

# **PROBIOTICOS Y ACEITES ESENCIALES EN LA DIETA DE LECHONES DESTETADOS**

**GRACIELA NOEMÍ ALBO**

**2019**



**Universidad Nacional de La Plata  
Facultad de Ciencias Veterinarias**

**Trabajo realizado como requisito para optar al Título de  
Especialista en Sanidad y Producción Porcina**

**“PROBIOTICOS Y ACEITES ESENCIALES EN LA DIETA  
DE LECHONES DESTETADOS”**

**Autora: Dra. Graciela Noemí, Albo**

**Director: Dr. Guillermo, Kociubinski**

**Codirector: Dr. Francisco, Reynaldi**

**Lugar/es de trabajo**

**Curso de Producción Animal I. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.**

**Universidad Nacional de La Plata**

**AÑO 2020**

## RESUMEN

La microbiota intestinal del cerdo constituye un sistema complejo que presenta una composición dinámica y diversa a lo largo del tiempo y del tracto gastrointestinal. Ejerce numerosos roles que benefician al huésped, como la digestión, función hormonal, regulación de la respuesta inmune y protección contra bacterias patógenas. El destete es un evento crítico en el ciclo de vida del cerdo, frecuentemente asociado con infecciones entéricas graves y uso excesivo de antibióticos. Entre los factores fisiológicos que sufren mayor impacto por la transición al destete, se encuentra la interrupción de la microbiota intestinal o disbiosis, caracterizada por una marcada disminución de las bacterias lácticas, con predominancia de *Lactobacillus*, la pérdida de diversidad microbiana y el incremento significativo de las Enterobacterias, incluyendo a *E. coli*, uno de los principales patógenos de la diarrea posdestete. Los productores de porcinos hoy en día, se enfrentan al desafío de superar esta situación en un contexto de restricciones crecientes sobre el uso de antibióticos en la producción animal. En ese contexto, se utilizan estrategias alimenticias alternativas a los antibióticos en la dieta de los lechones destetados, para ayudar a reforzar el sistema inmunológico, regular la microbiota intestinal y reducir el impacto negativo del destete y otros desafíos ambientales. Los aditivos para alimentos más usados incluyen acidificantes, zinc y cobre, prebióticos, probióticos, nucleótidos y aditivos fitogénicos, entre otros. En este trabajo de revisión, se detallan los avances en el empleo de probióticos y aceites esenciales como aditivos en la dieta del cerdo y en particular en el control de la diarrea en lechones destetados. Los probióticos, son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas confieren buena salud y beneficios al huésped. Los microorganismos más frecuentemente utilizados en las formulaciones probióticas pertenecen al género *Lactobacillus*. Conforman una categoría de aditivos para alimentos que se pueden usar para, reponer la microbiota intestinal, recuperar el sistema inmunitario del huésped, reducir los efectos de antitoxinas y diarreas, favorecer la digestibilidad de nutrientes y mejorar el rendimiento del crecimiento del cerdo. Por otro lado, los aceites esenciales son productos naturales derivados del metabolismo secundario de las plantas y constituidos por hasta 60 componentes. Se comprobó que los aceites esenciales, empleados como aditivos fitogénicos, mejoran la producción de las secreciones digestivas y la

absorción de nutrientes, reducen la influencia de patógenos en el intestino por fuerte acción antimicrobiana, ejercen propiedades antioxidantes y refuerzan el estado inmunológico del animal, que ayuda a explicar el rendimiento mejorado observado en cerdos. Sin embargo, los mecanismos de acción de los aceites esenciales no son claros y se dispone de información limitada sobre la interacción entre los AE y los ingredientes de los alimentos u otros aditivos para alimentos, especialmente pro o prebióticos y ácidos orgánicos.

**PALABRAS CLAVE:** LECHONES, DESTETE, MICROBIOTA, PROBIOTICOS, ACEITES ESENCIALES

## ABSTRACT

The intestinal microbiota of the pig constitutes a complex system that presents a dynamic and diverse composition over time and the gastrointestinal tract. It exerts many roles that benefit the host, such as digestion, hormonal function, regulation of the immune response and protection against pathogenic bacteria. Weaning is a critical event in the life cycle of the pig, often associated with severe enteric infections and overuse of antibiotics. Among the physiological factors that suffer the greatest impact by the transition to weaning, is the interruption of intestinal microbiota or dysbiosis, characterized by a marked decrease in lactic bacteria, with predominance of *Lactobacillus*, the loss of microbial diversity and the significant increase in Enterobacteria, including *E. coli*, one of the main pathogens of postweaning diarrhea. Pig producers today face the challenge of overcoming this situation in a context of increasing restrictions on the use of antibiotics in animal production. In this context, alternative food strategies to antibiotics are used in the diet of weaned piglets, to help strengthen the immune system, regulate intestinal microbiota and reduce the negative impact of weaning and other challenges environmental. The most commonly used food additives include acidifiers, zinc and copper, prebiotics, probiotics, nucleotides and phytogetic additives, among others. In this review work, we detail the advances in the use of probiotics and essential oils as additives in the diet of pig and in particular in the control of diarrhea in weaned piglets. Probiotics are living microorganisms which, when administered in adequate quantities, confer good health and benefits to the host. The most frequently used microorganisms in probiotic formulations belong to the genus *Lactobacillus*. They form a category of food additives that can be used to, replenish intestinal microbiota, recover the host's immune system, reduce the effects of antitoxins and diarrheas, promote nutrient digestibility and improve pig growth performance. On the other hand, essential oils are natural products derived from secondary metabolism of plants and consist by up to 60 components. It was found that essential oils, used as phytogetic additives, improve the production of digestive secretions and nutrient absorption, reduce the influence of pathogens in the intestine by strong antimicrobial action, exert properties Antioxidants and reinforce the immune status of the animal, which helps explain the improved performance observed in pigs. However, the mechanisms of action of essential

oils are not clear and limited information is available on the interaction between essential oils and food ingredients or other food additives, especially pro or prebiotics and organic acids.

**KEY WORDS:** PIGLETS, WEANING, MICROBIOTA, PROBIOTICS, ESSENTIAL OILS

**ABREVIATURAS**

AA	Aminoácidos
AAF	Aditivos Alimenticios Fitoquímicos
ADN	Acido Desoxirribonucleico (ADN)
AE	Aceites Esenciales
AF	Alimentos Fermentados
AGCCs	Acidos Grasos de Cadena Corta
ATB	Antibióticos
CDP	Consumo Diario Promedio
Cu	Cobre
CuSO <sub>4</sub>	Sulfato de cobre
DPD	Diarrea Posterior al Destete
GDP	Ganancia Diaria de Peso
GI	Gastro Intestinal
NH <sub>3</sub>	Amoníaco
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amonio
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PMAMs	Patrones Moleculares Asociados a Microorganismos
RAM	Resistencia Antimicrobiana
RAM	Resistentes a los Antimicrobianos
rRNA,	Acido Ribonucleico ribosomal
TGI	Tracto Gatrointestinal
Zn	Zinc
ZnO	Oxido de Zinc

***Al Dr. Eduardo Marotta y la Dra. Liliana Lagreca, quienes fueron mis primeros maestros en el conocimiento de la producción porcina y me apoyaron incondicionalmente durante este proceso de capacitación***



**INDICE**

RESUMEN	iii
PALABRAS CLAVE	iv
ABSTRACT	v
KEY WORDS	vi
ABREVIATURAS	vii
DEDICATORIA	viii
INDICE	ix
TRABAJO DE REVISION	1
1. EL PAPEL DE LA MICROBIOTA EN ANIMALES Y PLANTAS	1
1.1. Efecto de los metabolitos producidos por la microbiota en animales	2
2. MICROBIOTA Y SALUD GASTROINTESTINAL DEL CERDO	7
2.1. Rol de la microbiota intestinal en la etapa de posdestete	8
2.2. Influencia de la microbiota intestinal en la nutrición	11
3. ESTRATEGIAS ALIMENTICIAS ALTERNATIVAS A LOS ANTIBIÓTICOS EN LA DIETA DEL CERDO	13
3.1. Aditivos alimenticios alternativos en el posdestete del cerdo	13
3.1.1. Zinc y cobre	14
3.1.2. Acidificantes	15
3.1.3. Plasma	15
3.1.4. Péptidos antimicrobianos	15
3.1.5. Yema de huevo	16
3.1.6. Bacteriófagos	17
3.1.7. Enzimas exógenas, productos lácteos, minerales de arcilla	16
3.1.8. Nucleótidos	16
3.1.9. Prebióticos	17
3.1.10. Probióticos	17
3.1.11. Simbióticos	18
3.1.12. Fitobióticos (extractos vegetales y aceites esenciales)	18
4. PROBIÓTICOS	20
4.1. El rol de los probióticos en la dieta porcina	20
4.2. Modo de acción de los probióticos	22
4.3. Microorganismos comúnmente utilizados como probióticos	23
4.4. El empleo de <i>Lactobacillus</i> spp. durante el posdestete de lechones	24

4.4.1. Modo de acción	24
4.5. Microbiota en alimentos fermentados y el TGI del cerdo	25
4.5.1. Avances en el empleo de alimentos fermentados en dietas de cerdos en posdestete	26
5. ADITIVOS FITOGENICOS	30
5.1. Efectos de los aditivos alimenticios fitogénicos (extractos vegetales y aceites esenciales) en la producción porcina	30
5.2. Aceites esenciales	31
5.2.1. Modo de acción de los aceites esenciales	35
5.2.2. Empleo de aceites esenciales como aditivos en la dieta del cerdo	35
5.2.2.1. Regulación de la microflora intestinal en lechones destetados con aceites esenciales	36
INDICE DE TABLAS	
Tabla 1	24
Tabla 2 (1° parte)	33
Tabla 2 (2° parte)	34
Tabla 3	38
Tabla 4	40
BIBLIOGRAFIA	41

## TRABAJO DE REVISION

### 1. EL PAPEL DE LA MICROBIOTA EN ANIMALES Y PLANTAS

Todos los organismos multicelulares se benefician de su propia microbiota, que juega un papel importante en el mantenimiento de la salud nutricional y la inmunidad del huésped. Los biólogos en Ciencias Agrícolas centran la atención sobre la microbiota, es decir, en las comunidades complejas de microorganismos que colonizan animales hospedadores, peces y plantas (Hacquard y col., 2015). Comparado con un gran cuerpo de estudios sobre la microbiota de los seres humanos (Lloyd-Price y col., 2016) o modelos experimentales con roedores (Xiao y col., 2015), hay limitado número de estudios sobre la microbiota de animales de importancia económica, peces, y plantas (Ikeda-Ohtsubo y col., 2018)

El conocimiento y manejo de la microbiota es una estrategia prometedor para abordar la resistencia antimicrobiana (RAM) (Brugman y col., 2018). Por ello, se está expandiendo rápidamente la información sobre la microbiota en animales, peces y plantas con una visión más generalizada (Ikeda-Ohtsubo y col., 2018).

El cuerpo de los organismos proporciona una amplia variedad de características ecológicas, nichos, en el que las condiciones ambientales tales como temperatura, pH, nivel de oxígeno y disponibilidad nutricional pueden afectar la composición de la microbiota que reside allí. Los estudios moleculares a través de la amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y posterior clonación y secuenciación del gen 16S rRNA, reveló la diversidad y dinámica de las comunidades bacterianas colonizadoras en animales, peces y plantas.

La microbiota de animales, peces y plantas puede albergar hasta 20 Filos bacterianos, pero tres Filos dominan la comunidad bacteriana: Proteobacterias, Firmicutes y Bacteroidetes (Ikeda-Ohtsubo y col., 2018).

Mientras que las Proteobacterias son ubicuas y su asociación a menudo se describe como oportunista, se muestran aparentes especificidades del hospedador en alguna microbiota. En los animales, predominan dentro de las comunidades Proteobacterianas, las Enterobacteriaceae, seguido de Campylobacteriaceae y Helicobacteraceae, que constituyen una fuente importante de trasmisión de enfermedades al hombre a través de los alimentos (Frese y col., 2015).

El Filo Firmicute de la microbiota de la población en animales, peces y plantas pueden ser clasificados en dos grupos: bacterias del ácido láctico del grupo Bacillales y Lactobacillales, y fermentadores anaerobios, del grupo de bacterias Clostridiales, tales como Clostridiaceae y Ruminococcaceae. El primero representa la microbiota en regiones microóxicas como la filósfera de la planta, la mucosa de los peces y el intestino delgado de los animales, mientras que los últimos dos grupos representan el estado anóxico del tracto digestivo fermentativo como el rumen y el intestino grueso del cerdo.

Los Lactobacillales son uno de los grupos bacterianos más frecuentes y estudiados en la microbiota de animales y peces, con algunas variaciones a nivel de la especie del hospedador. Asimismo, *Lactobacillus* spp es un importante colonizador en el intestino delgado de los cerdos (Levesque y col., 2014; Valeriano y col., 2017). Las Enterococcaceae y Streptococcaceae generalmente se encuentran en la microbiota de animales y peces (Hardie y col., 2003). Clostridiaceae es filogenética y funcionalmente diversa y está ampliamente distribuida en ambientes anaerobios desde las plantas, rizosfera a intestinos de animales y peces (Wiegel y col., 2006).

Los bacteroidetes que colonizan animales, peces y plantas también pueden estar vinculados con dos tipos: Flavobacteriaceae aeróbicas, que se adapta a la interfaz óxica de plantas y peces, y las bacterias fermentativas anaerobias tales como Bacteroidaceae y Prevotellaceae. Flavobacteriaceae, a menudo se reconoce como patógeno peligroso de los animales y peces (Loch y col., 2015), pero también se ha introducido a aplicaciones industriales (Nishioka y col., 2016). Bacteroidaceae y Prevotellaceae son importantes fermentadores primarios en tractos intestinales de animales, a través de los cuales, los hidratos de carbono complejos derivados de plantas y proteínas no digeridas, entran en la red metabólica microbiana aportando azúcares solubles y aminoácidos disponibles para todo tipo de células (El Kaoutari y col., 2013). Dominan el rumen y la microbiota colonal de animales (Holman y col., 2017; Li y col., 2017) pero rara vez se encuentran en peces y plantas, lo que sugiere su especialización en los tractos digestivos animales.

