Además de estos compuestos habría que añadir productos de desarrollo más reciente, como son los activadores del sistema inmunitario, las inmunoglobulinas orales y los oligosacáridos bloqueadores de la adhesión de bacterias patógenas y estimuladores de la flora intestinal beneficiosa. En el cuadro 1 se resumen los principales grupos de aditivos que tienen una influencia más directa sobre la capacidad de defensa del animal clasificados según se acción principal.

**Cuadro 1.- Tipos de aditivos al pienso estimuladores de la capacidad de defensa de los animales frente a microorganismos patógenos**

<b>Administración de inmunidad pasiva.</b>	
- Inmunoglobulinas	- Proteína del plasma sanguíneo ?
<b>Administración de activadores del sistema inmunitario. Inmunoestimuladores.</b>	
- Preparados de la pared celular de bacterias, hongos y levaduras y sintéticos.	
<b>Administración de estimuladores de la respuesta inmunitaria.</b>	
- algunos ácidos grasos	- algunos microelementos
- algunas vitaminas y carotenoides	- fracciones de la proteína láctea
<b>Administración de estimuladores del crecimiento de la microflora intestinal positiva para el animal. Prebióticos.</b>	
- oligosacáridos	
<b>Administración de bloqueadores de la adhesión de bacterias patógenas a la pared intestinal.</b>	
- derivados de la manosa	- algunos silicatos
<b>Administración directa de microflora intestinal favorable.</b>	
- probióticos	- exclusión competitiva
<b>Administración de reguladores metabólicos.</b>	
- proteína antisecretora	
<b>Administración de aditivos favorecedores de un ambiente intestinal adecuado.</b>	
- acidificantes	- fungistáticos
- extractos de algunas plantas	- enzimas
- antioxidantes	- algunas arcillas

En este artículo no se van a revisar todos los tipos de aditivos reflejados en el cuadro 1, pero sí aquéllos que tienen una influencia más directa sobre el sistema inmunitario y aquéllos más novedosos o que representen en un próximo futuro, presente ya en algunos casos, una alternativa seria a los promotores de crecimiento de tipo antibiótico.

Muchas de estas alternativas que comentaremos fallan en la práctica, por varias razones:

- porque no son necesarios.
- porque su mecanismo de acción no se corresponde con la situación experimentada por el animal
- porque no se adaptan a los nuevos procesos de fabricación, o reaccionan con otros ingredientes del pienso.

Lo que es importante es profundizar en el mecanismo de acción y características de estos productos con objeto de hacer una buena elección para nuestra situación concreta, y no dejarnos llevar simplemente por “la moda”.

### **3.- ADMINISTRACION DIRECTA DE INMUNOGLOBULINAS**

En cursos anteriores se ha comentado en varias ocasiones el efecto beneficioso de la administración de proteína de plasma porcino y bovino sobre los resultados productivos y mejora del estado sanitario de los lechones (e.g. Stahly, 1996, mesas redondas 1996, 1997), de modo que no se insistirá más en el tema. Dentro de los mecanismos de acción por los cuales ocurre esta respuesta se ha comprobado que ello se debe principalmente a la acción de las inmunoglobulinas presentes en este ingrediente (Zimmerman, 1997).

También, hace años que se especula con la posibilidad de administrar inmunoglobulinas directamente a través del pienso o del agua de bebida, especialmente en lechones durante la lactancia y en situaciones de destete precoz. DeGregorio (1991) resumió estas experiencias en donde se observaron efectos positivos sobre los resultados zootécnicos y sobre la mortalidad debida a diarreas, normalmente inducidas por infección experimental de diversas cepas de *Escherichia coli* (*E.coli*). En estas experiencias se utilizaron inmunoglobulinas de diversos orígenes, como son calostro bovino, una fuente experimental de inmunoglobulinas bovinas, o una fuente de inmunoglobulinas porcinas.

Más recientemente se están experimentando extractos y derivados de huevo pasteurizado y desecado por atomización, procedentes de gallinas sujetas a vacunaciones específicas. Kramer y Cho (1970) ya indicaron que la gallina tiene la facultad de depositar anticuerpos en el huevo. Kichura (1997, 1998) reporta resultados positivos tanto en rendimientos zootécnicos como en incidencia de problemas patológicos en lechones destetados precozmente en condiciones experimentales y de campo, como consecuencia de la utilización de alguno de estos productos en el pienso o a través del agua de bebida.

En principio estos productos intervienen en la inmunidad pasiva específica, de modo que su éxito estará en consonancia con la especificidad de los anticuerpos que incluye, en relación a los agentes patógenos que se encuentre en el medio intestinal. Es

posible que en algunos casos las inmunoglobulinas actúen de forma más inespecífica simplemente impidiendo la adhesión de los agentes patógenos a la pared intestinal (Zimmerman, 1997), aspecto del mecanismo de acción aún por comprobar.

Por otra parte hay que tener en cuenta las características tecnológicas de este tipo de productos en cuanto a resistencia a temperatura, presión, humedad, presencia de minerales, y la resistencia a la digestión gástrica previa a su acción a nivel intestinal.

#### **4.- ACTIVADORES DEL SISTEMA INMUNITARIO. INMUNOESTIMULADORES**

Los inmunoestimuladores son sustancias que activan el sistema inmunitario de los animales, de forma que les hacen más resistentes a las infecciones de virus, bacterias, hongos y parásitos. Desde hace años se conoce que fragmentos de la pared celular de microorganismos confieren a los animales más resistencia frente a las infecciones microbianas (Kiser et al., 1956).

La capacidad del sistema inmunitario de responder a componentes de la superficie microbiana es fruto del proceso evolutivo en donde los animales han desarrollado mecanismos para detectar estructuras químicas comunes y frecuentes de los microorganismos potencialmente patógenos, y usar estas estructuras como “señales de alarma” para poner en marcha la defensa frente a la infección.

Por tanto, el sistema inmunitario responderá a un inmunoestimulador como si fuera desafiado por un microorganismo patógeno, y de este modo puede proteger al animal frente a una infección posterior. De hecho las vacunas, en donde la utilización de inmunoestimuladores es frecuente, son una manera de inducir resistencia a enfermedades específicas y los inmunoestimuladores elevan de manera simultánea la resistencia general del huésped a un mayor número de agentes infecciosos.

##### **4.1.- Tipos de Inmunoestimuladores. Estructura química. Mecanismo de acción**

En el cuadro 2 se reflejan las distintas sustancias inmunoestimulantes clasificadas según su origen, con su estructura química y su principal acción inmunoestimulante según Raa (1996). Hay que decir que la mayor parte de estas sustancias han sido desarrolladas para su aplicación en medicina humana, y en algunos casos se han usado en acuicultura, dada la especificidad de muchas de ellas en la activación del sistema inmunitario no específico (todo aquél que no incluye a los linfocitos, es decir: fagocitosis, neutrófilos, macrófagos, complemento, proteínas de la fase aguda, interferones y transferrina), que es el disponible en las especies acuícolas, especialmente en lo que a la actividad de macrófagos se refiere. La experiencia en producción animal no acuícola es escasa, pero este es un campo de futuro muy interesante.

Parece que dentro de los compuestos de naturaleza polisacárida, la estructura  $\beta$ -1,3 glucano es un pre-requisito básico para que este tipo de sustancias sean inmunoestimulantes y que las ramificaciones de glucosa unidas a esta estructura básica por enlace  $\beta$ -1,3 le confieren más potencia, al menos en acuicultura (Engstad, 1994). Existen receptores para  $\beta$ -1,3 glucanos en los macrófagos de los animales, quienes reconocen la cadena con esta estructura con más de 3 a 5 unidades de glucosa. Sin embargo, el macrófago no necesariamente es activado por estructuras pequeñas; parece que se requiere la presencia de estructuras más complejas para que el macrófago sea activado.

Hoy en día, con este tipo de productos todavía permanecen abiertas muchas cuestiones. Entre ellas la resistencia a la destrucción gástrica, la dosificación, tiempo de administración, etc. Por ejemplo, a diferencia de los quimioterapéuticos, los inmunoestimulantes no muestran una relación dosis/respuesta lineal sino que muestran un máximo a una concentración intermedia y a dosis más elevadas pueden mostrar ausencia de efecto o incluso toxicidad. La explicación a esto no está totalmente clarificada pero se podría deber a la competencia por los receptores, sobreestimulación que resulte en fatiga del sistema inmunitario, o fenómenos de homeostasis.

#### **4.2.- Indicaciones y resultados prácticos**

Un momento que parece apropiado para el uso de este tipo de aditivos sería en animales destetados precozmente en los que la inmunidad pasiva transmitida por la madre está a niveles muy bajos, y su propio sistema inmunitario está en desarrollo (e.g. lechón, ternero, cordero). En algunos casos hay resultados positivos en la aplicación de alguno de estos productos en lechones pre y postdestete (e.g. Schoenherr et al., 1994; Schoenherr y Pollmann, 1994), pero la experiencia es todavía escasa. Se confirma la observación constatada en peces, donde el uso de estos productos es más frecuente, de que existe una respuesta ligeramente retardada a la aplicación, del orden de 7 a 9 días.

El tiempo transcurrido entre administración y efecto máximo varía con la dosis, y ésta también influye sobre el tiempo de duración del efecto. No hay muchos datos sobre el efecto de la administración repetida de un inmunoestimulador durante el período de tiempo en que la estimulación disminuye.