## **1.2. Efectos de los metabolitos producidos por la microbiota en los animales**

Se ha demostrado que metabolitos microbianos de bajo peso molecular,

tales como los *Acidos Grasos de Cadena Corta (AGCCs)* y las *poliaminas* producidas por la microbiota intestinal de mamíferos, están involucrados en diversos mecanismos epigenómicos en el mamífero hospedador (Bhat y col., 2017). Se observaron efectos moduladores de la estructura microbiana, participan en la expresión de las células epiteliales del huésped en múltiples formas, y sus concentraciones fisiológicas pueden afectar significativamente la salud nutricional e inmunidad del huésped (Koh y col., 2016). Los AGCCs (*láctico, acético, butíruco, propionato, butirato, formato, valerato, etc*), producidos por la microbiota intestinal juegan un papel crucial para los animales monogástricos jóvenes al mantener el peso corporal después del destete. Roles adicionales de los AGCCs incluyen mecanismos de defensa, solubilización de minerales y los efectos antiinflamatorios (Smith y col., 2013). La microbiota mejora las funciones de la barrera intestinal y suprime la inflamación a través de vías de señalización (Tan y col., 2014; Kelly y col., 2015).

Por el contrario, si la concentración de AGCCs aumenta junto con el desequilibrio microbiano, puede favorecer el crecimiento de patógenos enterobacterianos no deseados (Hughes y col., 2017).

En otros estudios, se observó que niveles altos de *propionato* se encuentran a menudo en humanos y animales con trastornos psicológicos y de comportamiento y se cree que tienen un potencial neurotóxico (Wiley y col., 2017).

Otro compuesto que juega un rol relacionado con la microbiota intestinal es el *lactato*. Es un intermediario importante en la fermentación anaeróbica de los hidratos de carbono. Mientras que, el lactato derivado del huésped se conoce para la función reguladora de la homeostásis energética y el metabolismo del cerebro (Proia y col., 2016). El *lactato*, producido por la microbiota, también puede desempeñar roles importantes en el ecosistema intestinal, como la rotación de células epiteliales del huésped (Okada y col., 2013), además de su papel como importante fuente de alimento para otras bacterias que producen AGCCs. Se ha demostrado que el ácido láctico producido por las bacterias acidolácticas alojadas en el tracto intestinal, ejerce efectos positivos (probióticos) modulando la composición de la microbiota gastrointestinal, como sobre el funcionamiento de los enterocitos del huésped (Bourriaud y col., 2005). En el intestino delgado de animales, las bacterias productoras de ácido láctico, tales como las Lactobacilares, se sabe que producen *lactato* como un metabolito

primario, mientras que *Turicibacter* spp (Erysipelotrichaceae) representan a los principales productores de *lactato* en el intestino grueso.

El *succinato* es otro ácido orgánico importante liberado por la microbiota durante la fermentación de carbohidratos. Los grupos Prevotellaceae y Veillonellaceae en el colon de los cerdos, son importantes productores de *succinato*. Una gran variedad de bacterias incluyendo Enterobacteriaceae y Clostridiaceae pueden crecer en *succinato*. La acumulación de *succinato* aumentaría el riesgo de infección por bacterias patógenas (Ferreira y col., 2014). Estudios recientes reportaron que la producción de *succinato* por la microbiota intestinal está fuertemente correlacionada con la fluctuación metabólica de los animales huéspedes (De Vadder y col., 2016; Serena y col., 2018).

La acumulación de *lactato* y *succinato* fue reportada en el intestino de cerdos con problemas gástricos. Se demostró que está inversamente relacionado con las concentraciones de AGCCs (Højberg y col., 2005). El aumento de las concentraciones de *lactato* y *succinato* puede causar una disminución en el pH y cambios drásticos en los patrones metabólicos del intestino de los animales, que puede conducir a resultados perjudiciales como la acidosis y la inflamación. Para evitar esto, la rotación de lactato rápida por la microbiota intestinal parece ser crucial para la homeostasis intestinal en los animales (Brune y col., 2000).

El *amoníaco* ( $NH_3$ ), agente nocivo para los enterocitos, es producido por ciertos componentes de la microbiota gastrointestinal, entre ellos, las enterobacterias. Muchas bacterias como *E. coli* y Bacteroides spp se sabe que requieren ( $NH_3$ ) o *amonio* ( $NH_4^+$ ) para su crecimiento en el sistema intestinal, mientras que son capaces de proporcionar aminoácidos y sus derivados a otras bacterias intestinales y al huésped. La toxicidad del  $NH_3$  y del  $NH_4^+$  generado por la microbiota, también representa un riesgo para el huésped. Cuando un exceso de proteína está presente en el intestino, la producción de  $NH_3$  por desaminación microbiana, superará la asimilación del  $NH_3$  microbiano (Apajalahti y col., 2016).

La urea producida por los animales hospedadores también es convertida en  $NH_3$  y luego en  $NH_4^+$  por la microbiota, que puede elevar el nivel del pH luminal, causando daño e irritación a la mucosa. El  $NH_4^+$  acumulado tiene múltiples efectos adversos en las células epiteliales del huésped (Apajalahti y col., 2016).

El aumento de las concentraciones de *proteínas y péptidos* en un ecosistema microbiano, puede facilitar la conversión activa de *aminoácidos (AA)* a diversos derivados nitrogenados. Las bacterias anaeróbicas fermentan los *AA* en metabolitos intermedios como *indoles, fenoles, cresoles* y sus derivados, así como las *aminas biogénicas*.

Las *aminas biogénicas*, se producen por descarboxilación de los *AA*, que tienen importantes efectos fisiológicos y toxicológicos en las células eucariotas (Spano y col., 2010). Las *aminas biogénicas* sirven como precursores de diversos compuestos bioactivos, que pueden regular directamente la fisiología y el comportamiento del huésped, por ejemplo, la triptamina, un neurotransmisor derivado del metabolismo del triptofano, influye en los modos de producción de serotonina en células enterocromatinas, y por lo tanto afecta el comportamiento del huésped (Williams y col., 2014; Yano y col., 2015).

En los animales, los *metabolitos secundarios* producidos por la microbiota intestinal, como el *ácido gamma aminobutirico* es probable que tenga una influencia significativa en las propiedades fisiológicas y psicológicas del huésped (Sharon y col., 2014).

Los compuestos antimicrobianos como *bacteriocinas, sideróforos, y lipopéptidos biosurfactantes* permiten a algunos microorganismos superar y eliminar patógenos y dar forma a la estructura de la microbiota, al afectar también la inmunidad del huésped (García-Gutiérrez y col., 2018).

Las moléculas de señalización conocidas como *autoinductoras*, juegan un rol importante en la comunicación célula a célula entre microorganismos y, dan forma al comportamiento sincronizado de la comunidad microbiana como la formación de biopelículas. En contraste, se encuentra la molécula conocida como *N-acil-homoserina lactona*, que se produce como factor de virulencia por muchas bacterias patógenas gram negativas y, probablemente son infrecuentes en la microbiota intestinal de animales sanos (Swearingen y col., 2013). *Moléculas autoinductoras* están presentes en muchas bacterias intestinales, tales como Firmicutes y Bacteroidetes y son conocidas por modificar la estructura y el comportamiento de la microbiota intestinal (Thompson y col., 2015).

Asimismo, los animales dependen de su microbiota intestinal para la obtención de varias *vitaminas*, que a menudo son deficientes en su dieta normal. Deficiencias en *vitaminas B<sub>12</sub>*, otras del *complejo B, K y D* en animales, fue

correlacionada con la ausencia de microorganismos intestinales que producen esas *vitaminas* (Degnan y col., 2014). Además del papel crucial en la salud nutricional para el huésped (Biesalski y col., 2016), las *vitaminas* formadas por la microbiota, también se suministran a otros microorganismos adyacentes, apoyando así la red metabólica de alimentación cruzada en la microbiota intestinal (Degnan y col., 2014).

Los *metabolitos microbianos* que afectan la salud del huésped también incluyen los compuestos estructurales de los propios microorganismos. *Exo* y *lipopolisacáridos*, *peptidoglicanos*, *flagelina* y algunos *péptidos* y *ácidos nucleicos* únicos liberados por la comunidad microbiana, que a menudo se denominan colectivamente como *Patrones Moleculares Asociados a Microorganismos (PMAMs)*, se detectan específicamente como "no-yo" y se distinguen por patrones receptores de reconocimiento de la célula huésped, y desencadenan respuestas inmunes en los animales. Desde hace tiempo se ha reconocido que los *PMAMs* de los patógenos desempeñan un papel crucial para la inmunidad del huésped en animales y plantas (Nürnberg y col., 2004), pero estudios recientes revelaron que los *PMAMs* de la microbiota comensal también pueden controlar el sistema inmunitario del huésped para mantener la homeostasis intestinal (Lathrop y col., 2011). Bacterias intestinales comunes como *Clostridium* y *Bacteroides* han demostrado estimular la producción de citoquinas que protegen de lesiones a los tejidos del intestino (Zheng y col., 2009), y también inducen la proliferación de células inmunes como las células reguladoras FOXP3<sup>+</sup> regulando las T (Treg) (Atarashi y col., 2011).

Aunque se requieren *PMAMs* para la inducción de cada factor del huésped, no son bien conocidos, los *polisacáridos específicos* de la especie, tales como el polisacárido A encontrado en la cápsula de *Bacteroides fragilis*, que puede desempeñar un papel importante para la unión inicial y el reconocimiento a las células hospedadoras.



## 2. MICROBIOTA Y LA SALUD GASTROINTESTINAL DEL CERDO

El tracto gastrointestinal (TGI) del cerdo es un órgano muy complejo, dinámico y en constante cambio, por ejemplo, el TGI de cerdos jóvenes al destete es sometido a cambios rápidos en tamaño, tasas de rotación de proteínas, masa de microbiota, composición y, alteraciones rápidas y marcadas en el aparato digestivo. Funciones de absorción, función de barrera e inmunidad. En efecto, las interacciones complejas que ocurren en el TGI entre nutrición, la mucosa del epitelio del TGI y la microbiota, son claves para impactar en la salud intestinal del animal (Pluske y col., 2018).

Se puede definir a la “*Salud intestinal*” del cerdo, como una “*Condición generalizada de homeostasis en el TGI, con respecto a la estructura y función general*”. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1948 (Bischoff, 2011) propuso una definición positiva para el concepto de salud intestinal, en lugar de “*Ausencia de enfermedad*” definiendo a la “*Salud intestinal*” como “*Un estado de bienestar físico y mental, en ausencia de dolencias del TGI que requieran la consulta médica, ausencia de riesgo de enfermedad o enfermedad confirmada*” (Pluske y col., 2018).

Múltiples factores influyen en la diversidad y actividad de la microbiota del TGI, incluyendo la colonización y sucesión asociada de las poblaciones microbianas; la edad del cerdo y el medio ambiente; el hábitat; agentes antimicrobianos; la dieta; los aditivos y el procesamiento del alimento; los métodos de alimentación; la carga de enfermedad; el destete; la estación; el medio ambiente; el estrés y la genética. Además, la microbiota intestinal actúa en la función de barrera, síntesis de nutrientes beneficiosos y proteínas; un mejor aprovechamiento de energía y disminución de los efectos nocivos de la inflamación y patologías subclínicas (y clínicas) (Celi y col., 2017).

Las bacterias del TGI divergen en densidad de población y diversidad en diferentes sectores del TGI y en diferentes etapas de la vida del cerdo. Además, la microbiota está involucrada en el diálogo cruzado entre las bacterias entéricas y el huésped, con la química y distribución de los sitios de unión bacterianos en la superficie de la mucosa intestinal, desempeñando un rol clave en la determinación de la susceptibilidad del huésped y el tejido, al desencadenar respuestas del huésped especialmente en animales jóvenes (Pluske y col., 2018).

Hilman (2001) definió que la “*Microbiota óptima*” del TGI del cerdo “*se produce cuando el comensal y el patógeno coexisten normalmente*”.

El enfoque para la salud intestinal debe estar en ayudar al animal a regular los cambios en la microbiota intestinal, de manera de evitar modificaciones rápidas en la población de la microbiota y mantener el equilibrio.

Según Jayaraman y Nyachoti (2017) en las prácticas de manejo relacionadas con alimentación y nutrición, bienestar animal, bioseguridad y la prevención de enfermedades, son determinantes en la salud intestinal y el desempeño de los lechones.

### **2.1. Rol de la microbiota intestinal en la etapa de posdestete**

La microbiota intestinal de los mamíferos tiene numerosos roles que benefician al huésped, como la digestión y fermentación de carbohidratos, producción de vitaminas, mantenimiento de las funciones normales de las vellosidades intestinales, regulación de las respuestas inmunitarias y protección contra bacterias patógenas (Kamada y col., 2013).

La microbiota intestinal de cerdo es un ecosistema muy complejo que muestra una composición dinámica y la diversidad se desplaza a lo largo del tiempo y por todo el TGI (Isaacson & Kim, 2012); está compuesta por aproximadamente 1.014 microorganismos, la mayoría son bacterias, que coexisten con el cerdo como huésped. Cuando esta coexistencia o simbiosis es equilibrada, el intestino del cerdo será normal y saludable, y funcionará adecuadamente (Liao & Nyachoti, 2017).

La colonización de la microbiota se inicia en el nacimiento, y está determinada por el consumo de leche que proporciona ventajas nutricionales para la población de bacterias lácticas, provocando la construcción de una microbiota orientada al aprovechamiento de la leche (Frese y col., 2015). *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp. crean un ambiente anaeróbico que favorece el establecimiento de otros colonizadores como *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Clostridium* (Petri y col., 2010).