#### **4.3.- Asociación con antibióticos**

Durante una infección, el equilibrio entre el proceso invasor del patógeno y las reacciones de defensa del hospedador se decanta en favor del patógeno. Los antibióticos se utilizan para cambiar este equilibrio a favor del hospedador al inhibir o destruir el patógeno. La eficacia de un antibiótico depende de la funcionalidad del sistema inmunitario. Si el sistema está disminuido o dañado, el uso de antibióticos será de importancia marginal y sólo pospone el resultado final.

Por el contrario si el sistema inmunitario está activado con antelación o durante la infección, éste puede potenciar la acción del antibiótico. Con inmunoestimuladores, se necesita menos dosis de antibiótico para combatir una infección porque hay casos en los que los antibióticos deprimen el sistema inmunitario. En alguna de las experiencias mencionadas anteriormente, la aplicación conjunta con antibióticos, incluso en una situación sanitaria correcta ha dado resultados positivos.

#### **4.4.- Contraindicaciones**

Existen numerosas dudas relativas al coste biológico de activar el sistema inmunitario por la administración continuada de inmunoestimuladores y sobre qué nivel de estimulación es necesario mantener para tener una defensa correcta. Un exceso de estimulación del sistema inmunitario comporta efectos negativos en términos de productividad. Ya se ha estudiado en cursos anteriores (Santomá, 1991; Klasing et al., 1995; Stahly, 1996) que los cambios metabólicos que induce un estrés inmunitario son la anorexia, letargia, fiebre, etc, todos ellos conducen a un empeoramiento del crecimiento y disminuyen la síntesis de músculo esquelético.

Los inmunoestimuladores son básicamente agentes profilácticos y no se deben utilizar cuando la enfermedad ya ha brotado. En este caso el uso de inmunoestimuladores podría incluso agravar los síntomas de la enfermedad ya que se induce una enfermedad aparente sobre la ya existente.

La ventaja frente a la administración directa de inmunoglobulinas sería que no se requiere una elevada especificidad por estimular el sistema inmunitario inespecífico y la presencia de productos tecnológicamente resistentes, mientras que las desventajas incluirían las consecuencias negativas de una sobreestimulación.

### **5.- FACTORES NUTRICIONALES**

No hay ningún nutriente que por sí solo pueda ser definido como inmunomodulador y que afecte directa y exclusivamente a la actividad inmunitaria. Sin embargo, algunos factores nutricionales están tan íntimamente involucrados en los procesos bioquímicos del sistema inmunitario que se pueden obtener efectos sanitarios positivos ajustando su inclusión en la dieta mas allá de la concentración necesaria para evitar síntomas carenciales.

Muchos de estos factores fueron analizados por Santomá (1991), y en cursos posteriores se han estudiado aspectos concretos de la influencia de la activación del sistema inmunitario sobre la productividad, sobre las necesidades de nutrientes y el papel de algunos nutrientes como agentes inmunorreguladores (Klasing et al., 1995; Stahly, 1996). Por este motivo en este apartado tan sólo se resumirán los aspectos más relevantes y se revisarán los trabajos más recientes sobre este tema.

### 5.1.- Ácidos Grasos

Los ácidos grasos de la serie w-6 son precursores del ácido araquidónico que se incorpora en la membrana celular en los fosfolípidos. Durante la respuesta inmunitaria, después de la activación de los fagocitos, el ácido araquidónico se libera como consecuencia de la descompartmentalización y por la acción de la fosfolipasa sobre los fosfolípidos de la membrana. El araquidónico libre es transformado por la ciclooxigenasa y por la lipooxigenasa a prostaglandinas (PG), leucotrienos y tromboxanos que son moléculas efectoras importantes en la comunicación entre leucocitos y en la migración quimiotáctica.

Dentro de este contexto la PGE<sub>2</sub> es un potente mediador inflamatorio catabólico que puede ser en parte responsable del efecto catabólico a que da lugar un estrés inmunitario. Por tanto una excesiva respuesta inflamatoria es contraproducente en términos de rendimientos productivos.

En este sentido Cook et al. (1993), mediante la administración de un 0,5% ácido linoleico conjugado (ALC) consiguieron eliminar prácticamente el efecto negativo que tuvo sobre el crecimiento la estimulación inmunitaria provocada por la inyección de endotoxina de *E. coli* en pollos de 3 semanas, sin afectar a los parámetros de respuesta inmunitaria controlados. Estos autores especulan sobre la posible inhibición del ALC en la conversión del ácido araquidónico a PGE<sub>2</sub>, actuando por tanto como un inmunomodulador. La indometacina y la aspirina también parecen inhibir la síntesis de PG (Spurlock et al., 1997).

Un papel similar parece que desarrollan niveles elevados de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) w-3. Este tipo de AGPI aumentan la resistencia a enfermedades y mejoran la respuesta zootécnica al inhibir la síntesis de eicosanoides y leucotrienos proinflamatorios a partir de AGPI w-6. En consecuencia, ambos grupos de AGPI por un lado y el ALC por otro, regulan la velocidad de producción de estos mensajeros. Sin embargo, la respuesta no es siempre la misma y así Spurlock et al. (1997) no encontraron ningún beneficio al administrar aceite de pescado (fuente de w-3) a lechones en transición y/o en crecimiento en relación a los que recibieron aceite de cártamo (fuente de w-6). La interacción entre compuestos es compleja y difícil de predecir.

Además de estas funciones metabólicas, los AGPI afectan a la composición y en consecuencia a la fluidez de la membrana celular, de modo que un elevado nivel de AGPI afecta a las funciones de los leucocitos. Por otra parte, un nivel elevado de AGPI representa un riesgo potencial de oxidación, a menos que se contrarreste con vitaminas antioxidantes (vitamina E como antioxidante y vitamina C como regenerador de la vitamina E) como analizaremos en el próximo apartado.

## 5.2.- Vitaminas y Carotenoides

En el cuadro 3 se resumen las formas activas y las principales funciones de vitaminas y provitaminas en el sistema inmunitario. Estos son los nutrientes que desde un punto de vista práctico se utilizan con mayor frecuencia por razones inmunitarias.

**Cuadro 3.- Sustancias activas y funciones principales de provitaminas y vitaminas en el sistema inmunitario (adaptado de Kolb, 1997)**

<b>Provitamina o Vitamina</b>	<b>Forma Activa</b>	<b>Función y Efectos</b>
Vitamina A	9-cis-y todo-trans-ácido retinoico	Regula la transcripción. Aumenta la respuesta de células T. Estimula la producción de anticuerpos. Afecta al peso del timo y del bazo.
Carotenos, carotenoides	carotenos, carotenoides	Antioxidantes, factores citoprotectores. Liberación de prostaglandinas y leucotrienos. Activación células T
Vitamina D	1,25-Dihidroxitiamina D	Regula la transcripción, inmunomodulador, estimula la fagocitosis, inmunidad inespecífica
Vitamina E	Tocoferil hidroquinona	Antioxidante, reduce liberación de prostaglandina E <sub>2</sub>
Tiamina (vit. B <sub>1</sub> )	Pirofosfato de tiamina	Estimula la producción de anticuerpos
Riboflavina (vit. B <sub>2</sub> )	FMN, FAD	Estimula la producción de anticuerpos
Piridoxina (vit. B <sub>6</sub> )	Fosfato de piridoxal	Estimula la producción de anticuerpos. Proliferación de células inmunitarias
Ácido pantoténico	Coenzima A	Estimula la producción de anticuerpos
Biotina	Carboxibiotina	Estimula la producción de anticuerpos
Ácido fólico	Ácido tetrahidrofólico	Interviene en la producción de anticuerpos y ácidos nucleicos
Vitamina B <sub>12</sub>	Metilcobalamina	Interviene en la producción de anticuerpos y ácidos nucleicos
Ácido ascórbico (vit. C)	Ácido ascórbico	Estimula la producción de anticuerpos y la fagocitosis. Disminuye la inmunosupresión debida al estrés



Tal es el caso, desde hace muchos años de las vitaminas A y D, y más recientemente de las vitaminas C y E. Según Kolb (1997), con alguna actualización, el mecanismo de acción de estas vitaminas es el siguiente:

- La vitamina A se transforma en el citoplasma de las células inmunitarias en 9-cis y todo-trans-ácido retinoico. Estas sustancias son transportadas por receptores al interior del núcleo donde influyen en el proceso de transcripción. La vitamina D también está involucrada en este proceso y en menor medida la vitamina E.

- La vitamina D se centra más en la inmunidad inespecífica, al haberse detectado receptores para esta vitamina más en monocitos y macrófagos, que a nivel de linfocitos, aunque resultados recientes en pollos indican que una deficiencia de vitamina D (dietas maíz-soja sin vitamina D suplementaria) afecta a la inmunocompetencia mediada por células T, y al peso del timo sin influir a la inmunidad humoral (Aslam et al., 1998).

- Algunos carotenoides (e.g. beta-caroteno, cantaxantina, astaxantina), vitamina E y ácido ascórbico actúan como antioxidantes y protegen a la membrana del ataque de los radicales libres y de los peróxidos. En neutrófilos y macrófagos, el daño propio causado por aniones superóxido bactericidas y por el peróxido de hidrógeno durante la fagocitosis se mantiene al mínimo, de modo que se aumenta la capacidad de las células para combatir a bacterias y virus, así como su vida media. En esta acción antioxidante de protección de las células huésped colaboran Cu, Fe y Se a través de sus funciones en la superóxido dismutasa (previene la formación del radical hidróxilo, altamente activo), en la catalasa y en la glutatión peroxidasa (eliminan peróxidos de la célula evitando así su transformación a radical hidroxilo), así como la vitamina C.

- Además de su efecto antioxidante, la vitamina E reduce la liberación de PGE<sub>2</sub> y modula la producción de citoquinas, y en consecuencia afecta a la inmunidad humoral y celular.