El destete es un evento crítico en el ciclo de vida del cerdo, frecuentemente asociado con infecciones entéricas graves y uso excesivo de antibióticos, que plantea serios problemas ecológicos, económicas y de salud pública. El “*desequilibrio de la microbiota*”, denominado “*disbiosis*”, inducido por cambios abruptos en la dieta y el entorno de lechones, surge como la principal causa de

diarrea posterior al destete (DPD) (Gresse y col., 2017). El destete se practica generalmente entre las 3 y 4 semanas de edad. Es un hecho repentino, breve y complejo que se caracteriza por cambios en la dieta y las condiciones de vida social y ambiental, que afectan profundamente la salud de los lechones y llevan a una disminución del rendimiento y en ocasiones a la mortalidad (Lallès y col., 2007; Campbell y col., 2013).

El cambio de leche líquida, altamente digestible, a un alimento sólido más complejo y menos digerible también tiene consecuencias críticas sobre el comportamiento de los lechones, y al destete, se producen diarreas por cambios fisiológicos en su TGI, todavía inmaduro (Lalles y col., 2007). Por eso, al momento del destete se producen colibacilosis (Schokker y col., 2015). El ayuno de 24 a 48 h produce una reducción de crecimiento transitorio (Campbell y col., 2013); anorexia con inflamación en el intestino delgado del lechón; cambios en la actividad hormonal; reducción de la motilidad gástrica; inducción de la atrofia del intestino delgado y la reducción de la altura de las vellosidades; disminución de la absorción de nutrientes, fluidos y electrolitos; absorción y aumento de la permeabilidad a antígenos; toxinas y microbiota intestinal desequilibrada (Lallès y col., 2007; Bomba y col., 2014). Las tensiones sociales y ambientales son generadas por la separación de la madre, manipulación, transporte, diferentes entornos físicos, y mezcla de camadas producen luchas, ritmos cardíacos elevados y factores ligados al estrés (Campbell y col., 2013; Li y col., 2017).

Entre los factores fisiológicos y del TGI que sufren mayor impacto por la transición del destete, la “*interrupción de la microbiota del intestino*” sea probablemente la que se reconozca como una de las claves que llevan a la DPD. La DPD se caracteriza por reducciones en las bacterias saludables, incluyendo *Lactobacillus sobrius*, *Lactobacillus acidophilus*, y *Lactobacillus reuteri*, y aumentos en la bacteria patógena *E. coli*. Con mayor efecto negativo, la reducción de *Lactobacillus* spp provoca una disminución del ácido láctico y un aumento del pH del intestino del cerdo, perdiendo el efecto bactericida del pH ácido; por lo que aumenta el riesgo a las enfermedades entéricas (Fouhse y col., 2016). En la mayoría de los estudios realizados durante la transición al destete se reportó una disminución en las bacterias del grupo de *Lactobacillus* spp. y una pérdida de diversidad microbiana, mientras que *Clostridium* spp., *Prevotella* spp o anaerobios facultativos tales como Proteobacteriaceae, incluyendo *E. coli*, tuvo un impacto positivo, asociado con la degradación del polisacárido vegetal, que

puede liberar azúcares como fucosa, galactosa o manosa, que pueden promover el crecimiento de patógenos (Bäulmer & Sperandio, 2016; Gresse y col., 2017).

La colonización temprana y posterior desaparición de Enterobacteriaceae, así como la maduración de la microbiota asociada a la dominación de las Enterobacterias, pueden ser regulada por actividades de unión selectiva de la IgA derivada del huésped, que parece ser una de las más importantes (Gresse y col., 2017). Se demostró que la transferencia temprana de la microbiota de la cerda al lechón a través del canal de nacimiento, el calostro y la leche pueden impactar en la posterior diversidad microbiana intestinal y procesos inmunes en lechones (Schokker y col., 2014). La leche proporciona los factores inmunológicos tales como inmunoglobulina A (IgA), leucocitos y péptidos, que suprimen la expresión de citoquinas inflamatorias. Asimismo, la lactosa y los oligosacáridos contenidos en la leche pueden estimular el crecimiento de microorganismos de colonización temprana como las bacterias del ácido láctico (Moeser y col., 2017). Recientemente, Dou y col., (2017) demostraron experimentalmente que lechones sanos que a los 7 días de vida eran menos uniformes, pero tenían abundancia de Prevotellaceae, Lachnospiraceae, Ruminocacaceae y Lactobacillaceae, presentaban mayores niveles de *Lactobacillus* spp. una semana previa al destete, con menos incidencia de diarrea que lechones diarreicos.

En muchos estudios se demostró que el cambio de un nutriente o materia prima en el lechón destetado puede inducir modificaciones de la microbiota. Por ejemplo, dietas enriquecidas con pectina disminuyó la abundancia relativa de *Lactobacillus* y *Prevotella* en el colon (Tian y col., 2017), y una fuente de proteína de pescado provocó una gran expansión del grupo *Escherichia/Shigella* (Cao y col., 2016). Cualquier alteración del ecosistema microbiano puede aumentar dramáticamente el riesgo de enfermedades TGI. En particular, la abrupta disminución de los principales actores en la prevención de enfermedades; los *Lactobacillus* spp., provocaría un alto riesgo de enfermedades (Fouhse y col., 2016).

Se ha informado que la transición al destete en los lechones, se asocia con un estado de interrupción de la microbiota que puede denominarse "disbiosis". En los mamíferos la *disbiosis* se ha definido como un desequilibrio de la microbiota intestinal, identificado por una marcada disminución de las bacterias anaerobias obligatorias, de la clase Clostridia y Bacteroidia, y una

mayor abundancia relativa de bacterias anaerobias facultativas tales como Enterobacteriaceae (Gresse y col., 2017).

Cualquier discusión sobre la salud intestinal en el período posterior al destete debe incluir el impacto potencial de las cepas de *E. coli* enterotoxigénicas (ETEC) (serotipos) asociados con infecciones y enfermedades, es decir, colibacilosis en posdestete o DPD, y los medios para prevenirlo o controlarlo. Entre los factores fisiológicos y del TGI impactados por la transición del destete, la interrupción de la microbiota en el TGI es probablemente una influencia clave, que lleva a la DPD (Pluske y col., 2018).

Una de las posibles causas de la disbiosis podría vincularse a la reducción de glicanos, que forman parte del mucus que recubre el epitelio intestinal. La degradación de polisacáridos produciría azúcares y así, dejaría al TGI más expuesto a la entrada de patógenos. Además, con la disbiosis se observa un aumento de la permeabilidad que podría favorecer el cruce de toxinas y patógenos a través del epitelio. La inflamación del intestino produce óxido nítrico, que rápidamente se transforma en nitrato y brinda el ambiente adecuado para el crecimiento de *E. coli*, que posee genes de nitrato reductasa, ausentes en especies de Clostridia o Bacteroidia (Winter y col., 2013).

## 2.2. Influencia de la microbiota intestinal en la nutrición

Investigaciones recientes sobre la microbiota de cerdo, reportaron que el enriquecimiento de Clostridiales y genes microbianos funcionales, mejoraron positivamente el metabolismo y la eficiencia alimenticia del cerdo, porque participan en la fermentación de polisacáridos y aminoácidos (McCormack y col., 2017; Yang y col., 2017). Todos estos estudios atribuyen los efectos positivos de los Clostridiales a la eficiencia de la alimentación del huésped debido al alto rendimiento energético por la producción de AGCCs como el butirato, que también se ha sugerido en estudios de microbiota intestinal humana (Ley y col., 2016).

En animales, se ha demostrado que la colonización microbiana intestinal promueve el recambio de células epiteliales y regula la transcripción de genes implicados en el metabolismo de nutrientes, inmunidad, y los correspondientes (Ley y col., 2015). Se cree que los lactobacilos mejoran la eficiencia alimenticia de animales. Diversas cepas de *Lactobacillus* spp son ampliamente

utilizados como aditivos en alimentos balanceados, especialmente en la cría de cerdos (Dowarah y col., 2017; Liao SF & Nyachoti, 2017).

Recientemente, se informó que la microbiota intestinal en el ganado porcino muestra una especificidad con el hospedador a lo largo de las generaciones (Camarinha y col., 2017), lo que sugiere que la genética del huésped es correspondiente a la estructura y funciones microbianas (Benson y col., 2010).

Asimismo, se demostró que las prácticas de manejo moderno de la empresa porcina podrían afectar la microbiota. En la microbiota intestinal de verracos predominaban *Lactobacillus* spp. y Enterobacterias. Por el contrario, en jabalíes recientemente domesticados, se encontraron Enterobacteriaceae como un grupo importante (Ushida y col., 2016; Dou y col., 2017).

### 3. ESTRATEGIAS ALIMENTICIAS ALTERNATIVAS A LOS ANTIBIÓTICOS EN LA DIETA DEL CERDO

Los agentes antimicrobianos o antibióticos (ATB), se han utilizado para tratar enfermedades infecciosas de los animales, para promover el crecimiento y mejorar la productividad (Dibner y col., 2005; Dowarah y col., 2016).

El uso excesivo de ATB en todo el mundo, y la difusión de los microorganismos resistentes a los antimicrobianos (RAM) a través del ecosistema global, trae preocupaciones importantes. La microbiota de animales, peces y plantas, que han sido tratados con agentes antimicrobianos, puede servir como reservorio de genes de resistencia (Xiong y col., 2015).

En este contexto, la industria porcina y los investigadores están haciendo grandes esfuerzos para tratar de encontrar estrategias de bioseguridad, manejo, genética y alimentación para ayudar a los lechones a superar los retos del destete. Entre ellos, la *estrategia nutricional* ha recibido una atención creciente en los últimos años, a través de la incorporación de aditivos no antibióticos, que pueden ser incorporados a la dieta del lechón en posdestete para reducir la incidencia de la DPD y mejorar la productividad de la granja (Liu y col., 2017; Sun & Kim, 2017).

En el futuro, se debería dilucidar la estructura y funciones de la "*microbiota óptima*" aplicando el conocimiento para mejorar la nutrición del huésped e inmunología, para maximizar la productividad y la sostenibilidad en la agricultura y la producción animal.

#### 3.1. Aditivos alimenticios alternativos en el posdestete del cerdo

La salud intestinal de los lechones inmediatamente después del destete se asocia estrechamente con su rendimiento de crecimiento y valores económicos. La DPD es una de las principales preocupaciones relacionadas con la salud de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), incluyendo principalmente *E. coli* F4 (K88)<sup>+</sup> y F18<sup>+</sup>. Los principales factores de virulencia de la ETEC son las adhesinas (fimbrias o pili) y enterotoxinas. Los tipos comunes de fimbrias en ETEC de la diarrea posdestete (DPD) en cerdos son F18<sup>+</sup> and F4<sup>+</sup>. La DPD en los cerdos se asocia con infecciones de ETEC tanto F18<sup>+</sup> como F4<sup>+</sup> mientras que la diarrea previa al destete en cerdos se asocia con la infección por ETEC F4<sup>+</sup>. Las enterotoxinas, incluidas las termolábiles y termoestables, y las toxinas peptídicas se asocian con causas de diarrea en los cerdos. Al menos 10<sup>9</sup> a

10<sup>10</sup>ETEC son requeridos para inducir diarrea en cerdos de cría que duran de 1 a 5 días después de la infección por ETEC (Sun & Kim, 2017).

El empleo de ATB solía ser la forma más efectiva de prevenir la DPD, sin embargo, con el aumento de la resistencia bacteriana a ATB, se necesitan urgentemente alternativas al uso de ATB para prevenir la DPD; la inmunoprofilaxis y la intervención nutricional de minerales antimicrobianos (como óxido de zinc y sulfato de cobre), ácidos orgánicos, piensos funcionales (como plasma sanguíneo y anticuerpos de yema de huevo), microbios alimentados directamente (probióticos), fitobióticos (aceites esenciales, extractos vegetales), y el bacteriófago pueden potencialmente prevenir la DPD asociada con ETEC. Algunos otros aditivos para piensos tales como nucleótidos, enzimas de alimentación, oligosacáridos prebióticos y minerales de arcilla pueden mejorar la salud intestinal y por lo tanto indirectamente ayuda a prevenir la DPD. Numerosos trabajos demuestran que la intervención nutricional con aditivos alimentarios seleccionados puede prevenir eficazmente la DPD (Sun Y & Kim, 2017)

### 3.1.1. Zinc y cobre

En los cerdos, la DPD puede controlarse utilizando varios métodos preventivos sin usar antimicrobianos. Alimentar con suplementos tales como *óxido de Zinc (ZnO), CuSO<sub>4</sub>, ácidos orgánicos, pre/probióticos, simbióticos, plasma porcino deshidratado, péptidos antimicrobianos, yema de huevo específica y bacteriófagos* se han utilizado en cerdos destetados para mejorar el crecimiento, eficiencia alimenticia y reducir la DPD (Rhouma y col., 2017).

Se demostró que la adición de 2400–3000 ppm de *Zinc (Zn)* como *ZnO* en la alimentación de cerdos, fue eficaz en la reducción de la DPD, la mortalidad y en la mejora del rendimiento del crecimiento en cerdos destetados (Zhu y col., 2016). Sin embargo, el uso de altos niveles de *Zn* en alimentos para cerdos ha llevado a la contaminación de metales pesados en el suelo, planteando preocupaciones medioambientales. Recientemente, Bouwhuis y col., (2016) informaron que el *Zn orgánico* de la metionina podría utilizarse como sustituto del *Zn inorgánico* en la dieta porcina.

Se ha expuesto que el *cobre (Cu)* actúa como un estimulante del crecimiento y un posible inhibidor de la infección bacteriana en cerdos (Adewole y col., 2016). El contacto directo del cobre con las células bacterianas puede



causar daños a la membrana celular bacteriana y el ácido desoxirribonucleico (ADN) (Mathews y col., 2015). Asimismo, el  $\text{CuSO}_4$  es frecuentemente usado como un aditivo alimenticio promotor del crecimiento por su acción como antimicrobiano. En lechones en maternidad, la suplementación de la dieta con 170 mg/kg  $\text{CuSO}_4$  mostró una disminución significativa de bacterias coliformes, en especial *E. coli* (Hojberg y col., 2005).