- El ácido ascórbico actúa como cofactor de varios enzimas y en el sistema redox. Una actividad reducida se asocia con una peor función leucocitaria. La vitamina C interviene tanto a nivel de inmunidad inespecífica (en los neutrófilos se encuentra la mayor concentración de esta vitamina de todo el organismo, para regenerar la vitamina E utilizada frente a los procesos oxidativos propios de la acción de los neutrófilos) como específica, al frenar la acción inmunosupresora producida por los corticoesteroides propios de la respuesta al estrés.

Para ilustrar la diferencia entre las necesidades vitamínicas estrictas para evitar carencias y las necesidades en condiciones prácticas de explotación, Coelho (1995) estudió el efecto de la suplementación vitamínica a los niveles recomendados por el NRC (1994) en relación a distintos niveles de suplementación utilizados en la práctica por la industria avícola estadounidense, en broilers sometidos a distintos niveles de agresión estresante e inmunológica (cuadro 4).

**Cuadro 4.- Influencia del nivel de suplementación vitamínica sobre los rendimientos productivos de broilers sometidos a distintos niveles de estrés (Coelho, 1995)**

a) Niveles de suplementación vitamínica empleados.

	<b>NRC</b>	<b>25% Bajo</b>	<b>Media</b>	<b>25% Alto</b>	<b>5% Alto</b>
Vit. A (UI/kg)	794	6404	8113	10141	12676
Vit. D <sub>3</sub> (UI/kg)	200	2039	2568	3086	3858
Vit. E (UI/kg)	6,28	9,48	15,76	23,89	29,86
Niacina (mg/kg)	22,16	26,97	43,54	60,34	75,43
Ac. Pantoté. (mg/kg)	8,82	8,40	10,91	12,47	15,59
Riboflavina (mg/kg)	3,42	5,00	6,44	7,71	9,65
Menadiona (mg/kg)	0,50	0,90	1,63	2,82	3,53
Tiamina (mg/kg)	0,22	0,85	1,40	2,19	2,74
Piridoxina (mg/kg)	1,54	0,95	2,25	3,72	4,65
Ác. Fólico (mg/kg)	---	0,46	0,75	1,07	1,33
Biotina (mg/kg)	0,121	0,029	0,070	0,126	0,157
Vit. B <sub>12</sub> (mg/kg)	0,010	0,009	0,012	0,017	0,021

**Media:** representa la media de 62 valores de vitaminas usadas en la industria avícola de EEUU. **25% Alto:** representa la media de los 15 valores más altos, **5% Alto** la media de los 3 valores más altos y **25% Bajo** la media de los 15 valores más bajos usados en la industria avícola EEUU.

b) Resultados productivos.

<b>Nivel Vitamínico</b>	<b>Peso vivo (g)</b>			<b>Índice conversión (g/g)</b>			<b>Mortalidad (%)</b>		
	Estrés BAJO	Estrés MEDIO	Estrés ALTO	Estrés BAJO	Estrés MEDIO	Estrés ALTO	Estrés BAJO	Estrés MEDIO	Estrés ALTO
<i>Rendimientos a 21 días</i>									
NRC	624 <sup>cd</sup>	550 <sup>i</sup>	546 <sup>i</sup>	1,44 <sup>c</sup>	1,58 <sup>h</sup>	1,54 <sup>g</sup>	4,79 <sup>b</sup>	7,59 <sup>bc</sup>	9,38 <sup>d</sup>
Bajo 25%	655 <sup>b</sup>	609 <sup>ef</sup>	572 <sup>h</sup>	1,43 <sup>bc</sup>	1,55 <sup>g</sup>	1,50 <sup>e</sup>	2,71 <sup>a</sup>	7,14 <sup>bc</sup>	9,38 <sup>d</sup>
Media	686 <sup>a</sup>	619 <sup>cde</sup>	587 <sup>g</sup>	1,41 <sup>ab</sup>	1,54 <sup>g</sup>	1,48 <sup>d</sup>	1,46 <sup>a</sup>	6,40 <sup>ab</sup>	8,37 <sup>cd</sup>
Alto 25%	682 <sup>a</sup>	626 <sup>c</sup>	602 <sup>f</sup>	1,42 <sup>bc</sup>	1,53 <sup>fg</sup>	1,47 <sup>d</sup>	1,46 <sup>a</sup>	5,21 <sup>b</sup>	8,67 <sup>cd</sup>
Alto 5%	677 <sup>a</sup>	625 <sup>c</sup>	610 <sup>def</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,52 <sup>ef</sup>	1,43 <sup>c</sup>	1,88 <sup>a</sup>	5,06 <sup>b</sup>	8,27 <sup>cd</sup>
<i>Rendimientos a 42 días</i>									
NRC	2002 <sup>d</sup>	1827 <sup>g</sup>	1837 <sup>fg</sup>	1,97 <sup>e</sup>	2,12 <sup>g</sup>	2,09 <sup>g</sup>	6,88 <sup>b</sup>	11,61 <sup>f</sup>	11,29 <sup>f</sup>
Bajo 25%	2122 <sup>bc</sup>	2036 <sup>d</sup>	1871 <sup>ef</sup>	1,85 <sup>bcd</sup>	1,89 <sup>d</sup>	2,04 <sup>f</sup>	3,96 <sup>a</sup>	9,23 <sup>cde</sup>	10,99 <sup>ef</sup>
Media	2148 <sup>ab</sup>	2088 <sup>c</sup>	1869 <sup>efg</sup>	1,82 <sup>ab</sup>	1,87 <sup>cd</sup>	2,01 <sup>ef</sup>	2,50 <sup>a</sup>	8,33 <sup>bcd</sup>	9,07 <sup>cde</sup>
Alto 25%	2176 <sup>a</sup>	2085 <sup>c</sup>	1896 <sup>e</sup>	1,82 <sup>abc</sup>	1,84 <sup>bcd</sup>	2,02 <sup>f</sup>	3,54 <sup>a</sup>	7,44 <sup>bc</sup>	9,98 <sup>def</sup>
Alto 5%	2190 <sup>a</sup>	2088 <sup>c</sup>	1909 <sup>e</sup>	1,79 <sup>a</sup>	1,83 <sup>bc</sup>	2,00 <sup>ef</sup>	3,33 <sup>a</sup>	6,99 <sup>b</sup>	9,88 <sup>def</sup>

Agentes estresantes: densidad, exposición a coccidiosis, exposición a E. Coli, reutilización de la cama, peróxidos de grasa, densidad nutritiva del pienso.

c) Influencia sobre la composición y calidad de la canal.

	<b>NRC</b>	<b>25% Bajo</b>	<b>Media</b>	<b>25% Alto</b>	<b>5% Alto</b>
Rendimiento de la canal	68,53 <sup>c</sup>	69,32 <sup>b</sup>	69,89 <sup>ab</sup>	70,19 <sup>a</sup>	70,56 <sup>a</sup>
Rendimiento en pechuga (%)	14,87 <sup>d</sup>	14,93 <sup>cd</sup>	15,08 <sup>bc</sup>	15,17 <sup>ab</sup>	15,34 <sup>a</sup>
Grasa abdominal (%)	2,05	2,02	1,94	1,87	1,85
Desgarros en piel > 0,5 cm (%)	5,4 <sup>e</sup>	4,9 <sup>d</sup>	4,6 <sup>c</sup>	4,3 <sup>b</sup>	3,6 <sup>a</sup>
Pérdida de líquidos a 12 días	1,27 <sup>d</sup>	1,25 <sup>c</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,09 <sup>a</sup>
Bacterias externas en piel 6 días	2,17 <sup>d</sup>	1,79 <sup>cd</sup>	1,38 <sup>bc</sup>	1,29 <sup>ab</sup>	0,88 <sup>a</sup>
12 días	3,95 <sup>d</sup>	3,50 <sup>c</sup>	2,92 <sup>b</sup>	2,92 <sup>b</sup>	2,21 <sup>a</sup>

De los resultados se desprende que los niveles recomendados por el NRC son insuficientes en condiciones prácticas, y la suplementación vitamínica necesaria para obtener máximos rendimientos es tanto mayor cuanto mayor es el estrés o desafío inmunológico al que son sometidos los animales. Resultados similares en cerdos fueron aportados por Stahly (1996) en este mismo curso.

Para el caso de los broilers, según Fraga y Villamide (1998), los correctores vitamínico- minerales utilizados en España incorporan de media 7,8 veces más vitamina A que las necesidades propuestas por el NRC (1994), de 3 a 4 veces más vitamina D<sub>3</sub> que las últimas recomendaciones (Edwards et al., 1994; Whitehead, 1995) y 3,3 veces más vitamina E que las necesidades del NRC (1994).

En cuanto a la vitamina A, hay que tener en cuenta que cantidades excesivas de esta vitamina no sólo interfieren con la absorción y metabolismo de la vitamina E, sino que se asocian a una mayor susceptibilidad a enfermedades (Friedman et al., 1991) y con una menor deposición de vitamina E y de ácido ascórbico en los embriones de gallinas reproductoras. Además en gallinas ponedoras se reduce la deposición de carotenoides (Surai et al., 1998). En este sentido parece que hay una cierta tendencia a disminuir la suplementación con vitamina A en los piensos, por lo menos de avicultura, con objeto de mejorar el status de vitamina E (Whitehead, 1995).

Dentro de este contexto de disminución de los contenidos en vitamina A del pienso, recientemente Coskun et al. (1998) no observaron diferencias significativas a las distintas suplementaciones de vitamina A (entre 0 y 24.000 UI/kg) ni en parámetros productivos, ni en los distintos parámetros inmunitarios registrados (títulos de anticuerpos séricos, proporciones de linfocitos T periféricos, transmisión de inmunidad materna a la descendencia), en gallinas ponedoras alimentadas con una dieta a base de maíz, trigo, soja y girasol. Es decir, que el aporte de esta vitamina a partir de las materias primas empleadas fue suficiente para cubrir las necesidades de vitamina A para todas las funciones fisiológicas. Lo cual no quiere decir que esto sea así en todas las circunstancias; un margen de seguridad es siempre recomendable para este nutriente.

En los cuadros 5 y 6 se presentan experiencias de utilización de niveles sobrenutricionales de vitamina E y las dosis preventivas y terapéuticas recomendadas por Kolb (1997) en distintas especies animales. Para una óptima respuesta inmunitaria F. Hoffmann-La Roche (1998) recomienda en los piensos de arranque de pollos, pavos y lechones entre 100 y 250 mg/kg de vitamina E y en terneros 150 mg/kg.

### **5.3.- Oligoelementos**

En cuanto a los oligoelementos, en el cuadro 7 se resumen los mecanismos de acción y los efectos principales de los microminerales más involucrados en la respuesta inmunitaria ya discutidos por Santomá (1991). Los minerales que muestran mayores necesidades para una óptima respuesta inmunitaria que para una máxima respuesta

zootécnica en monogástricos son el Zn y el Se, en menor medida el Cu, y en según que casos el Fe.

**Cuadro 5.- Influencia de vitamina E suplementaria sobre el sistema inmunitario de diversas especies animales (Kolb, 1997)**

Especie	Efecto
Ternero	125 UI/Kg pienso entre 0 y 24 semanas aumentaron al producción de anticuerpos como respuesta a la vacuna de herpes virus bovino; mejora del estado inmunitario
Vaca	70 UI/Kg pienso durante el periodo seco + 40 UI + 0,3 mg Se/Kg durante los 2 primeros meses de lactación redujeron la incidencia y la duración de mastitis
Ovino	300 UI/Kg pienso entre los 3 y 6 meses de edad aumentaron la producción de anticuerpos después de la administración de vacuna de Clostridium perfringens
Lechón	20-100 UI/Kg pienso entre 7 y 17 semanas de edad aumentaron la producción de anticuerpos como respuesta a la vacuna de Escherichia coli
Aves	150-300 UI/Kg pienso de 0 a 15 días aumentaron la producción de anticuerpos a antígenos de bacterias (E coli, Pasteurella) y virus (Newcastle, Gumboro): aumento de la respuesta inmunitaria a la coccidiosis

**Cuadro 6.- Dosis recomendadas de vitaminas para favorecer la respuesta inmunitaria (Kolb, 1997)**

	Vitamina A	Dosis inyección intramuscular				
	Dosis oral única (1000 UI)	Vit. A (1000 UI)	Vit. D <sub>3</sub> (1000 UI)	Vit. C (g)	Vit. E (mg)	Se (mg)
Lechón (5 Kg)	2 - 5	4 -10	3,5 - 6,0		25	1
Cerdo (50 Kg)	20 - 50	40 - 100	9 - 17		250	10
Cerda (200 Kg)	70 - 200	150 - 400				
Ternero (50 Kg)	20 - 50	40 - 100	15 - 25	2	250	10
Vaca leche (500 Kg)			90 - 150	10	2000	50
Cordero (10 Kg)			3 - 5		50	2

Un aspecto controvertido es el referente a la **eficacia relativa** de distintas **fuentes de minerales**, ya sean sales minerales, proteínatos, quelatos o complejos con aminoácidos. Puls (1994) atribuye a Zn-Met, Zn-Lys, ZnO, y cloruro de Zn la misma disponibilidad o ligeramente inferior al sulfato en cerdos, y en aves la biodisponibilidad de Zn-Met es superior a la del sulfato de Zn (117-177% según composición de la dieta) pero similar a la del óxido. Este autor también estima que Zn-Met es más eficaz que el ZnO en situaciones de calor y estrés por su mayor eficacia en el sistema inmunitario.

**Cuadro 7.- Oligoelementos relevantes en la respuesta inmunitaria  
(adaptado de Santomá, 1991)**

	<b>Mecanismo de acción</b>	<b>Efectos</b>	<b>Observaciones</b>
Zn	Cofactor de la timulina (hormona del timo). Cofactor superóxido dismutasa	Peso del timo y bazo, diferenciación y proliferación de linfocitos T, integridad células inmunitarias. Actividad de neutrófilos y macrófagos a niveles plasmáticos de Zn bajos	La respuesta inmunitaria es más sensible al Zn que la respuesta zootécnica
Cu	Cofactor de la ceruloplasmina y de la superóxido dismutasa	Inmunidad en general, peso del timo	Interacción en la absorción con el Zn.
Fe	Cofactor de la transferrina (sérica), lactoferrina, Ovotransferrina. Ferritina y hemosiderina (hígado)	Factor de crecimiento de microorganismos. Proliferación de linfocitos T, actividad de neutrófilos	Necesaria para el sistema inmunitario y crecimiento bacteriano. En aves más sensible el 1º y en mamíferos el 2º ante exceso de Fe.
Co	Cofactor de la vitamina B <sub>12</sub>	Resistencia frente a parásitos, actividad de neutrófilos.	En rumiantes, respuesta inmunitaria más sensible que la respuesta zootécnica.
Mo		Resistencia frente a parásitos intestinales.	En rumiantes.
Se	Cofactor de la glutatión peroxidasa	Inmunidad tumoral y celular. Citotoxicidad.	Respuesta inmunitaria más sensible que la zootécnica. Interacción con la vitamina E.
Cr	Factor de tolerancia a la glucosa	Reducción de la inhibición del sistema inmunitario en estrés.	En rumiantes.

Según Kidd et al. (1996), Zn suplementario en forma de Zn-Met a reproductoras pesadas mejora la respuesta inmunitaria de la progenie. Es posible que a pesar de tener una absorción intestinal similar a las fuentes orgánicas, Zn-Met tenga un metabolismo distinto una vez absorbido y, según la forma en que esté disponible biológicamente, tenga mayor predisposición a metabolizarse en unos tejidos u otros (Vandergrift, 1992). Con todo en otro artículo de este curso se discuten con más profundidad las distintas fuentes de minerales, especialmente en rumiantes (Acedo-Rico, 1998).

Un oligoelemento que ha recibido atención durante los últimos años es el cromo (Cr). El papel fisiológico predominante del Cr es como integrante del factor de tolerancia a la glucosa (FTG), que potencia la acción de la insulina. En situaciones en las que se precise una actuación efectiva de la insulina, el aporte de Cr por parte de las materias primas puede ser insuficiente.

Este puede ser el caso de situaciones de estrés en donde los niveles de insulina aumentan. En general la insulina a niveles moderados potencia la inmunidad celular, y de hecho, existen receptores de la insulina en monocitos. El estrés también conduce a un aumento de los niveles de glucocorticoides, especialmente en estrés de tipo agudo, quienes actúan como inmunodepresores, principalmente a nivel de inmunidad celular.

Mowat (1997) y Kegley et al. (1997) han indicado que con la adición de Cr en dosis de 0,2 a 0,4 ppm en terneros los niveles de cortisol disminuyen, y como consecuencia Mowat (1997) observó una mejor respuesta inmunitaria en términos de títulos de anticuerpos, después de una vacunación frente a IBR. Sin embargo Chang et al. (1996) encontraron aumentos en el título de anticuerpos frente a una vacunación de BVD (diarrea vírica bovina) pero no frente a vacunaciones de IBR, parainfluenza-3, virus respiratorio sincitial bovino, ni frente a *P. haemolytica*.

Parece que la influencia del Cr sobre la inmunidad humoral en terneros es variable según el antígeno e incluso según el genotipo del animal (Mowat, 1997a). Este último autor también indica que el cromo mejora el status de vitamina C del organismo protegiendo esta vitamina de la oxidación. Tal como se ha indicado anteriormente esta vitamina juega un papel importante en la disminución de la inmunodepresión producida por el estrés.

Por su parte van Heugten y Spears (1997), no observaron efectos beneficiosos en cuanto a respuesta zootécnica al suplementar con Cr a 0,2 ppm en forma de cloruro, o de picolinato o de nicotinato en lechones de tres semanas sometidos a estrés inmunológico (tras inyección de lipopolisacárido de *E. coli*) o a estrés por inyección de ACTH, aunque sí observaron un aumento en la producción de anticuerpos.

En definitiva, parece que el Cr puede ayudar a reducir las disminuciones en aumento de peso que se producen en situaciones de estrés, de modo que los requerimientos para este micronutriente pudieran ser mayores, al menos en rumiantes, para la función inmunitaria que para un óptimo crecimiento.

#### **5.4.- Proteína de origen lácteo**

Las proteínas de la leche son precursores de muy diversos péptidos biológicamente activos. Entre ellos hay péptidos opioides (casoxinas, casomorfinas, exorfinas, y  $\alpha$  y  $\beta$ -lactorfinas, que afectan a la motilidad intestinal), péptidos transportadores de minerales a través de la pared intestinal (caseinofosfopéptidos),

péptidos inhibidores del enzima de la angiotensina, péptidos antimicrobianos, antitrombóticos, etc. Entre ellos también se encuentran algunos con propiedades inmunoestimulantes. Así, péptidos procedentes de la caseína se ha visto que estimulan la proliferación de linfocitos en humanos y la actividad fagocitaria de los macrófagos (Meisel, 1997).