### 3.1.2. Acidificantes

Los ácidos orgánicos como el cítrico, fumárico, láctico, propiónico, benzoico y fórmico mostraron efectos beneficiosos en el TGI del cerdo. De hecho, el uso de ácidos orgánicos en lechones destetados se asoció con una reducción del pH del estómago (Hansen y col., 2007). Con este efecto, los ácidos orgánicos generan un ambiente gástrico hostil para la supervivencia bacteriana. Además, los ácidos orgánicos promueven la conversión de pepsinógeno en pepsina en el estómago de los cerdos, y promueven la actividad de esta enzima (Suiryanrayna y col., 2015); mejoran la inmunidad local en el epitelio del yeyuno (Hansen y col., 2017); reducen la diarrea en cerdos y mejoran el rendimiento. El ácido clorhídrico secretado desde el estómago puede actuar como un producto químico antibacteriano y posteriormente contribuye a la barrera de integridad del intestino frente a patógenos. Sin embargo, al destete, la ingesta de la alimentación sólida aumenta el pH del TGI. Así, la suplementación dietética con ácidos orgánicos podría ser una forma efectiva de controlar el pH del tracto gastrointestinal y el crecimiento de bacterias en el estómago e intestino (Sun & Kim, 2015).

### 3.1.3. Plasma

El plasma seco por pulverización es un producto rico en proteínas obtenido del fraccionamiento industrial de la sangre de animales sanos. Se demostró que la adición de plasma a la alimentación mejoró el rendimiento de crecimiento, y protegió a los cerdos contra la infección por ETEC: F4 mediante la reducción de la expresión de citoquinas inflamatorias del intestino, manteniendo la integridad de la mucosa, y potenciando la defensa de anticuerpos específicos (Adewole y col., 2016)

### 3.1.4. Péptidos antimicrobianos

Los *péptidos antimicrobianos (AMP)* son moléculas pequeñas que constituyen una parte importante del sistema inmunitario innato. Ejemplos de AMP tales como lactoferrina, cecropina, defensina, plectasina y bacteriocinas, mostraron efectos beneficiosos sobre el crecimiento, rendimiento, digestibilidad de nutrientes, morfología del intestino delgado y microbiota intestinal en cerdos. Los AMP de lactoferrina son uno de los más utilizados en la alimentación porcina. También se demostró la eficacia de la *bacteriocina colicina*.

El uso de *AMP* en granjas porcinas requiere cuidado y control. La implementación para limitar el posible desarrollo de resistencia y los cócteles de *AMP* podrían ser útiles para mitigar la selección de resistencia (Allen y col., 2014).

### 3.1.5. Yema de huevo

Otro aditivo útil para el control de diarreas son los *anticuerpos específicos de la yema de huevo* de gallina es una fuente de grandes cantidades de Ig y relativamente baratos anticuerpos. Aunque varios estudios informaron que anticuerpos específicos de pollo proporcionan protección contra diarreas infecciosas en cerdos, los trabajos son anteriores a los últimos 5 años (Kiarie y col., 2009)

### 3.1.6. Bacteriófagos

Los *bacteriófagos* son virus altamente específicos de la especie que pueden infectar y matar bacterias. Recientemente, se informó que un cóctel de bacteriófagos utilizado en el alimento para cerdos destetados, mejoró el rendimiento del crecimiento y la salud intestinal de los cerdos, aunque la combinación de fagos con probióticos no mostró ningún efecto adicional (Kim y col., 2017).

### 3.1.7. Enzimas exógenas, productos lácteos, minerales de arcilla

Varios estudios han documentado una significativa mejora del aumento de peso, conversión alimenticia y la reducción de la incidencia, severidad y duración de diarrea en cerdos destetados, alimentados con dietas suplementadas con sustancias como: *enzimas exógenas* (Tactacan y col., 2016), productos derivados de la leche (De Greeff y col., 2016), *minerales de arcilla*

(Subramaniam y col., 2015) y *plantas medicinales* (Ayrle y col., 2016).

### 3.1.8. Nucleótidos

Los *nucleótidos* actúan como moléculas bioactivas que desempeñan un papel en funciones metabólicas, estructurales y reguladoras, así como, el mantenimiento del sistema inmunológico y el equilibrio redox (Sauer y col., 2012). Li y col., (2015) demostraron que la suplementación de *nucleótidos* a la dieta de cerdos en destete afectados con ETEC F4, mejoró el rendimiento del crecimiento, digestibilidad de nutrientes, estado inmune, equilibrio microbiano y reducción de la diarrea.

### 3.1.9. Prebióticos

Los *prebióticos* son componentes del alimento fermentados selectivamente, indigestibles por el animal huésped, que modulan la microbiota intestinal para beneficiar la salud del huésped. Los efectos resultantes incluyen la estimulación de los AGCCs; la producción y proliferación de bifidobacterias y bacterias del ácido láctico como *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp. (Allen y col., 2013). Los *prebióticos* comunes incluyen *inulina* y *oligosacáridos* como galacto oligosacáridos y fructo oligosacáridos (Slavin y col., 2013).

### 3.1.10. Probióticos

Los *probióticos* tales como bacterias del ácido láctico, *Bacillus* y las levaduras son suplementos microbianos vivos (Allen y col., 2013).

También se ha demostrado que las bacterias producen moléculas antimicrobianas, tales como *bacteriocinas*, que inhiben la producción de toxinas bacterianas o la adhesión de patógenos en la mucosa intestinal (Callaway y col., 2013). Varios estudios demostraron que el tratamiento previo con ciertos *probióticos*, como *L. rhamnosus*, fue eficaz para reducir la diarrea producida por ETEC experimentalmente, en cerdos en posdestete, posiblemente a través de la modulación de la microbiota intestinal, potenciación de defensa de anticuerpos intestinales, y regulación de la producción de citoquina inflamatoria sistémica (Zhang y col., 2010). Recientemente, Lan y col., (2016), informaron que la suplementación con *L. acidophilus* (0.2%) en la dieta de cerdos destetados, resultó en mayores recuentos de *Lactobacillus* y recuentos más bajos de *E. coli*,

así como un aumento de la ganancia diaria de peso (GDP) y el consumo diario promedio (CDP) de alimento en cerdos suplementados. Una mezcla de esporas de *Bacillus licheniformis* y *B. subtilis* fue eficaz para prevenir la pérdida de integridad de la barrera epitelial del intestino después de la presencia de ETEC:

Además, se mostró que la alimentación de cerdos con levaduras vivas de *Saccharomyces cerevisiae* mejoraron su crecimiento y redujeron la duración y la gravedad de la DPD causada por la ETEC (Trckova y col., 2014),

Se ha demostrado que la administración de una mezcla de dos probióticos, *Pediococcus acidilactici* y *S.cerevisiae boulardii*, en la alimentación de cerdos destetados reducen la unión de ETEC en la mucosa del íleon en comparación con el grupo tratado con antibióticos.

### 3.1.11. Simbióticos

Los *simbióticos* se refieren a una combinación de *probióticos* y *prebióticos*; es posible que el prebiótico que confiera beneficios para la salud gastrointestinal selectivamente, aumente la población y/o actividad de los probióticos en el intestino (Vondruskova y col., 2010).

Los *simbióticos* pueden ser *complementarios* o *sinérgicos*. Los *simbióticos complementarios* consisten en un probiótico y un prebiótico seleccionado independientemente para conferir beneficios al huésped. Por otro lado, los *simbióticos sinérgicos* se componen de un prebiótico elegido específicamente para el probiótico seleccionado para potenciar su efecto en el intestino (Krumbeck y col., 2015).

Se demostró que la combinación de almidón de papa y un probiótico tuvo efecto beneficioso sobre cerdos destetados afectados de ETEC, en el rendimiento, la disminución de la diarrea y el aumento de la diversidad microbiana (Krause y col., 2010). Además, Guerra Ordaz y col., (2014) demostró que la administración del prebiótico oligosacárido lactulosa, mejoró a cerdos con *E. coli* patógena, siendo así un ejemplo de un simbiótico complementario (Guerra-Ordaz y col., 2014).

### 3.1.12. Fitobióticos (extractos vegetales y aceites esenciales)

Los extractos de plantas son metabolitos secundarios de las plantas que son responsables del olor y color de las plantas. Están compuestos por más de 100 componentes individuales de dos formas: aceite líquido o polvo sólido y son

potencialmente interesantes por sus funciones biológicas como antivirales, antimicrobianos, antioxidantes y su efecto antiinflamatorio.

La actividad antimicrobiana de varias plantas exhibe la acción bactericida/bacteriostática sobre un amplio espectro de bacterias gram negativas y gram positivas, incluyendo *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, and *Mycobacterium* (Liu y col., 2018).

## 4. PROBIÓTICOS

### 4.1. El rol de los probióticos en la dieta porcina

Numerosos estudios basales y longitudinales han logrado determinar la composición microbiana del TGI de cerdos normales y enfermos (Vondruskova y col. 2010; Pajarillo y col. 2014; Chae y col., 2016). De todos los estudios realizados sobre la microbiota del TGI del cerdo, el grupo de *Lactobacillus* spp. (LAB) pertenecen a la microbiota "núcleo" o "verdadera", y la cadena trófica relacionada con el ácido láctico se considera que es una de las principales vías metabólicas del ecosistema intestinal en mamíferos (Valeriano y col., 2017).

Los "probióticos se definen como "microorganismos vivos que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del huésped" (FAO/OMS, 2001). Cuando son empleados en la industria se denominan como "microbianos de alimentación directa" o "alimentos fermentados" y cuando se denomina "probiótico" se refiere al hombre y los animales.

Los *probióticos* se clasifican en 3 grupos: *Bacillus* spp., bacterias productoras de ácido láctico y levaduras (Liu y col., 2018).

Los *probióticos a base de Bacillus* son microorganismos gram positivos formadores de esporas, termoestables, capaces de sobrevivir en pH bajo. Identificados como potentes productores de enzimas degradantes de la fibra extracelular, que pueden ayudar a la digestión y utilización de nutrientes. Las bacterias del género *Bacillus* están presentes en el suelo, agua, aire y en el TGI, debido a la ingestión involuntaria de alimentos contaminados. Aunque algunas de las especies de *Bacillus* se utilizan como probióticos, no se conoce con certeza si son capaces de producir toxinas (Gaggia y col., 2010).

Las *bacterias productoras de ácido láctico o lactobacilos* son gram positivos, no móviles, no forman esporas, tolerante a los ácidos, con forma de bastón (bacilo), o bacterias esféricas (cocos) que producen ácido láctico como metabolismo principal del producto final de la fermentación de carbohidratos (Cho y col., 2009). La supervivencia durante el procesamiento del alimento es insegura porque no forman esporas (de Lange y col., 2010).

El *Lactobacillus* es el agente probiótico más utilizado para mejorar el rendimiento del crecimiento; la eficiencia de la conversión alimenticia, utilización

de nutrientes; la salud intestinal y la regulación del sistema inmunológico de los cerdos (Dowarah y col., 2017; Valeriano y col., 2017).

Los lactobacilos dominan el tracto gastrointestinal del cerdo lactante, lo que ayuda a reducir el pH en el intestino produciendo ácido láctico a través de la fermentación de carbohidratos, inhibiendo patógenos entéricos, y mejorando la inmunidad del huésped. En animales de granja, confieren buena salud intestinal estimulando el crecimiento de una microbiota saludable (Barba-Vidal y col., 2018; Pluske y col., 2018); previniendo la colonización intestinal de patógenos entéricos (Lee y col., 2012; Gresse y col., 2017); reducen la emisión de gases fecales nocivos, la producción de sustancias antimicrobianas y mejoran la resistencia a antibióticos. Asimismo, mejoran la capacidad digestiva y la mediación de anticuerpos, la respuesta inmune y garantizan seguridad alimentaria (Hou y col., 2015; Dowarah y col., 2017; Wang y col., 2018). Sin embargo, después del destete de los cerdos, la concentración de ácido láctico producido por las bacterias disminuye; por lo tanto, la suplementación de probióticos a las dietas porcinas puede mejorar la salud intestinal modificando la microflora, que puede ayudar a controlar patógenos; mejorar la respuesta y regulación inmune, mejorando así la eficiencia nutricional, la salud y el rendimiento (Cromwell, 2013; Zeng y col., 2017).

Otros probióticos del grupo de las bacterias lácticas usados son los géneros *Bifidobacterium* spp. y *Enterococcus* spp. *E. faecalis* es el más frecuente en el TGI del cerdo, es gram positivo, formador de esporas, frecuente en el ambiente (agua, suelo, aire). El género *Enterococcus* pertenece al grupo de bacterias del ácido láctico (LAB) y se encuentran naturalmente en productos alimenticios, siendo comensales normales de humanos y animales. *Enterococcus faecium* es el más común en el TGI animal, mientras que en el hombre son prevalentes *E. faecium* y *E. faecalis* (Fisher y Phillip, 2009). Estas tres especies de enterococos son de uso común. En tanto, el género *Bifidobacterium* se observa como habitante normal del TGI de animales y humanos, lo que ayuda a mantener el equilibrio microbiano en el TGI asociados a un buen estado de salud del huésped, mediante la reducción de los microbios patógenos dañinos (Gresse y col., 2017).