Por otra parte, de acuerdo con trabajos desarrollados en Australia y Canadá revisados por Horton (1995), las inmunoglobulinas de la leche o la albúmina del suero bovino o ambas tienen propiedades anticancerígenas e inmunoestimulantes. Ambos componentes forman parte de la  $\alpha$ -lactalbúmina.

Todo ello añade valor nutricional a la incorporación de productos lácteos a las dietas post-destete de lechones, a los reconocidos efectos positivos de la lactosa, tanto como fuente de energía, como favorecedor de una microflora bacteriana positiva, y de una elevada digestibilidad. La leche también incluye pequeñas concentraciones de oligosacáridos, que tal como se comentará posteriormente pueden tener también un efecto beneficioso sobre la flora microbiana intestinal.

## **6.- OLIGOSACARIDOS**

Ya a principios de los 80 en Japón se reconoció que los carbohidratos no digeribles son una parte esencial de la alimentación humana y dieron origen a lo que se denominan alimentos funcionales (“functional food”). Según Spiegel et al. (1994), en Japón hay más de 500 productos alimenticios que incluyen oligosacáridos, por los efectos beneficiosos que desencadenan en la salud humana, como veremos a continuación.

### **6.1.- Naturaleza química y método de obtención**

Los oligosacáridos son constituyentes naturales de plantas (e.g. cebollas, ajo, tomate, raíces de espárragos, azúcar moreno, plátanos, cebada, trigo, centeno, triticale), miel, alimentos de origen vegetal y de la leche de varias especies animales. El término oligosacáridos incluye un grupo de carbohidratos que consisten de 2 a 10 unidades de azúcares monoméricos, y se distinguen según la identidad de estos monómeros, según el tipo de unión entre ellos, según el tipo de estructura de la cadena (lineal, ramificada, radicales) y según sus uniones a otras estructuras no hidrocarbonadas (conjugados). En el cuadro 8 se reflejan algunos de los oligosacáridos disponibles comercialmente, básicamente en alimentación humana.

Los mejor conocidos y caracterizados son los oligosacáridos de la serie de la rafinosa, de los cuales ya se ha hablado en un curso anterior (Santomá, 1990), los fructo-oligosacáridos (FOS) y los xilo-oligosacáridos (XOS).

**Cuadro 8.- Algunos oligosacáridos disponibles comercialmente  
(adaptado de Morgan et al., 1992)**

<b>Producto</b>	<b>Método de producción</b>
β-fructo-oligosacáridos	a/ transfructosilación de la sacarosa b/ hidrólisis de inulina c/ tratamiento térmico de sacarosa anhidro acidificada d/ pirolisis de la sacarosa
α-galacto-oligosacáridos	aislamiento a partir del suero de soja
β-galacto-oligosacáridos	transgalactosilación de lactosa
Lactulosa	isomerización de lactosa
Lactosacarosa	lactosa + sacarosa catalizado por β-fructofuranosidasa
Isomalto-oligosacáridos	transglucosilación de almidón licuado
Maltotetraosa	hidrólisis enzimática de almidón
Xilo-oligosacáridos	hidrólisis enzimática de xilanos
Quito-oligosacáridos	hidrólisis enzimática de quitina

Los FOS constan estructuralmente de una molécula de sacarosa a la que se pueden unir por enlaces glicosídicos β (2-1) de 1 a 3 moléculas de fructosa dando lugar respectivamente a los fructo-oligosacáridos: 1-kestosa (GF2), nistosa (GF3) y 1-fructosil-nistosa (GF4). Parece que los mejor metabolizados por los microorganismos son aquellos FOS que contienen hasta 5 residuos de fructosa (McKellar et al., 1993).

Por su estructura química estos grupos de oligosacáridos son resistentes a la acción de los enzimas digestivos endógenos de los animales monogástricos, de modo que llegan prácticamente intactos hasta la parte distal del intestino delgado, intestino grueso y ciego donde serán sustrato para la microflora bacteriana allí presente.

### **6.2.- Mecanismo de acción y efectos: sustrato de microflora beneficiosa**

En general se reconoce que las bacterias beneficiosas juegan un papel importante en la protección del hospedador frente a patógenos como *E. Coli* y *Salmonella*. Este papel protector de la microflora intestinal indígena se denomina “resistencia de colonización” o “exclusión competitiva”. *Lactobacilli* y *Bifidobacter* están entre los microorganismos más sensibles a pequeños cambios, de modo que la administración



continuada de sustratos para esta flora protectora, ayuda a sobrevivir a estos grupos bacterianos favorables ante situaciones inadecuadas para ellos y disminuye el riesgo de desarrollo de microorganismos patógenos oportunistas.

Los FOS son utilizados de forma selectiva por un amplio rango de especies bacterianas intestinales beneficiosas y en cambio no son utilizados por especies negativas (cuadro 9).

**Cuadro 9.- Metabolismo de los fructo-oligosacáridos por distintas bacterias**  
(adaptado de Wada, 1990)

<b>Buen sustrato para:</b>	<b>Mal sustrato para: (mayoría de los tipos de)</b>
Bifidobacterium (mayoría de cepas)	Clostridium
Lactobacillus acidophilus	Eubacterium
Lactobacillus (algunas otras)	Fusobacterium
Bacteroides (mayoría de cepas)	Peptostreptococcus
Enterococcus faecium	Veillonella
Pediococcus spp.	Citrobacter, Escherichia coli Salmonella

Los XOS también han mostrado su selectividad para el crecimiento de bifidobacterias. Morgan et al. (1992) indican que mediante la utilización de xilanasas en la alimentación animal en dietas a base de trigo, además de una disminución de la viscosidad intestinal, se generan oligosacáridos bioactivos que facilitan el crecimiento de la microflora positiva. Sin embargo hay que indicar que según estos autores, el perfil de oligosacáridos que se genera como consecuencia de la aplicación de 3 tipos distintos de xilanasas sobre los arabinoxilanos del trigo, fue distinto y hoy por hoy no se conoce como se reflejan estas diferencias en términos cuantitativos ni cualitativos sobre la población bacteriana del aparato digestivo.

Los oligosacáridos inhiben la producción de productos tóxicos (amoníaco, aminas, nitrosaminas, fenoles, cresoles, indol, escatol, ácidos biliares secundarios, estrógenos, agliconas) por parte de la microflora negativa, mejoran la flora intestinal, aumentan la absorción de Ca, Mg, P y Fe (Ohta et al., 1994), alivian el estreñimiento, mejoran el perfil lipídico de la sangre y en humanos se han reportado disminuciones de la presión sanguínea, reducción del colesterol sérico y efectos anticancerígenos (Tomomatsu, 1994).

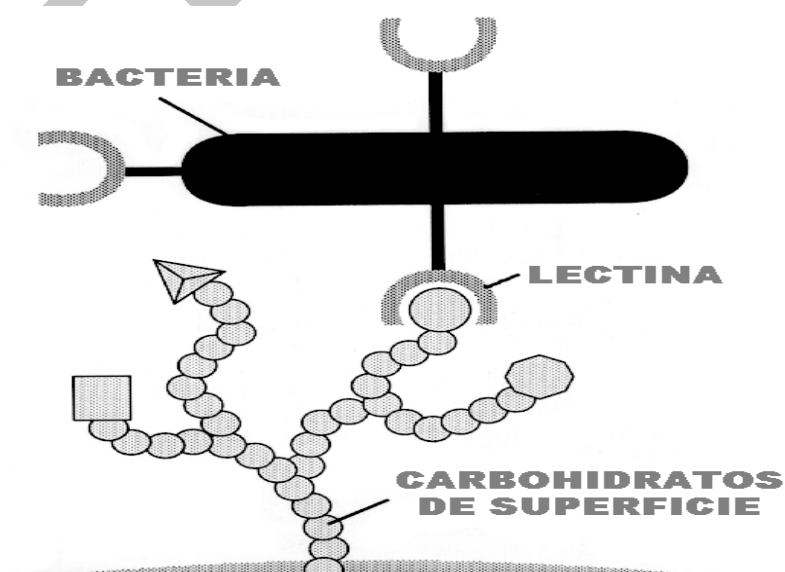
La mejora de la flora intestinal es tanto por incremento de la flora beneficiosa, como por la producción de sustancias antimicrobianas (e.g. Bifidina) por parte de ésta, como por la acidificación del medio intestinal fruto de la acción de la microflora beneficiosa sobre los FOS al producir ácidos grasos volátiles. A diferencia de otros componentes de la fibra dietética, los oligosacáridos no aumentan la viscosidad intestinal, ni tienen una elevada capacidad de retención de agua, ni efecto lastre.

### **6.3.- Mecanismo de acción y efectos: bloqueo de bacterias patógenas**

Además de estimular una microflora intestinal positiva, a algunos oligosacáridos también se les atribuye un efecto positivo en cuanto al secuestro de bacterias potencialmente patógenas. Muchas bacterias patógenas poseen adhesinas o lectinas superficiales que son proteínas que tienen la capacidad de unirse a determinados carbohidratos (figura 1). Estos patógenos y sus toxinas se unen de forma específica al componente oligosacárido de los receptores glicoconjugados presentes en la membrana de los enterocitos, que son particularmente abundantes en enterocitos inmaduros.

Por ejemplo bacterias como algunos serotipos de *E.coli* y *Salmonella* con adhesinas fimbriales tipo 1 se unen de forma específica a receptores que contienen oligomanosa unida por N a las glicoproteínas. Dado que la unión de las bacterias patógenas a la superficie de la mucosa intestinal es un paso esencial en la patogénesis de muchas bacterias, la posibilidad de producir oligosacáridos análogos a los receptores intestinales para inhibir el proceso de unión es de interés en la prevención de enfermedades.