Las levaduras se pueden suplementar en las dietas porcinas de varias formas: células vivas enteras, tratadas térmicamente, molidas, purificadas, y extractos de levadura. La suplementación con levaduras puede aumentar el

rendimiento del crecimiento del cerdo, la inmunidad de la mucosa, promover el desarrollo intestinal, adsorber las micotoxinas, reducir la diarrea posterior al destete y modular la microbiota intestinal (Jiang y col., 2015). Se estima que los efectos beneficiosos de las levaduras se deben a los azúcares que forman parte de la pared de las células de levaduras, con predominancia de  $\beta$ -D-glucanos y  $\alpha$ -D-mananos. Existen evidencias que esos azúcares estimulan el sistema inmunológico del cerdo al mejorar la función de los macrófagos y neutrófilos que se unen a sus receptores, causando cascadas de citoquinas y aumentando la producción de anticuerpos (Kim y col., 2017).

Cerdos que fueron alimentados con dietas suplementadas con levaduras vivas y expuestos a *E. coli* enterotoxigénica tuvieron una reducción de diarrea. Se cree que los D-mananos se unen a los receptores específicos de manosa que están presentes en *E. coli* y evita la adherencia del patógeno a las glucoproteínas ricas en manosa que recubren la luz intestinal del cerdo, evitando así las diarreas (Trckova y col., 2014). Las levaduras también están comprendidas como un sistema microbiano residual del microbioma intestinal donde *S. cerevisiae* es ampliamente presente en la naturaleza y utilizado en la industria de alimentos y bebidas para su fermentación.

Los probióticos son generalmente microorganismos específicos del huésped. Sin embargo, la selección del microorganismo probiótico es uno de los criterios más importantes para obtener una respuesta positiva en el huésped.

Los criterios a considerar para la selección del probiótico se basa en los siguientes parámetros: 1) Resistencia a condiciones *in vitro/in vivo*: deben ser resistentes a pH ácido y sales biliares e inmune a los mecanismos de defensa del huésped; 2) Origen de la cepa: los probióticos generalmente son específicos de la especie hospedadora y deben ser aislados e identificados antes de su uso; 3) Bioseguridad: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus* son los microorganismos que entran en la categoría reconocidos como “seguros” y por ello son usados como probióticos; 4) Viabilidad/supervivencia y resistencia durante el procesamiento (por ejemplo, tolerancia al calor o almacenamiento): Otros criterios podrían ser: 5) Las bacterias mono o multi cepas como probióticos o interacción de probióticos simbióticos o estimulación de la microbiota sana y supresión de bacterias nocivas (Dowarah y col., 2017).

#### 4.2. Modo de acción de los probióticos



Los *probióticos* que se agregan a la dieta deben sobrevivir tecnologías de procesamiento como la extrusión y la granulación. Una vez consumido por el cerdo, el probiótico ingresa al estómago donde se somete a un pH bajo y a la pepsina. Los *probióticos* a base de *Bacillus* con esporas metabólicamente inactivas, son termoestables y subsisten a pH bajo y, por lo tanto, se cree que sobreviven al procesamiento de alimentos y la digestión en el estómago. El pH en el intestino delgado es de 6 a 7, que es óptimo para que las esporas germinen, crezcan y produzcan enzimas (Merchant y col., 2011). El *probiótico* sigue sobreviviendo debido a su capacidad para producir enzimas que degradan el alimento y producen AGCCs como un subproducto de la fermentación. Los AGCCs producidos son utilizados por el cerdo como fuente de energía, y el aumento de la concentración de AGCCs reduce el pH en el tracto gastrointestinal, que puede inhibir el crecimiento de bacterias patógenas. El *probiótico* también puede degradar los polisacáridos sin almidón a azúcares reductores que pueden servir como fuente de energía para el cerdo (Jaworski y col., 2017). Los probióticos también pueden mejorar la salud gastrointestinal mediante la promoción del crecimiento de bacterias benéficas como los *Lactobacillus* spp y *Bifidobacterium* spp disminuyendo así el crecimiento de bacterias nocivas de la familia de las enterobacterias gram negativas. La disminución de las enfermedades intestinales producidas por bacterias patógenas y el aumento de la salud, puede corresponder a un aumento en la capacidad del cerdo para digerir y fermentar los nutrientes, mejorar su utilización de los piensos y energía, disminuir la necesidad de mantenimiento de energía asociada con la estimulación del sistema inmune, y por lo tanto aumentar el crecimiento y rendimiento (Kenny y col., 2011).

#### 4.3. Microorganismos comúnmente utilizados como probióticos

Estudios recientes moleculares con la amplificación, clonación y secuenciación del gen rRNA 16S, permitieron caracterizar al *Lactobacillus* como uno de los géneros centrales que afectan el intestino del cerdo (Shade y Handelsman 2012).

Se han realizado numerosos estudios para identificar la microbiota del TGI de cerdos sanos según la edad, dieta, estado de salud, ambiente, etc., con el propósito de emplear esas especies de bacterias, o cepas puedan ser utilizadas como marcadores para desarrollar aditivos para piensos para

intervenciones específicas, mejorando la productividad porcina (Kim y col., 2011; Pajarillo y col., 2015).

Los microorganismos del grupo de las bacterias lácticas comúnmente usados como probióticos se detallan en la **Tabla 1**.

**Tabla 1. Microorganismos empleados como probióticos en el ganado porcino**

Género	Especie
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L. delbrueckii</i> sub sp. <i>bulgaricus</i>
	<i>L. brevis</i>
	<i>L. cellobiosus</i>
	<i>L. curvatus</i>
	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. plantarum</i>
	<i>L. reuteri</i>
	<i>L. salivarius</i> sub sp. <i>thermophilus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. cremoris</i>
	<i>L. lactis</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
	<i>P. pentosaceus</i> sub sp. <i>pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum</i>
	<i>B. adolescentes</i>
	<i>B. animalis</i>
	<i>B. infantis</i>
	<i>B. longum</i>
	<i>B. pseudolongum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
	<i>E. faecalis</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i>
	<i>B. coagulans</i>
	<i>B. cereus</i>
	<i>B. licheniformis</i>
Levadura	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Aspergillus oryzae</i>

Fuente: Dowarah y col., 2017

#### 4.4. El empleo de *Lactobacillus* spp durante el posdetete de lechones

##### 4.4.1. Modo de acción

Los *Lactobacillus* estimulan el rápido crecimiento de la microbiota beneficiosa en el TGI, que se hace abundante e induce la exclusión competitiva de las bacterias patógenas, ya sea ocupando los sitios de unión en la mucosa

intestinal o compitiendo por los nutrientes y sitios de absorción con las bacterias patógenas (Zhao y Kim, 2015); por la rápida utilización de la fuente de energía que puede reducir la fase logarítmica del crecimiento bacteriano. La mayoría de los patógenos entéricos, se adhieren al epitelio intestinal a través de la colonización para desarrollar enfermedades. Por ejemplo, los *Lactobacillus* se adhieren al epitelio intestinal; por lo tanto, compiten con los patógenos por los receptores de adhesión, es decir, los conjugados con glicol. Las bacterias probióticas producen ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, lactoferrina y bacteriocina que pueden exhibir propiedades bactericidas o bacteriostáticas (Pringsulaka y col., 2015). *Lactobacillus* ha demostrado ser capaz de actuar como inmunomodulador al mejorar los macrófagos, aumentando los niveles del anticuerpo local, induciendo la producción de interferón y la activación de células patógenas. Previenen la proliferación de bacterias coliformes, por lo tanto, disminuye la producción de aminas que produce debido a la descarboxilación de los AA por las bacterias coliformes (Dowarah y col., 2017).

#### 4.5. Microbiota en alimentos fermentados y el TGI del cerdo

Los alimentos fermentados (AF) se utilizan para reducir el uso de ATB como promotores de crecimiento y disminuir el precio de los piensos al utilizar subproductos en la producción porcina moderna. La suplementación con un AF como nuevo alimento dietético, podría potencialmente alterar la composición de la microbiota intestinal proporcionando energía y nutrientes para especies en la comunidad microbiana relacionadas con la salud, así como abastecer de abundantes probióticos y sus metabolitos (Wang y col., 2017).

El uso de alimentos asociados a microorganismos mejora la función gastrointestinal; la biodisponibilidad de nutrientes; el rendimiento y la salud del cerdo. El papel de la microbiota del TGI porcino es crítico en la absorción de nutrientes, metabolismo y funciones inmunes del huésped y en el mantenimiento de la homeostásis microbiana. Por ello, cualquier modificación en el alimento con microorganismos, puede producir cambios que deben ser estudiados (Valeriano y col., 2017).

La microbiota de alimentos fermentados se fundamenta en probióticos inoculados. Se emplean bacterias u hongos. En la fermentación con bacterias se han usado *Lactobacillus* spp. en la fermentación de alimentos líquidos y sólidos (Missotten y col., 2015). En la fermentación con hongos se emplearon dietas

con: levaduras, fragmentos de la pared celular y metabolitos (Song y col., 2017); *Aspergillus oryzae* y *A. niger* (Mukherjee y col., 2016), que son capaces de hidrolizar proteínas en péptidos pequeños y reducir los factores antinutricionales en el alimento (Shi y col., 2016). Otra forma de inhibir patógenos, es producir componentes antimicrobianos como las bacteriocinas (Sánchez y col., 2017).

La suplementación con alimentos fermentados aumenta los ácidos orgánicos para disminuir el pH del TGI en condiciones anaeróbicas, y la concentración de AGCCs en el intestino posterior produciendo efectos benéficos. La calidad de los alimentos fermentados varía mucho, dependiendo de los microorganismos utilizados, factores ambientales, y la técnica de fabricación. Por lo tanto, es importante evaluar la calidad del alimento fermentado. Se pueden tener en cuenta dos aspectos: evaluar el *valor nutricional* y el *valor de bioseguridad*.

El *valor nutricional* de un alimento fermentado se puede evaluar por: 1.- Por el número de microorganismos, a mayor número de probióticos, mayor es el valor nutricional de la dieta; 2.- Detectar el número de enterobacterias y hongos; 3.- Medir el nivel de ácido láctico, que debe ser mayor a 150 mmol/l para inhibir el patógeno en el alimento; 4.-El nivel de ácido láctico, ácido acético y etanol debe ser de acidez conjunta, para evitar afectar negativamente la palatabilidad y causar acidosis; 5.-El pH entre 4.0 y 5.0 indica gran cantidad de ácidos orgánicos y baja presencia de patógenos; 6.- Presencia de microorganismos, enzimas y componentes antimicrobianos (Dowarah y col., 2017).

Por ello, un “*Alimento Fermentable deseable*” contiene: probióticos preferiblemente vivos, metabolitos microbianos abundantes y prebióticos, números muy bajos de patógenos endógenos y buenas características sensoriales.

#### **4.5.1. Avances en el empleo de alimentos fermentados en dietas de cerdos en posdestete**

La dieta produce cambios significativos en la taxonomía de la microbiota del TGI del cerdo. Se mencionan algunos ejemplos de probióticos o alimentos fermentados empleados experimentalmente en la lactancia y el posdestete del cerdo y el efecto producido.

En cerdos en lactancia se empleó AF con *B. subtilis*, que produjo una disminución de la diversidad bacteriana y un aumento de la diversidad fúngica

sobre la microbiota intestinal, y en el huésped, una desregulación de la producción de los ácidos láctico, orico y bilares no conjugados (He y col., 2017).

En cerdos en posdestete se emplearon varias alternativas: 1.- AF con *S. cerevisiae* redujo el número de *E. coli* K88+ y la prevalencia de Enterobactereaceae y aumentó la riqueza y diversidad de microbiota benéfica (Kiarie y col., 2011); 2.- *Lactobacillus* spp. en una dieta maíz – soja, redujo el conteo de *Salmonella*, al reducir la expresión de citoquina pro-inflamatoria y aliviar la afección del patógeno (Ying y col., 2014); 3.- *L. plantarum* en AF líquido, garantizó una mayoría de *Lactobacilli* en el ileon y un aumento de la diversidad de los géneros de Firmicutes (*Dorea*; *Ciprococcus*; *Faecalibacterium*) en el intestino ciego, beneficiando la salud animal (Tajima y col., 2010).

Estudios más recientes que utilizan probióticos productores de ácido láctico (*Bifidobacterium lactis* NCC2818) complementado a una dieta de cerdos destetados produjo un aumento en la regulación de proteínas asociadas con uniones de células epiteliales y una reducción de IgA en los tejidos de la mucosa intestinal, lo que indica un aumento de la función de barrera intestinal (Lewis y col., 2013). Lee y col., (2014) hicieron crecer el probiótico *B. subtilis* en desechos de jugo de cítricos e incluyeron el probiótico a 0, 1.5, 3.0 y 4.5 g/kg en la dieta de cerdos a base de maíz-soja, en las Fases 1 y 2 del posdestete. Se observaron mejoras lineales en el crecimiento, digestibilidad de nutrientes y energía, inmunoglobulinas séricas, y morfología del intestino delgado.

Otro estudio demostró que cerdos destetados a 28 días alimentados con un probiótico a base de *Lactobacillus reuteri* y *L. plantarum*, mejoraron la ganancia diaria de peso general y la digestibilidad de la proteína y energía bruta, en comparación con cerdos alimentados sin el probiótico. Los resultados obtenidos con el probiótico fueron similares a los logrados con una dieta con 0,01% de apramicina, lo que indica que el *L. reuteri* y *L. plantarum* pueden minimizar el uso de antibióticos en dietas de destetados (Zhao y Kim, 2015).

Una dieta conteniendo un alimento a base de maíz-soja y granos destilados secos suplementados con 500 g/Tn del probiótico *Bacillus* spp. y suministrados a lechones en la maternidad, ocasionó un incremento de 100 kcal/kg en la digestibilidad de la energía, debido al aumento de 9,2 % en la digestibilidad de la fibra (Owusu-Asiedu y col., 2014). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la suplementación en la dieta del cerdo con el probiótico *Bacillus* spp puede resultar en una mayor degradación de la fibra en el tracto

intestinal del cerdo dando lugar a mayores concentraciones de microorganismo intestinales que expresan enzimas que ayudan en la fermentación de la fibra (Liu y col., 2018).

La producción de la reuteriicina antimicrobiana por *L. reuteri*. Inhibe las cepas Enterobacteriaceae y aumenta la abundancia de Firmicutes, como *Dialister* y *Mitsuokella* (Yang y col., 2015). Otro ejemplo involucra la suplementación con *L. amylovorus*, donde los niveles de ETEC se redujeron en el intestino, pero no se observaron cambios en el microbioma colónico (Su y col., 2008).

Se ha documentado ampliamente que los probióticos pueden reducir trastornos digestivos y mejora de los parámetros productivos. Aun así, la investigación en probióticos hasta el momento también se ha caracterizado por ser inconsistente y con baja reproducibilidad de granja a granja (Barba-Vidal y col., 2018).

Se realizaron numerosos trabajos científicos en el control de diarreas en posdestete producidas por *E. coli* y *Salmonella* sp. con el empleo de distintos probióticos. En el 80 % de los estudios se destaca el efecto benéfico sobre el animal, pero los resultados dispares permiten hipotetizar que los probióticos no serían una estrategia eficaz en presencia de enfermedad (Barba-Vidal y col., 2018). Se obtuvieron efectos benéficos sobre ETEC K88 ( $1.2 \times 10^{10}$  ufc) con *Lactobacillus plantarum* JC1 B2028 ( $2 \times 10^{10}$  ufc) (Guerra-Ordaz y col., 2014); ETEC F4 K88 ( $10^{10}$  ufc) con *L. rhamnosus* ACTT 7469 – alta ( $10^{10}$  ufc) y baja dosis ( $10^{12}$  ufc) en administración oral (Li y col., 2012); ETEC 0149 F4 K88 con *Bacillus licheniformis* DSM 5749+B. *subtilis* DSM 5750 – alta ( $8 \times 10^8$  ufc) y baja dosis ( $4 \times 10^8$  ufc) y administración oral (Zhou y col., 2015); *E. coli* 0149 F4ac ( $10^8$  cfu) con *S. cerevisiae* CNCM I-4407 ( $5 \times 10^8$  ufc/kg) incluida en el alimento con administración oral ( $2 \times 10^{11}$  ufc/kg) (Trevisi y col., 2015); ETEC/VTEC/EPEC F4+ ( $10^{10}$  ufc) con *B. licheniformis* DSM 5749+B. *subtilis* DSM 5750 – alta ( $8 \times 10^8$  ufc) y baja dosis ( $4 \times 10^8$  ufc), Oral (Yang y col., 2016); ETEC 0149 F4 K88 ( $10^{10}$  ufc) con *B. licheniformis* DSM 5749+B. *subtilis* DSM 5750 – alta ( $4 \times 10^9$  ufc), moderada ( $8 \times 10^8$  ufc) y baja ( $4 \times 10^8$  ufc) dosis. Administración oral (Zhang y col., 2017); ETEC K88 ( $5 \times 10^9$  ufc y  $5 \times 10^{10}$  ufc) con *B. longum* subsp. *Infantis* CECT 7210 ( $10^9$  ufc). Oral (Barba-Vidal

Se comprobó que la adición de 15 mL/kg P/V a un concentrado de la dieta de cerdos en posdestete logró mejorar las conversiones de materia seca,

proteína bruta y energía metabolizable, 1,54 kg /kg PV y aumento de peso vivo de 383,92 g/kg PV y 23,16 MJ/kg PV, respectivamente. También en este grupo se registró la menor presencia de animales con diarrea ( $P < 0,0001$ ) 6,85%. El probiótico resultó en una mezcla de cepas de *Lactobacillus* (Flores-Mancheno y col., 2015).

## 5. ADITIVOS ALIMENTICIOS FITOGENICOS

### 5.1. Efectos de los aditivos alimenticios fitogénicos (extractos vegetales y aceites esenciales) en la producción de cerdos

Los *aditivos alimenticios fitogénicos (AAF)*, también conocidos como *fitobióticos o productos botánicos*, se definen comúnmente como diversos compuestos secundarios de plantas y metabolitos con efectos beneficiosos en la salud y la producción de los animales, incluidos en los piensos y productos de origen animal (Sharifi-Rad y col., 2017). Los fitobióticos, tienen diferentes aplicaciones en la producción animal, incluyendo aditivos fitogénicos sensoriales, aditivos tecnológicos para mejora de la calidad y seguridad de los piensos, así como aditivos que promueven la salud y el bienestar de los animales, actuando como inmunomoduladores, antioxidantes, estimulantes digestivos y sustancias que pueden aumentar el rendimiento y calidad de los productos animales (Karásková y col., 2015). Los *AAF* y dentro de ellos, los "*Aceites esenciales*" (*AE*), afectan la salud y producción del cerdo (Zhai y col., 2018). Como cualquier otro compuesto bioactivo, pueden causar efectos en animales agudos o crónicos, reversibles o irreversibles, tóxicos, homeostáticos, preventivos o curativos.

Durmic y Blanche (2012) revisaron los diferentes efectos de los compuestos de las plantas bioactivas sobre los órganos y funciones digestivas (consumo de alimento, estómago, intestino, hígado), sistema cardiovascular (corazón), tracto urinario (vejiga, riñón), piel, parámetros de la sangre, funciones inmunes, reproducción (hormonas, comportamiento reproductivo, fertilidad, parto), y el sistema nervioso (estrés, emociones), que tienen consecuencias para la salud y el bienestar de los animales.

Se está aplicando una fuerte presión de mercado para alinear la producción animal con el concepto de limpio, ecológico y ético, denominado en inglés con el término CGE. En el concepto CGE, "limpio" significa un uso reducido de sustancias químicas sintéticas (antibióticos, hormonas, medicamentos), y en particular apoya la idea de reducir el riesgo de resistencia a los antibióticos, mientras que "verde" se centra en reducir el impacto en el medio ambiente, y el "ético" se refiere a mejoras en el bienestar animal (Martin y col., 2016). Los *AAF* son generalmente reconocidos como seguros (Burdock & Carabin, 2004).



La mayoría de los estudios se centraron en las características de promoción de crecimiento de los *AAF*, midiendo los parámetros de producción (ingesta de alimento, aumento de peso e índice de conversión de alimento) (Franz y col., 2010). En los artículos de revisión exhaustiva algunos autores observaron efectos positivos y otros efectos deletéreos de los *AAF* y los *AE* (Windisch y col., 2008; Franz y col., 2010; Zeng y col., 2015). La variabilidad en los efectos se explicaría por la complejidad de los *AE* y *AAF* y, las diferencias en la anatomía y función del tracto gastrointestinal de los animales (Zeng y col., 2015).

El interés por el uso de *AAF* y *AE* se asocia principalmente con efectos sobre el tracto gastrointestinal para: aumentar la palatabilidad de los alimentos, estimular la secreción de fluidos digestivos, estabilizar el microbioma intestinal y reducir la inflamación (Steiner y col., 2015). Con respecto a la palatabilidad del alimento con *AAF* o *AE*, los resultados obtenidos son inconsistentes (Zhen y col., 2015). Por ejemplo, los cerdos prefieren el ajo y el romero en la alimentación en lugar de jengibre o orégano, que es apetecido por las aves (Janz y col., 2007). Asimismo, fue documentada la falta de preferencia por la alimentación complementada con tomillo y orégano por lechones destetados (Jugl-Chizzola y col., 2006). Algunos estudios realizados con *AAF* y *AE* se exponen en la **Table 2 (1° y 2° parte)**

## 5.2. Aceites esenciales

Los *AE* están constituidos por una mezcla compleja de diferentes compuestos volátiles y no volátiles, derivados del metabolismo secundario de las plantas. Contienen diversos compuestos, incluidos terpenos, terpenoides, fenilpropanos y derivados fenólicos, que contribuyen a las propiedades aromáticas y bioactivas específicas, y a menudo únicas de una variedad de hierbas y especias. Los terpenoides forman la familia más abundante. Los compuestos principales de los *AE* se forman mediante la combinación de unidades de isopreno ( $C_5H_8$ ), que construyen además monoterpenos ( $C_{10}$ ), sesquiterpenos ( $C_{15}$ ) y diterpenos ( $C_{20}$ ) de dos, tres o cuatro unidades de isopreno, respectivamente (Stevanović y col., 2018). En su composición contienen predominantemente monoterpenoides ( $C_{10}$ ) y sesquiterpenoides ( $C_{15}$ ); los últimos son altamente relevantes farmacéuticamente. Además de los compuestos de terpeno (mono, sesqui- y diterpenos), los *AE* contienen

alcoholes, ésteres, aldehídos, ácidos, cetonas, epóxidos, aminas y sulfuros.

Tabla 2. Efecto de los aceites esenciales sobre la performance de Cerdos destetados (1° parte)

Aditivo alimenticio	Dosis (mg/kg)	Componentes mayoritarios(%)	Efecto del tratamiento (% Diferencias c/control)			Referencias	
			Especie y categoría	GDP	CADP		CA
Extracto de plantas	150-300	5% Carvacrol ( <i>Origanum</i> spp.), 3% cinnamaldehído y 2% oleorresina de pimiento	Cerdos destetados	-5 -2	-6 0	1 -2	Manzanilla y col., 2004
Extracto de hierbas	7,500		Cerdos destetados	-10	-17	8	Namkung y col., 2004
Mezcla de AE	300	Fenogreco (40%), clavo de olor (12.5%), canela (7.5%) y vehículo (40%)	Cerdos destetados	7	5	-2	Cho, y col., 2004
Fitobióticos	1.000	Aceites de: anís, citrus, orégano y perfumes naturales	Lechones en maternidad	4	1	-2	Kommerer y col., 2006
Extracto de plantas	300	% (p/p) Carvacrol, 3% cinnamaldehyde, y 2% oleorresina de pimiento	Cerdos destetados	33	26	-4	Manzanilla y col., 2006
Extracto de plantas	300	5% (p/p) Carvacrol ( <i>Origanum</i> spp.), 3% cinnamaldehyde ( <i>Cinnamomum</i> spp.), y 2% oleorresina de pimiento ( <i>Capsicum annum</i> )	Cerdos destetados	33	26	-4	Nofrarías y col., 2006
Hinojo	100	Hinojo y comino fueron obtenidos por hidrodestilación de semillas de las 2 spp.	Cerdos en posdestet	6 0	3 -1	-3 -2	Schone y col., 2006
Mezcla de AE	100	Alforfón, tomillo, cúrcuma, pimienta negra y jengibre.	Cerdos destetados	0	-3	-4	Yan y col., 2011
Mezcla de AE	1000	<i>Cinnamomum verum</i> , <i>Origanum vulgare</i> spp., <i>Syzygium aromaticum</i> , <i>Thymus vulgaris</i> y <i>Rosmarinus vulgaris</i>	Cerdos destetados	2	0	-2	Huang y col., 2010
Mezcla de AE	300	4.44 g de aceite de anís, 1.30 g de aceite de clavo de olor y 2 g de aceite esencial de canela/kg de aditivo	Cerdos destetados	10	5	-4	Maenner y col., 2011
Mezcla de AE	300	27.8 g AE anís ( <i>Pimpinella anisum</i> ), 12.5 g AE clavo de olor ( <i>Syzygium aromaticum</i> ), y 46.0 g AE menta ( <i>M. arvensis</i> )/kg de aditivo	Cerdos destetados	7	4	-3	Maenner y col., 2011

Tabla 2. Efecto de los aceites esenciales sobre la performance de Cerdos destetados (2° parte)

Aditivo alimenticio	Dosis (mg/kg)	Componentes mayoritarios (%)	Efecto del tratamiento (% Diferencias c/control)			Referencias	
			Especie y categoría	GDP	CADP		CA
Mezcla de AE	50	Timol, cianamaldheído	Cerdos destetados	11	7	-3	Li y col., 2012
	100			22	19	-2	
	150			22	15	-5	
Mezcla de AE	1000	Orégano, el cual contienen 60% de sustancia activa (cimeno, terpineno, carvacrol) y 40 % de dextrina como vehículo.	Cerdos destetados	2	2	-1	Zhang y col., 2012
Plantas medicinales chinas	1000	20% de cada especie: <i>Dioscoreaceae batatas</i> , <i>A. macrocephala</i> , <i>G. uralensis</i> y <i>Platycodon grandiflorum</i>	Cerdos destetados	16	0	-14	Huang y col., 2012
	3000			13	0	-11	
Mezcla de AE	100	18% de cada AE: timol y cinnamaldehido	Cerdos destetados	12	1	-10	Li y col., 2012
Mezcla de AE	100	-----	Cerdos destetados	10	-1	-10	Zeng y col., 2014

Fuente: Zeng y col., 2015.

Referencias: AE: aceites esenciales; GDP: ganancia diaria de peso; CADP: consumo de alimento diario promedio; CA: consumo de alimento.

### **5.2.1. Modo de acción de los aceites esenciales**

En general, los *AE* mejoran la producción de las secreciones digestivas y la absorción de nutrientes; reducen el estrés al patógeno en el intestino, ejercen propiedades antioxidantes y refuerzan el estado inmunológico del animal, que ayuda a explicar el rendimiento mejorado observado en cerdos. Sin embargo, los mecanismos involucrados en la promoción de este crecimiento están lejos de ser aclarados, ya que los datos sobre el ecosistema y la función intestinal del cerdo es complejo, el estado oxidativo *in vivo* y el sistema inmunológico aún no se conocen con precisión; son importantes antimicrobianos (antivirales; fungistáticos/fungicidas; bactericidas); coccidiostáticos.

### **5.2.2. Empleo de aceites esenciales como aditivos en la dieta del cerdo**

Se dispone de información limitada sobre la interacción entre los *AE* y los ingredientes de los piensos u otros aditivos para piensos (especialmente pro o prebióticos y ácidos orgánicos) (Zeng y col., 2015).

En un reciente ensayo de alimentación, Li y col., (2012) compararon el rendimiento de los lechones alimentados con 3 dietas: control no suplementada, dieta suplementada con antibióticos y dieta con una combinación de los *AE* de timol y cianamaldehído, y observaron que la ganancia de peso, conversión alimenticia y la consistencia fecal de los cerdos alimentados con *AE* fue esencialmente igual a la de cerdos alimentados con antibióticos.