**Figura 1.- Unión de bacterias al epitelio intestinal mediante lectinas**



Incluso se ha observado que *E.coli* unido ya a enterocitos puede ser desplazado cuando se expone a un manano-oligosacárido (Oyoyo et al., 1989). En este sentido se están desarrollando compuestos a base de manosa y manano-oligosacáridos para inhibir la unión de agentes patógenos a las células epiteliales intestinales, puesto que la manosa parece ser el azúcar con mayores propiedades de adherencia frente a microorganismos patógenos (cuadro 10).

**Cuadro 10.- Influencia de varios azúcares sobre la adherencia de *Salmonella typhimurium* (st - 10) en enterocitos de pollitos de 1 día (Oyoyo et al., 1989)**

Carbohidrato <sup>1</sup>	Adherencia <sup>2</sup>	Inhibición (%)
Control (sin carbohidrato)	52	---
Metil - $\alpha$ - D - manósido	3,3	94
D - Manosa	5,5	90
Arabinosa	9,4	82
Galactosa	20,3	62

<sup>1</sup> Se añadió un 2,5 % de carbohidrato con el microorganismo a células intestinales de pollitos. El ensayo se desarrolló a 37 °C durante 30 minutos.

<sup>2</sup> Se expresa como *S. typhimurium* unidas por segmento de células intestinales de pollitos, ( $\times 10^3$ ).

Entre ellos se hallan compuestos procedentes de la capa externa de la pared celular de levaduras, la cual es rica en mananos. Hay productos que además de incluir la fracción manano-oligosacáridos, incluyen la fracción de  $\beta$ -glucanos lo cual haría que este producto además pudiera ser inmunoestimulante. El albumen del huevo también contiene manano-oligosacáridos. También hay que decir que existe una predisposición de origen genético a la adhesión de microorganismos a la pared intestinal, de modo que éste sería un carácter susceptible de ser mejorado genéticamente.

Allen et al. (1997) también observaron que la inclusión de un 0,5 ó un 2,5% de palmiste de un tamaño de partícula de 150  $\mu$ m o 300  $\mu$ m, pero no de harina de coco redujeron el grado de colonización del tracto gastrointestinal de broilers que recibieron dietas contaminadas con *S. kedougou* o *S. enteritidis*, e incluso quedaron libres de *S. enteritidis* después de 3 semanas. Los autores atribuyen este efecto a los manano-oligosacáridos que contiene el palmiste. Menores riesgos de diarrea post-destete en lechones se han observado con la utilización de polisacáridos de plantago y con la inclusión de fibra de pulpa de remolacha (Göransson et al., 1995).

Con todo hay que decir que no todas las asociaciones de los microorganismos con la superficie intestinal dependen de receptores, de modo que géneros como

*Campylobacter* o *Serpulina* se atrincheran en el mucus intestinal y allí proliferan. También se están desarrollando aislados bacterianos que proliferan en mucina y producen metabolitos anti-*Campylobacter* (Schoeni y Doyle, 1992). Sin embargo, hoy por hoy la elevada dosis requerida para obtener un efecto favorable puede dar lugar a una hiperfermentación que conduzca a efectos negativos. Es necesario desarrollar productos de suficiente afinidad para ser efectivos a dosis bajas.

#### **6.4.-Experiencias prácticas. Aplicación**

Experiencias prácticas en alimentación animal con oligosacáridos se refieren básicamente a pollitos para prevenir *Salmonella* (e.g. Bailey et al., 1991; Terada et al., 1994; Spring, 1995; Chambers et al., 1998), pavos (e.g. Savage y Zakrzewska, 1996), lechones postdestete (e.g. Newman, 1994; Houdijk et al., 1998), cerdos de engorde después de una medicación, conejos (e.g. Morisse et al., 1992; Morisse et al., 1993), terneros, caballos y perros (Mul y Perry, 1994).

En general las experiencias muestran resultados positivos, aunque con resultados variables. Así, por ejemplo en avicultura no parece una medida suficiente como para desplazar y eliminar *Salmonella* sino es junto a otros componentes.

Diversos autores (e.g. Waldroup et al., 1993; Mul y Perry, 1994) afirman que los oligosacáridos en combinación con un inoculante microbiano apropiado es efectivo en el (re-) establecimiento de un ecosistema microbiano intestinal con un efecto barrera elevado frente a los patógenos. Un ejemplo del efecto combinado se muestra en el cuadro 11.

**Cuadro 11.- Influencia de la administración de un 0,75% de fos y de un cultivo bacteriano indefinido (cb) sobre la colonización de salmonella en pollitos de 7 días de edad (Bailey et al., 1991)**

<b>Tratamiento</b>	<b>Inoculación de Salmonella</b>	<b>% de pollitos positivos a Salmonella</b>
Control	10 <sup>6</sup>	47,5
FOS	10 <sup>6</sup>	36,4
CB	10 <sup>6</sup>	43,5
FOS + CB	10 <sup>6</sup>	10,5
Control	10 <sup>9</sup>	95,5
FOS	10 <sup>9</sup>	87,0
CB	10 <sup>9</sup>	60,9
FOS + CB	10 <sup>9</sup>	19,0

El N.R.C. (1998) indica que se ha propuesto que la inclusión de ciertos oligosacáridos (e.g. mano-oligosacáridos, fructo-oligosacáridos), altera la capacidad de patógenos específicos de colonizar el aparato digestivo (cita a Monsand y Paul, 1995; Newman, 1995). El efecto de los oligosacáridos sobre el rendimiento de los cerdos no está bien establecido; algunos autores han encontrado un efecto beneficioso por la inclusión de estos productos en cerdos (el NRC reporta 2 trabajos), y otros no (el NRC reporta 4 trabajos).

Piva y Rossi (1998) indican que se debe estudiar el grado de polimerización de los distintos oligosacáridos para valorar el más efectivo en la estimulación de las bacterias intestinales autóctonas.

## **7.- PROBIOTICOS E INMUNIDAD**

En otra sesión de este mismo curso se trata el tema de los probióticos en mayor profundidad. Aquí nos centraremos en la relación existente entre estos productos y la inmunidad.

La microflora intestinal puede afectar a las funciones inmunológicas del tracto gastrointestinal. Hay evidencias de que las bacterias intestinales normales e incluso microorganismos administrados directamente vía oral estimulan el sistema inmunitario en relación por ejemplo a animales libres de gérmenes (Maxwell y Stewart, 1995; Gaskins, 1996). *Lactobacilli* apatógeno adherido a enterocitos disminuye la producción de citoquinas inflamatorias (McCracken et al., 1996). Se ha mostrado que ciertos probióticos de bacterias acidolácticas pueden estimular a las células asociadas al tejido linfóide intestinal y potenciar la inmunidad sistémica (Takahashi et al., 1993).

También se ha mostrado que las bacterias acidolácticas pueden potenciar la respuesta proliferativa de las células de las placas de Peyer, pueden estimular las células naturales asesinas e inducir una mayor producción de IFN (Perdigán y Alvarez, 1992). Dunham et al. (1993) reportaron que aves tratadas con *L.reuteri* exhibieron villi ileales más largos y criptas más profundas, respuesta asociada a un aumento de la función de células T y a un aumento de la producción de anticuerpos Ig M anti-*Salmonella*.

Se ha indicado que algunos probióticos de microorganismos ajenos a la flora intestinal (e.g. *Bacillus*) pueden actuar como antígenos y desencadenar cierta reacción inmunitaria que se traduce en una mayor producción de Ig M e Ig A a nivel intestinal y Takahashi et al. (1997) observaron como en pollos la administración de *Bacillus* mejoró los resultados productivos cuando los animales se criaron en condiciones de elevado nivel microbiano y también cuando se sometió a los animales a un estrés inmunitario, al disminuir los niveles plasmáticos de IL-1. En definitiva parece que hay observaciones en favor de que este tipo de bacterias pueden actuar como adyuvantes orales y producir una mayor resistencia a infecciones entéricas.

Otro aspecto importante relativo al interés de establecer una microflora apropiada en el animal se refiere al papel que desempeña esta microflora en el desarrollo del sistema inmunitario. Es un tema en estudio pero puede que la microflora inicial que se implanta en el animal recién nacido actúe como una impronta inmunológica que determina la amplitud de la respuesta inmunitaria cuando se desarrolla el sistema inmune local y general.

### **8.- PROTEINA ANTISECRETORA (PAS)**

La PAS es una proteína sintetizada por el sistema nervioso central que se acumula en la hipófisis, que inhibe la secreción de fluido intestinal inducido por el estrés o por enterotoxinas, y de acuerdo con Lange y Lönnroth (1984) parece tener un papel importante en la defensa frente a enfermedades diarreicas. La PAS es transferida de la madre al feto y también se halla en la leche siendo absorbida en el intestino del lechón. Los lechones que muestran diarrea clínica tienen menores niveles de PAS que los lechones que no muestran estos síntomas (Lönnroth et al., 1988).

La producción y liberación de PAS se puede aumentar por la dieta mediante azúcares, alcoholes y aminoácidos puros y con anticuerpos frente a enterotoxinas que inducen su disminución (Göransson, 1997). Los resultados de algunas experiencias se muestran en el cuadro 12. Hoy en día en Suecia la tecnología que concreta las dietas inductoras de PAS está patentada y es usada comercialmente, consecuencia de su desarrollo posterior a la prohibición de los antibióticos promotores del crecimiento en ese país (ver apartado 10).