Se ha informado que la suplementación de *AE* mejora el estado inmune de los lechones después del destete, como lo indica un aumento de la tasa de proliferación de linfocitos, tasa de fagocitosis, así como en los niveles séricos de IgG, IgA, IgM, C3 y C4 (Li y col., 2012; Zeng y col., 2014). Walter y col., (2004) informaron que los cerdos alimentados con una dieta con 3 g/kg de orégano (60 g de carvacrol y 55 g de timol/kg), tuvieron mayores proporciones de linfocitos en comparación con los cerdos alimentados con una dieta de control.

Por el contrario, Janz y col., (2007) y Yanby col. (2010) no observaron ninguna mejora en el rendimiento generados por *AE* o plantas aromáticas en cerdos en terminación. Sin embargo, la suplementación de *AE* en dietas para cerdas, especialmente en dietas de cerdas de lactancia, ha ido despertando un creciente interés. Miller y col., (2009) informaron que la suplementación con 2 g/kg de una mezcla de *AE* (Biomim P.E.P.), a partir de 10 días previos la fecha

estimada de parto hasta el destete, mejoró la ingesta temprana en la lactancia materna, disminuyó la pérdida de peso durante la primera semana de lactancia y mejoró el peso corporal del lechón al destete. En un estudio que involucra 2100 cerdas, Allan y Bilkei (2005) informaron que las cerdas que se alimentaron con dietas que contenían 1 g/kg de orégano tuvieron mayor ingesta voluntaria del alimento, menor tasa de mortalidad anual (4,0 vs. 6,9%), reducida tasa de sacrificio de las cerdas durante la lactancia (8 vs. 14%), aumento de la tasa de parto (77.0 vs. 69.9%), mayor número de lechones nacidos vivos por camada (10.49 vs. 9.95) y disminución de la tasa de muerte fetal (0.91 contra 0.81). Beneficios similares generados por la alimentación de AE a cerdas fue informado por otros autores han informado de EO a cerdas (Cabrera y col., 2008).

#### 5.2.2.1. Regulación de la microflora intestinal en lechones destetados con aceites esenciales

Los AE son ligeramente más activo contra bacterias Gram positivas que Gram negativas. Son concentración- dependiente y afectan la integridad celular. Estudios *in vivo* demostraron efectos inhibidores contra patógenos tales como *C. perfringens*, *E. coli* o especies de *Eimeria*. La carga patógena controlada también contribuyó a la salud de los metabolitos microbianos, mejoró la integridad intestinal y fue protector contra las enfermedades entéricas (Baker y col., 2012).

La actividad antimicrobiana de los AE ha sido explorada en muchos ensayos *in vitro* que mostraron que el timol, el eugenol y el carvacrol tiene una alta actividad contra bacterias patógenas, factores de riesgo de infecciones entéricas, tales como *E. coli* y *Salmonella typhimurium* (Bassolé y Juliani, 2012). El timol, eugenol y carvacrol son estructuralmente similares, y se ha demostrado que ejercen efectos antimicrobianos sinérgicos o aditivos cuando son combinados en concentraciones más bajas (Bassole y Juliani, 2012). Por lo tanto, es necesario desentrañar el mecanismo sinérgico para optimizar su formulación. La capacidad antimicrobiana de los componentes de los AE se puede determinar con diferentes métodos *in vitro* sobre distintas bacterias entéricas (**Tabla 3**). En estudios *in vivo*, los AE utilizados individualmente o en combinación han mostrado una clara inhibición del crecimiento de *Clostridium perfringens* y *E. coli* en el intestino posterior e intestinal mejorado. Un mecanismo bien conocido de actividad antibacteriana está vinculado a su hidrofobicidad, que altera la permeabilidad de las membranas celulares y la

homeostasis celular con la consecuencia de la consecuencia de pérdida de componentes celulares, la afluencia de otras sustancias, o incluso la muerte celular (Solrzano-Santos y Miranda-Navales, 2012; O'Bryan y col., 2015). Es de destacar que las bacterias gram negativas son más tolerantes a las acciones del *AE* que las bacterias gram positivas debido a sus componentes hidrofílicos en la membrana externa (Seow y col., 2014).

A pesar de los efectos benéficos de los *AAF* y los *AE* que fueron demostrados en estudios en cerdos, la atención debe focalizarse sobre los potenciales efectos negativos inducidos sobre la salud de las bacterias intestinales benéficas. Mientras que algunos investigadores reportan que los *AE* son inocuos para la microflora intestinal del cerdo, Muhl and Liebert (2007) reportaron que los *AE* no tuvieron efectos negativos sobre la composición y población microbiana del tracto digestivo de cerdos. Por el contrario, Horošová y col., (2006) observaron efecto bactericida del *AE* de orégano sobre al grupo *Lactobacilli* en otro monogástrico, en el pollo.

Si bien se conoce que, la principal acción terapéutica de los *AE* se debe a los componentes mayoritarios, los componentes minoritarios son críticos para la actividad bacteriostática de los *AE* y pueden tener efecto sinérgico.

La evidencia también ha demostrado que los productos de origen vegetal pueden controlar la población de *E. coli* en el íleon de los cerdos (Kroismayr y col., 2008) y *Lactobacillus intracellularis* en heces de cerdos (Draskovic y col., 2018). La mayoría de los estudios demostraron que los *AE* tienen un efecto estimulante sobre el crecimiento de la microflora probiótica en cerdos (Li y col., 2012). En la **Tabla 4** se describe el efecto de algunos aceites esenciales y plantas aromáticas sobre la microflora de cerdos en posdestete.

La alta reactividad de los *AE* representa otro obstáculo para su aplicación directa e incorporación en alimentos y piensos; su modo de acción debe ser interpretado. Mantener su actividad biológica presenta un desafío, al igual que la supresión de su reactividad y la minimización del impacto de las propiedades organolépticas. La estabilidad y bioactividad de los *AE* pueden verse comprometidas por temperatura, luz, metales y disponibilidad de agua y oxígeno en los sistemas de producción. Por lo tanto, se están desarrollando nuevas tecnologías de distribución, como la encapsulación, para proteger los compuestos volátiles y la bioactividad de los *AE* de: (1) proceso de degradación

**Tabla 3. Caracterización de la capacidad antimicrobiana *in vitro* de algunos componentes de aceites esenciales sobre patógenos de importancia económica en la actividad porcina**

Referencias	Método empleado	Patógeno	Ranking
Kim y col., 1995	Método de difusión en disco	<i>E. coli</i>	Citronellal > perillaldehyde > citral > geraniol > linalol > eugenol > terpineol > carvacrol
Ait-Ouazzou y col., 2011	Método de difusión en disco	<i>E. coli</i> O157:H7	Carvacrol > terpineol > linalol
Frideman y col., 2002	Microdilución-cultivo en agar	<i>E. coli</i>	Carvacrol > cinnamaldehyde > timol > eugenol > geraniol
Si y col., 2006	Microdilución-densidad óptica	<i>E. coli</i> K88	Timol, carvacrol > aceite de canela > aceite de clavo de olor > eugenol
Si y col., 2006	Microdilución-densidad óptica	<i>E. coli</i> O157:H7	Aceite de canela > timol > geraniol, aceite de clavo de olor, carvacrol > eugenol
Van Zyl y col., 2006+	Microdilución-violeta de iodinitrotetrazolium	<i>E. coli</i> ATCC 11775	Eugenol > carvacrol > geraniol > linalool > citronellal
Michiels y col., 2009	Estómago simulado	Bacterias totales anaerobias	Carvacrol > thymol > eugenol > trans-cinnamaldehyde
Michiels y col., 2009	Estómago simulado	Bacterias coliformes	Trans-cinnamaldehyde > carvacrol > timol > eugenol
Michiels y col., 2009	Estómago simulado	<i>E. coli</i>	Trans-cinnamaldehyde > carvacrol > timol > eugenol
Kim y col., 1995	Método difusión en disco	<i>Salmonella typhimurium</i>	Citronellal > citral > geraniol > perillaldehyde > linalol > eugenol > terpineol > carvacro
Ait-Ouazzou y col., 2011	Método difusión en disco	<i>S. enteritidis</i>	Carvacrol > terpineol > linalol
	Microdilución-cultivo en agar	<i>S. enterica</i>	Cinnamaldehyde > timol > carvacrol > eugenol > geraniol
Si y col., 2006	Microdilución-densidad óptica	<i>S. typhimurium</i> DT 104	Aceite de canela > carvacrol > timol > aceite de clavo de olor
Van Zyl y col., 2006	Microdilución – violeta de iodinitrotetrazolium	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Carvacrol > geraniol > linalol > citronellal > eugenol

Fuente:

Zhai

y

col.,

201



intestino; y (3) mezclar con los constituyentes de alimentación basales (Stevanović y col., 2018).

Los portadores de aceite protegen los *AE* y aseguran su entrega al TGI del cerdo. Sin la protección adecuada, la mayoría de los *AE* administrados por vía oral pueden no llegar al intestino delgado, donde residen y se propagan la mayoría de los patógenos transmitidos por los alimentos. Además, los *AE* tienden a interactuar con los alimentos o componentes de piensos, lo que lleva a una actividad antimicrobiana reducida (Zhang y col., 2016). Por consiguiente, la optimización del rendimiento del portador en términos de estabilidad química en condiciones gástricas y la estabilidad mecánica durante la mezcla con componentes de alimentación son requisitos previos para todo el proceso de mejoramiento. Por ejemplo, Zhang y col., (2016) evaluaron el uso de microcápsulas de proteína de suero de alginato para la administración intestinal de compuestos lipofílicos (carvacrol) en cerdos y concluyeron que las partículas grandes incrementan la entrega de carvacrol al final del intestino delgado.

El papel protector de portadores de lípidos y polímeros de absorción temprana en el TGI y el efecto beneficioso se ha documentado en el rendimiento de la producción porcina (Azevedo y col., 2017). Por otra parte, la encapsulación es una opción razonable debido al fuerte olor y la alta volatilidad de los *AE* que influyen en el consumo de alimento, además de su alta reactividad, donde concentraciones demasiado altas pueden tener efectos negativos (Cairo, y col., 2018). La evidencia ha demostrado el efecto positivo de los *AE* encapsulados en la calidad del cerdo, además de permitir administrar una dosis apropiada de ingredientes bioactivos, modelado y garantizado (Gois, y col., 2016), por lo que se recomienda para el desarrollo de nuevos alimentos para animales y el hombre.

Table 4. Efecto de los aceites esenciales y plantas aromáticas sobre la microflora de cerdos en posdestete.

Aditivos alimenticios	Dosis (g/kg)	Especie y categoría	Respuesta evaluada	Referencias
Extracto herbáceo	7500	Cerdos destetados	Reducción del recuento de bacterias coliformes en las heces fecales; Menor diversidad de la microbiota en base a la digesta ileal en PCR-DGGE	Namkung y col., 2004
Mezcla de AE	50-150	Cerdos destetados	Incrementa el conteo de <i>Lactobacillus</i> spp. y reduce el conteo de <i>E. coli</i> en heces fecales	Li y col., 2012
Mezcla de AE	1000	Cerdos destetados	Incrementa el conteo de <i>Lactobacillus</i> spp. en heces fecales	Zhang y col., 2012
Hierbas medicinales chinas	1000/3000	Cerdos destetados	Incrementa el conteo de <i>Lactobacillus</i> spp. y reduce el de coliformes en el colon	Huang y col., 2012
Mezcla de AE	100	Cerdos destetados	Reduce <i>E. coli</i> y el total de bacterias aeróbicas en el recto, incrementando el nivel de <i>Lactobacillus</i> en el colon sobre <i>E. coli</i>	Li y col., 2012
Aditivo fitogénico	50-150	Cerdos destetados	Conteo de microorganismos en heces no tuvieron cambios (aerobios, gram negativas, anaerobias y lactobacilli)	Muhl and Liebert (2007)

Fuente: Zhai y col., 2018

Referencias: AE: aceite esencial; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; DGGE. Electroforesis en gel desnaturizante en gradiente.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Abe F, Ishibashi N, Shimamura S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J Dairy Sci.* 1995; 78:2838e46
2. Adewole DI, Kim IH, Nyachoti CM. Gut health of pigs: challenge models and response criteria with a critical analysis of the effectiveness of selected feed additives—a review. *Asian Australas J Anim Sci.* 2016; 29:909–24.
3. Allan P, Bilkei G. Oregano improves reproductive performance of sows. *Theriogenol.* 2005; 63:716–21.
4. Allen HK, Levine UY, Looft T, Bandrick M, Casey TA. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiol.* 2013; 21:114–9.
5. Allen HK, Trachsel J, Looft T, Casey TA. Finding alternatives to antibiotics. *Ann NY Acad Sci.* 2014; 1323:91–100.
6. Ait-Ouazzou A, Cherrat L, Espina L, Lor\_an S, Rota C, Pag\_an R. The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovat Food Sci Emerg Technol.* 2011; 12:320e9.
7. Apajalahti J, Vienola K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. *Anim Feed Sci Technol.* 2016; 221:323–330. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.05.004
8. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science.* 2011; 331:337–41. doi: 10.1126/science.1198469
9. Ayrlle H, Mevissen M, Kaske M, Nathues H, Gruetzner N, Melzig M, et al. Medicinal plants—prophylactic and therapeutic options for gastrointestinal and respiratory diseases in calves and piglets? A systematic review. *BMC Vet Res.* 2016; 12:1
10. Azevedo IL, Martins ER, Almeida ACD, Nogueira WCL; FariaFilho DED; Santos VKFDR; Lara LJC. Use of *Lippia rotundifolia* and *Cymbopogon flexuosus* essential oils, individually or in combination, in broiler diets. *Rev Bras Zoot.* 2017; 46: 13–9.