**Cuadro 12.- Influencia de la utilización de una dieta inductora de PAS (proteína antisecretora) en los rendimientos productivos y en la frecuencia de aparición de diarreas en lechones (Göransson, 1997)**

Granja	Nº cerdos	Crecimiento 0 - 35 días post-destete		Unidades de PAS/ml plasma 4 días post-destete		% Diarreas	
		Control	Dieta-PAS	Control	Dieta-PAS	Control	Dieta-PAS
1	303	----	----	0,30	0,92	60	17
2	169	----	----	0,31	0,91	66	27
3	40	202	247	0,42	0,87	35	10
4	54	266	325	0,79	1,05	15	4
5	325	284	380	0,76	0,94	31	2

## 9.- ESTUDIOS COMPARATIVOS

Si la comparación entre promotores de crecimiento ya es difícil, todavía lo es más la comparación de las posibilidades enumeradas en el cuadro 1, si tenemos en cuenta por una parte el número de alternativas posibles, por otra el número de productos dentro de cada alternativa, y por otra las posibles combinaciones entre ellas.

Por una parte parece que acidificantes y promotores de crecimiento o sulfato de cobre tienen un efecto aditivo (e.g. Edmonds et al., 1985) y que el uso de acidificantes reduce la colonización intestinal por *Salmonella* aunque se mejora su efecto en combinación con cultivos microbianos (Hinton et al., 1991). También se ha mencionado anteriormente que en determinadas circunstancias el uso de oligosacáridos junto a probióticos pueden jugar un papel complementario.

A título de ejemplo en el cuadro 13 se reflejan los resultados de 3 experiencias desarrolladas por Bolduan et al. (1997), en donde se compararon 7 estrategias distintas en lechones post-destete de 4 semanas de edad. Los datos obtenidos reflejan resultados muy prometedores para distintas alternativas, pero no hay que olvidar que se trata de experiencias realizadas en granjas experimentales. En condiciones comerciales, es posible que la alternativa más recomendable sea distinta según los condicionantes de cada situación, de modo que será necesario desarrollar nuestra propia estrategia.

**Cuadro 13.- Comparación de distintos aditivos en lechones post-destete de 4 semanas de edad (Bolduan et al., 1997)**

	<b>Ganancia de peso</b>	<b>Índice de conversión</b>	<b>Frecuencia de diarreas</b>
Sin suplemento (Control)	100	100	100
Olaquinox (50 ppm)	106	95	66
Zn-Bacitracina (100 ppm) +Toyocerina	116	95	59
Ácido fórmico (0,65%)	117	85	36
Ácido sórbico (1,8%)	126	78	23
Factor antisecretor (4%)	127	82	52
Paredes celulares de levadura (2,5%)	113	90	---
Manano-oligosacáridos (0,2%)	110	96	---

Valores relativos tomando el tratamiento control como base 100  
Crecimiento de animales control: 426 - 451 g/d

## 10.- LA EXPERIENCIA SUECA

En Suecia, el uso de antibióticos promotores del crecimiento está prohibido desde enero de 1986. Desde entonces el uso de quimioterápicos y antibióticos está sujeto a la prescripción veterinaria con permiso de la UE de mantener esta prohibición hasta finales del año 2000, mientras las autoridades suecas prueben a los legisladores comunitarios la justificación de esta prohibición. Esta decisión afectó de forma especial al sector porcino donde, por ejemplo, el uso terapéutico del Olaquinox superó en los años 1988 y 1989 al uso en años anteriores como promotor de crecimiento (Inbarr, 1996). Según este mismo autor, aproximadamente el 8% de los lechones en transición sufrieron procesos diarreicos en 1987 en relación al 2% de 1985. Esto estimuló el desarrollo de alternativas que se centraron básicamente en:

- bacterias ácido lácticas, levaduras
- acidificantes (orgánicos e inorgánicos)
- oligosacáridos
- fibras funcionales
- enzimas

Además se modificaron los planes de alimentación y las especificaciones de los piensos. Con los años se ha rebajado la densidad nutritiva de los piensos (entre un 10-20%), se empezaron a utilizar fuentes de fibra como la de pulpa de remolacha, se generalizó el uso de acidificantes, se introdujo la molienda más grosera, tratamiento térmico de los cereales, se retrasó la edad al destete, se redujo la densidad de animales y se implementaron programas de control de la higiene. En 1993 se admitió el uso de óxido de zinc a 2000 ppm en piensos starter de lechones.

También se introdujeron medidas de control del contenido en *Salmonella* de materias primas tanto importadas como locales a través de un laboratorio creado por la asociación de fabricantes de pienso. El esquema de control higiénico es parcialmente voluntario, parcialmente legislado e incluye el 90% de la producción de pienso sueca y se basa en el sistema ARCPC (Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos). En caso de encontrar positividades, la materia prima en cuestión se ha de descontaminar por tratamiento térmico o químico (e.g. ácidos o formaldehído). En caso de encontrarse a nivel de fábrica, se toman distintas medidas según el punto donde se haya aislado. Se puede llegar a parar la fábrica para limpiar y desinfectar, hasta que las muestras subsiguientes estén libres de *Salmonella*.

Dentro de este contexto, cada pedido que un ganadero realiza de pienso medicado bajo prescripción, debe pagar una cantidad fija por el coste que supone a la fábrica, la mezcla especial y el hecho de que la fábrica deba mantenerla separada de los demás productos, para prevenir contaminaciones cruzadas.

Como resultado el uso de antibióticos en pienso se ha reducido, pero la



controversia en cuanto a la cifra de reducción es muy amplia. Así, según Inbarr (1996) en 1995 el uso de antibióticos en pienso fue tan solo del 10% de aquél anterior a la prohibición, y la productividad está alcanzando también los niveles anteriores, aunque con esporádicas incidencias de patologías digestivas. Sin embargo, según un reciente informe de Weirup (1997) el uso de antibióticos expresado en kg de ingrediente activo fue del 95% y del 78,77% para 1995 y 1996 respectivamente en relación a 1986.

## **11.- RESUMEN**

En este artículo se revisan los principales compuestos, aparte de los promotores de crecimiento de naturaleza antibiótica, que pueden contribuir a optimizar la capacidad de defensa del animal frente a las agresiones de muy diversa índole a las que se tiene que enfrentar. Entre estos compuestos, se tratan con especial profundidad aquéllos más recientes, y con mayores posibilidades de contribuir en la consecución de este objetivo como son las inmunoglobulinas por vía oral, los inmunoestimuladores, nutrientes estimuladores de la respuesta inmunitaria (ácidos grasos, vitaminas, carotenoides y microelementos), oligosacáridos, reguladores metabólicos y probióticos.

En términos generales se han observado respuestas positivas a la aplicación de muchos de estos aditivos, pero no parece que ninguno de ellos por sí sólo sea capaz de optimizar la capacidad de defensa animal. La solución más adecuada consiste en la combinación de algunos de estos aditivos, en el momento más apropiado, como puede ser cuando se vaya a producir un estrés (e.g. destete, cambio de nave, transporte, parto, presión microbiana) o después de un tratamiento antibiótico frente a una enteritis, junto a otras medidas de manejo. La experiencia sueca puede valer de ejemplo para algunas de las medidas tomadas como consecuencia de la prohibición de los promotores de crecimiento en 1986, pero cada situación es distinta y en consecuencia, la mejor solución también puede ser distinta.

## **12.- REFERENCIAS**

- ALLEN, V.M., FERNANDEZ, F. y HINTON, M.H. (1997) *Br. Poult. Sci.* 38, 485-488.
- ASLAM, S.M., GARLICH, J.D. y QURESHI, M.A. (1998) *Poult. Sci.* 77: 842-849.
- BAILEY, J.S., BLANKENSHIP, L.C. y COX, N.A. (1991) *Poult. Sci.* 70: 2433-2438.
- BOLDUAN, G., SCHULDT, A. y HACKL, W. (1997) *Archiv für Tierzucht.* 40 (Suppl.): 95-100.
- CHAMBERS, J.R., SPENCER, J.L. y MODLER, H.W. (1998) *Poult. Sci.* 76: 445-451.
- CHANG, G.X., MALLARD, B.A., MOWAT, D.N. y GALLO, G.F. (1996) *Can. J. Vet. Res.* 60: 140-144.
- COELHO, M.B. (1995) *Proc. Maryland Nutr. Conf.* 23-24th March. pp: 46-63.
- COOK, M.E., MILLER, C.C., PARK, Y. y PARIZA, M. (1993) *Poult. Sci.* 72: 1301-1305.
- COSKUN, B., INAL, F., CELIK, I., ERGANIS, O., TIFTIK, A.M., KURTOGLU, F., KUYUCUOGLU, Y. y OK, Ü. (1998) *Poult. Sci.* 77: 542-546.

- DEGREGORIO, R.M. (1991) *Proc. Cornell Nutr. Conf. for Feed Manufacturers*. 8-10 Octubre. pp.102.
- DUNHAM, H.J., WILLIAMS, C., EDENS, F.W., CASAS, I.A. y DOBROGOSZ, W.J. (1993) *Poult. Sci.* 72 (Suppl. 2): 103.
- EDMONDS, M.S., IZQUIERDO, O.A. y BAKER, D.H. (1985) *J. Anim. Sci.* 60: 462-469.
- EDWARDS, H.M. JR., ELLIOT, M.A., SOONCHARERNYING, S. y BRITTON, W.M. (1994) *Poult. Sci.* 73: 288-294.
- ENGSTAD, R. E. (1994) *Ph. D. Thesis*. The Norwegian College of Fishery Science. University of Tromso. Norway.
- F. HOFFMANN-LA ROCHE (1998) *Vitamin E. Nature's own Antioxidant*. Basel. Switzerland.
- FALKOWSKI, J.F. y AHERNE, F.X. (1984) *J. Anim. Sci.* 58: 935-938.
- FRAGA, M.J. y VILLAMIDE, M.J. (1998) *Anim. Feed Sci. Tech.* (En prensa).
- FRIEDMAN, A., MEDIOVSKY, A., LEITNER, G. y SKLAN, D. (1991) *A. J. Nutr.* 121: 395-400.
- GASKINS, H.R. (1996) En: *Gastrointestinal Microbial Ecology. Vol 2. Gastrointestinal microbiology and host interactions*. Eds.: Mackie, R.I., Isaacson, R.E. y White, B.A. Chapman and Hall. New York.
- GÖRANSSON, L., LANGE, S. y LÖNNROTH, I. (1995) *Pig News and Information* 16: 3, 89N-91N.
- GÖRANSSON, L. (1997) En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Eds: Wiseman, J. Nottingham University Press. Loughborough. pp: 45-56.
- HINTON, M., MEAD, G.C. e IMPEY, C.S. (1991) *Lett. Appl. Microbiol.* 12: 69-71.
- HORTON, B.S. (1995) *J. Dairy Sci.* 78: 2584-2589.
- HOUDIJK, J.G.M., BOSCH, M.W., VERSTEGEN, M.W.A. y BERENPAS, H.J. (1998) *Anim. Feed Sci. and Tech.* 71: 35-48.
- INBORR, J. (1996) *Proc. Society of Feed Technologists Conference on Pigs*. 20th November. Coventry. UK.
- KEGLEY, E.B., E.B., SPEARS, J.W. y BROWN JR., J. (1997) *Dairy Sci.* 79: 1278-1283.
- KICHURA, T.S. (1997) *American Association of Swine Practitioners*. pp: 101-104.
- KICHURA, T.S. (1998) *American Association of Swine Practitioners*. pp: 189-194.
- KIDD, M.T., FERKET, P.R. y QURESHI, M.A. (1996) *World's Poult. Sci. J.* 52: 309-324.
- KISER, J.S., LINDH, H. y DE MELLO, G.C. (1956) *Ann. N.Y. Acad. of Sci.* 66: 312-328.
- KLASING, K.C., ROURA, E. y KORVER, D. (1995) *XI Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Fundación para el desarrollo de la Nutrición Animal. Barcelona. pp: 156-168.
- KOLB, E. (1997) *Vitamins and the Immune System*. F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland.
- KRAMER, T.T. y CHO, H.C. (1970) *Immunology*. 19: 157-167.
- LANGE, S. y LÖNNROTH, I (1984) *Microbiology letters* 24: 165-168.
- LÖNNROTH, I., MARTINSSON, K. y LANGE, S. (1988) *J. Vet. Med.* 335: 628-635.
- MAXWELL, F.J. y STEWART, C.S. (1995) En: *The Neonatal Pig: Development and Survival*. Ed.: Varley, M.A. CAB International, Wallingford, UK. pp: 155-186.
- MCCRACKEN, V.J., NING, W., MACKIE, R.I. y GASKINS, H.R. (1996) *Annual Meeting of the American Society for Microbiology*. 19-23 Mayo. New Orleans. Louisiana (Abstract).
- MCKELLAR, R.C., MODLER, H.W. y MULLIN, J. (1993). Bifidobacteria and microflora, 12, 75-86.
- MEISEL, H. (1997) *Liv. Prod. Sci.* 50: 125-138.

- MONSAND, P.F. y PAUL, F. (1995) En: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. Eds.: Wallace, J. y Cheeson, A. Weinheim, Germany Verlagsgesellschaft pp: 233-245.
- MORGAN, A.J., MUL, A.J., BELDMAN, G. y VORAGEN, A.G.J. (1992) *Agro-Industry high Tech* 6: 35-38.
- MORISSE, J.P., MAURICE, R., BOILLETOT, E. y COTTE, J.P. (1992) *J. Appl. Rabitt Res.* 15: 1137-1143.
- MORISSE, J.P., MAURICE, R., BOILLETOT, E. y COTTE, J.P. (1993). *Ann. Zootech.*, 42, 81-87.
- MOWAT, D.N. (1997) *Feedstuffs* 69: N1 43, 12.
- MOWAT, D.N. (1997a) *Organic Chromium in Animal Nutrition. Cromium Books*. Guelph. Canada. pp: 203-224.
- MUL, A.J. y PERRY, F.G. (1994) En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Eds.: University Press. pp: 57-79.
- N.R.C. (1994) *Nutrient Requirements of Poultry. Ninth revised edition. National Research Council*. Washington, D.C.
- N.R.C. (1998) *Nutrient Requirements of Swine*.
- NEWMAN, K.E. (1995) *Proc. 56th Minnesota Nutrition Conference*. Alltech Tech. Symp. St Paul: University of Minnesota. pp: 37-42.
- NEWMAN, K. (1994) En: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 10th Annual Symposium*. Eds.: Lyons, T.P. y Jacques, K.A. Nottingham University Press. Loughborough, Leics. UK. Pp. 167-174.
- OHTA, A., OHTSUKI, M., BABA, S., TAKUZAWA, T., ADACHI, T. y KIMURA, S. (1995) *J. Nutr. Sci., Vitaminol.* 41: 281-291.
- OYOFO, B.A., DROLESKEY, R.E., NORMAN, J.O., MOLLENHAUER, H.H., ZIPRIN, R.L., CORRIER, D.E. y DELOACH, J.R. (1989) *Poult. Sci.* 68: 1351-1356.
- PERDIGAN, G. y ALVAREZ, S. (1992) En: *Probiotics. The Scientific Basis*. Ed.: Fuller, R. London: Chapman and Hall. Pp. 145-180.
- PIVA, G. y ROSSI, F. (1998) *Proc. 20 Conferencia-Salón de Fabricantes de Pienso del Mediterráneo*. 25-27 Marzo. Reus.
- PULS, R. (1994) *Mineral Levels in Animal Health*. Sherpa International. Clearbrook. Canada.
- RAA, J. (1996) *Reviews in Fisheries Sciences* 4: 229-288.
- SANTOMÁ, G. (1990) *Factores Antinutricionales en Leguminosas Grano*. VI Curso de Especialización de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. 31 Mayo.
- SANTOMÁ, G. (1991) *VII Curso de Especialización de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Nutrición y Patología*.
- SAVAGE, T.F. y ZAKRZEWKA, E.I. (1996) En: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 12th Annual Symposium*. Eds.: Lyons, T.P. y Jacques, K.A. Nottingham University Press. Loughborough, Leics. UK. Pp. 47-54.
- SCHOENHERR, W.D. y POLLMANN, D.S. (1994) *Feedstuffs*, 28th March, p. 13.
- SCHOENHERR, W.D., POLLMANN, D.S. y COALSON, J.A. (1994) *J. Anim. Sci.* 72:(Supp.1).
- SCHOENI, J.L. y DOYLE, M.P. (1992) *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 664-670.
- SPIEGEL, J.E., ROSE, R., KARABELL, P., FRANKOS, V.H. y SCHMITT, D. (1994) *Food Technology*. January, 85-89.
- SPRING, P. (1995) En: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 11th Annual Symposium*. Eds.: Lyons, T.P. y Jacques, K.A. Nottingham University Press. Loughborough, Leics. UK. Pp. 383-388.

- SPURLOCK, M.E., FRANK, G.R., CORNELIUS, S.G., CHAPPLE, R.P. y WILLIS, G.M. (1997) *Feedstuffs* 69 (1) 44: 13.
- STAHLY, T. (1996) *XII Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Fundación para el desarrollo de la Nutrición Animal. 7 y 8 de Noviembre. Madrid. Pp. 95-105.
- SURAI, P.F., IONOV, I.A., KUKLENKO, T.V., KOSTJUK, I.A., MACPHERSON, A., SPEAKE, B.K., NOBLE, R.C. y SPARKS, N.H. (1998) *Br. Poult. Sci.* 39: 257-263.
- TAKAHASHI, T., OKA, T., IWANA, H., KUWATA, T. y YAMAMOTO, Y. (1993) *Biosci. Biotech. Biochem.* 57: 1557-1560.
- TAKAHASHI, K., AKIBA, Y. y MATSUDA, A. (1997) *Anim. Sci. and Technol.* 68: 537-544.
- TERADA, H., HARA, H., SAKAMOTO, J., SATO, N., TAKAGI, S., MITSUOKA, T., MINO, R., HARA, K., FUJIMORI, I. y YAMADA, T. (1994) *Poult. Sci.* 73: 1663-1672.
- TOMOMATSU, H. (1994) *Food Technology*. October, 61-65.
- VANDERGRIFT, B. (1992) En: *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 8th Annual Symposium*. Ed.: Lyons, T.P., Alltech Technical Publications. Nicholasville, Kentucky. USA. Pp. 179-192.
- VAN HEUGTEN, E. y SPEARS, J.W. (1997) *J. Anim. Sci.* 75: 409-416.
- WADA, K. (1990) *In vitro fermentability of oligo-fructosa and inulin by some species of human intestinal flora*. Calpis Intestinal Flora Laboratory. Japan. Internal Report.
- WALDROUP, A.L., SKINNER, J.T., HIERHOLZER, R.E. y WALDROUP, P.W. (1993) *Poult. Sci.* 72: 643-650.
- WEIRUP (1997) *WHO Meeting*. Citado por Alpharma. Animal Health Division. Issue 3-June 1998. Skoyen. Norway.
- WHITEHEAD, C.C. (1995) *10th European Symposium on Poultry Nutrition*. Antalya. Turkey. Pp. 64-73.
- ZIMMERMAN, D.N. (1997) *Proc. Minnesota Nutr. Conf.* 22-24th Sept.