11. Baker J, Brown K, Rajendiran E, Yip A, Decoffe D, Dai C, et al. Medicinal lavender modulates the enteric microbiota to protect against *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *Amer J Physiol-Heart Circul Physiol*.2012; G825–36.
12. Barba Vidal E, Castillejos L, López Colom P, Rivero Urgell M, Muñoz JAM and Martín Orúe SM. Evaluation of the probiotic strain *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* CECT 7210 capacities to improve health status and fight digestive pathogens in a piglet model. *Frontiers Microbiol*. 2017; 8, 533.
13. Barba-Vidal E, Martín-Orúe SM & Castillejos L. Are we using probiotics correctly in post-weaning piglets? *Animal*. 2018; 12(12), 2489-2498.
14. Bassole IHN, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules* 2012; 17:3989e4006.
15. Bäumler AJ & Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*. 2016; 535, 85–93
16. Benson AK, Kelly SA, Legge R, Ma F, Low SJ, Kim J, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107:18933–8. doi: 10.1073/pnas.1007028107
17. Bhat MI, Kapila R. Dietary metabolites derived from gut microbiota: critical modulators of epigenetic changes in mammals. *Nutr Rev*. 2017; 75:374–89. doi: 10.1093/nutrit/nux001
18. Biesalski HK. Nutrition meets the microbiome: micronutrients and the microbiota. *Ann N Y Acad Sci*. 2016; 1372:53–64. doi: 10.1111/nyas.13145
19. Bischoff SC. 'Gut health': a new objective in medicine? *BMC Med* 2011; 9:24.
20. Bomba L, Minuti A, Moisés SJ, Trevisi E, Eufemi E, Lizier M, ...& Rossi F. Gut response induced by weaning in piglet features marked changes in immune and inflammatory response. *Func & Integr Genomics* 2014; 14(4): 657-71.
21. Bourriaud C, RobinsRJ, Martin L, Kozlowski F, Tenailleau E, Cherbut C, et al. Lactate is mainly fermented to butyrate by human intestinal microfloras but inter-individual variation is evident. *J Appl Microbiol*. 2005; 99:201–12. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005. 02605.x

22. Bouwhuis MA, Sweeney T, Mukhopadhyaya A, Thornton K, McAlpine PO, O'Doherty JV. Zinc methionine and laminarin have growth-enhancing properties in newly weaned pigs influencing both intestinal health and diarrhoea occurrence. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2016; doi:10.1111/jpn.12647.
23. Brugman S, Ikeda-Ohtsubo W, Braber S, Folkerts G, Pieterse CMJ, Bakker PAHM. A comparative review on microbiota manipulation: lessons from fish, plants, livestock and human research. *Front Nutr*. 2018; 5:80. doi: 10.3389/fnut.2018.00080
24. Brune A, Frenzel P, Cypionka H. Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiol Rev*. 2000; 24:691–710. doi: 10.1111/j.1574-6976.2000.tb00567.x
25. Burdock GA, Carabin IG. Generally recognized as safe (GRAS): History and description. *Toxicol Lett*. 2004; 150: 3–18.
26. Cabrera R, Jordan N, Wilson M, Hedges J, Knott J, Fent R, et al. Oregano essential oil in sow diets improves sows and piglet performance, paper read at American Association of Swine Veterinarians. 2008. internet: <http://www.aasp.org/cdrom/> (accessed 02.03.2009).
27. Cairo PLG, Gois FD, Sbardella M, Silveira H, de Oliveira RM, Allaman IB, Cantarelli VS, Costa LB. Effects of dietary supplementation of red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, small intestinal morphology and microbial counts of weanling pigs. *J Sci Food Agric*. 2018; 98: 541–8.
28. Callaway TR, Edrington TS, Loneragan GH, Carr MA & Nisbet DJ. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) ecology in cattle and management based options for reducing fecal shedding. *Agric. Food Anal. Bacteriol*. 2013; 3, 39-69.
29. Callaway TR, Edrington TS, Anderson RC, Harvey RB, Genovese KJ, Kennedy CN, et al. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. *Anim Health Res Rev*. 2008; 9:217–25.
30. Camarinha-Silva A, Maushammer M, Wellmann R, Vital M, Preuss S, Bennewitz J. Host genome influence on gut microbial composition and microbial prediction of complex traits in pigs. *Genetics* (2017) 206:1637–44. doi: 10.1534/genetics.117.200782

31. Campbell J, Crenshaw JD & Polo J. The biological stress of early weaned piglets. *J Anim Sci Biotech*. 2013; 4(1): 19.
32. Cao KF, Zhang HH, Han HH, Song Y, Bai XL & Sun H. Effect of dietary protein sources on the small intestine microbiome of weaned piglets based on high-throughput sequencing. *Letters Appl Microbiol*. 2016; 62(5): 392-8.
33. Celi P, Cowieson AJ, Fru-Nji F, Steinert RE, Klünter A-M, Verlhac V. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production. *Anim Feed Sci Technol*. 2017; 234:88e100
34. Chae JP, Pajarillo EAB, Oh JK, Kim H & Kang DK. Revealing the combined effects of lactulose and probiotic enterococci on the swine faecal microbiota using 454 pyrosequencing. *Microb Biotech*. 2016; 9(4):486-95.
35. Cho JH, Chen YJ, Min BJ, Kim HJ, Kwon OS, Shon KS, et al. Effects of essential oils supplementation on growth performance, IgG concentration and fecal noxious gas concentration of weaned pigs. *Asian-Australian J Anim Sci*. 2006; 19:80
36. Cho IJ, Lee NK, Hahm YT. Characterization of *Lactobacillus* spp. isolated from the feces of breast-feeding piglets. *J Biosci Bioeng*. 2009;108(3):194e8.
37. Cromwell GL. Feed additives in swine diets. In: Chiba LI, editor. *Sustainable swine nutrition*. 1st ed. Ames, IA: John Wiley & Sons, Inc; 2013. p. 302e4.
38. de Lange CFM, Pluske J, Gong J, Nyachoti CM. Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. *Livest Sci*. 2010; 134:124e34.
39. De Greeff A, Resink JW, Van Hees HM, Ruuls L, Klaassen GJ, Rouwers SM, et al. Supplementation of piglets with nutrient-dense complex milk replacer improves intestinal development and microbial fermentation. *J Anim Sci*. 2016; 94:1012–9.
40. De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Zitoun C, Duchamp A, Bäckhed F, Mithieux G. Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis. *Cell Metab*. 2016; 24:151–7. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.013

41. Degnan PH, Taga ME, Goodman AL. Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology. *Cell Metab.* 2014; 20:769–78. doi: 10.1016/j.cmet.2014.10.002
42. Dibner JJ, Richards JD. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult Sci.* 2005; 84:634–43. doi: 10.1093/ps/84.4.634
43. Dou S, Gadonna-Widehem P, Rome V, Hamoudi D, Rhazi L, Lakhal L, et al. Characterisation of early-life fecal microbiota in susceptible and healthy pigs to post-weaning diarrhoea. *PLoS ONE* 2017; 12: e0169851. doi: 10.1371/journal.pone.0169851.
44. Dowarah R, Verma AK, Agarwal N. The use of *Lactobacillus* as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: a review. *Anim Nutr.* 2017; 3:1–6. doi: 10.1016/j.aninu.2016.11.002
45. Draskovic V, Bosnjak-Neumuller J, Vasiljevic M, Petrujkic B, Aleksic N, Kukolj V, Stanimirovic Z. Influence of phytogetic feed additive on *Lawsonia intracellularis* infection in pigs. *Prev Vet Med.* 2018; 151: 46-51
46. Durmic Z., Blache D. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Anim Feed Sci. Technol.* 2012, 176, 150–162.
47. El Kaoutari A, Armougom F, Gordon JI, Raoult D, Henrissat B. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. *Nat Rev Microbiol.* 2013; 11:497. doi: 10.1038/nrmicro3050
48. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 2001. p. 1e33. Cordoba, Argentina.
49. Ferreyra JA, Wu KJ, Hryckowian AJ, Bouley DM, Weimer BC, Sonnenburg JL. Gut microbiota-produced succinate promotes *C. difficile* infection after antibiotic treatment or motility disturbance. *Cell Host Microbe.* 2014;16:770–7. doi: 10.1016/j.chom.2014.11.003
50. Fisher K, Phillip P. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiol.* 2009; 155:1749e57.
51. Flores-Manchano LG, García-Hernández Y, Proaño-Ortiz FB & Caicedo-Quinche WO. Evaluación de tres dosis de un preparado microbiano,

- obtenido en Ecuador, en la respuesta productiva y sanitaria de cerdos en posdestete. *Ciencia y Agric.* 2015; 12(2), 59-70.
52. Fohse JM, Zijlstra RT & Willing BP. The role of gut microbiota in the health and disease of pigs. *Anim Front.* 2016; 6(3): 30-6.
53. Franz C, Baser KHC, Windisch W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding—An European perspective: A review. *Flavour Fragr J.* 2010; 25: 327–40.
54. Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J Food Prot.* 2002; 65:1545e60.
55. Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int J Food Microbiol.* 2010;141: S15e28.
56. Garcia-Gutierrez E, Mayer MJ, Cotter PD, Narbad A. Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut Microb.* 2018; 27:1–21. doi: 10.1080/19490976.2018.1455790
57. Gois FD, Cairo PLG, de Souza Cantarelli V, do Bomfim Costa LC, Fontana R, Allaman IB, Sbardellac M, de Carvalho Júnior FM, Costa LB. Effect of Brazilian red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, diarrhea and gut health of weanling pigs. *Livest Sci.* 2016; 183: 24–7.
58. Gresse R, Chaucheyras-Durand F, Fleury MA, Van de Wiele T, Forano E & Blanquet-Diot S. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health *Trends Microbiol.* 2017; 25(10): 851-73.
59. Guerra-Ordaz AA, Gonzalez-Ortiz G, La Ragione RM, Woodward MJ, Collins JW, Perez JF, et al. Lactulose and *Lactobacillus plantarum*, a potential complementary synbiotic to control postweaning colibacillosis in piglets. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80:4879–86.
60. Hacquard S, Garrido-Oter R, González A, Spaepen S, Ackermann G, Lebeis S, et al. Microbiota and host nutrition across plant and animal kingdoms. *Cell Host Microbe.* 2015; 17:603–16. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.009
61. Hansen C, Riis A, Bresson S, Hojbjerg O, Jensen B. Feeding organic acids enhances the barrier function against pathogenic bacteria of the piglet stomach. *Livest Sci.* 2007; 108:206–9.



62. Hardie JM, Whiley RA. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. J Appl Microbiol. 2003; 83:1S–11S. doi: 10.1046/j.1365-2672.83.s1.1.x
63. He YY, Mao CX, Wen H, Chen ZY, Lai T, Li LY, Lu W, Wu HD. Influence of ad libitum feeding of piglets with *Bacillus subtilis* fermented liquid feed on gut flora, luminal contents and health. Sci Rep. 2017; 7:44553
64. Hillman K. Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. In: Garnsworthy PC, Wiseman J, editors. Recent advances in animal nutrition. Loughborough, UK: Nottingham University Press; 2001. p. 107e34.
65. Hojberg O, Canibe N, Poulsen HD, Hedemann MS, Jensen BB. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. Appl Environ Microbiol. 2005; 71:2267–77. doi: 10.1128/AEM.71.5.2267-2277.2005
66. Holman DB, Brunelle BW, Trachsel J, Allen HK. Meta-analysis to define a core microbiota in the swine gut. Systems 2017; 2: -17. doi: 10.1128/mSystems.00004-17
67. Horošová K, Bujňáková D, Kmet' V. Effect of oregano essential oil on chicken *Lactobacilli* and *E. coli* Folia Microbiol. 2006; 51: 278–80.
68. Hou C, Zeng X, Yang F, Liu H, Qiao S. Study and use of the probiotic *Lactobacillus reuteri* in pigs: a review. J Anim Sci Biotechnol. 2015; 6:14e9.
69. Huang Y, Yoo JS, Kim HJ, Wang Y, Chen YJ, Cho JH, et al. Effects of dietary supplementation with blended essential oils on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles and fecal characteristics in weanling pigs. Asian-Austral J Anim Sci. 2010; 23:607–13.
70. Huang CW, Lee TT, Shih YC, Yu B. Effects of dietary supplementation of Chinese medicinal herbs on polymorphonuclear neutrophil immune activity and small intestinal morphology in weanling pigs. J Anim Physiol An N. 2012;96:285–94.
71. Hughes ER, Winter MG, Duerkop BA, Spiga L, Furtado de Carvalho T, Zhu W, et al. Microbial respiration and formate oxidation as metabolic signatures of inflammation-associated dysbiosis. Cell Host Microbe. 2017; 21:208–19. doi: 10.1016/j.chom.2017.01.005

72. Ikeda-Ohtsubo W, Brugman S, Warden CH, Rebel JM, Folkerts G & Pieterse CM. How Can We Define “Optimal Microbiota?”: A Comparative review of structure and functions of microbiota of Animals, Fish, and plants in Agriculture. *Front Nutr* 2018; 5.
73. Isaacson R & Kim HB. The intestinal microbiome of the pig. *Anim Health Res Rev.* 2012; 13(1): 100-9.
74. Janz JAM, Morel PCH, Wilkinson BHP, Purchas RW. Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. *Meat Sci.* 2007; 75:350–5.
75. Jayaraman B, Nyachoti CM. Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: a review. *Anim Nutr.* 2017; 3:205e11
76. Jaworski NW, Owusu-Asiedu A, Walsh MC, McCann JC, Looor JJ, Stein HH. Effects of a3 strain Bacillus-based direct-fed microbial and dietary fiber concentration on growth performance, intestinal concentrations of volatile fatty acids, and expression of genes related to absorption and metabolism of volatile fatty acids in weanling pigs. *J Anim Sci.* 2017; 95:308e19.
77. Jiang Z, Wei S, Wang Z, Zhu C, Hu S, Zheng C, et al. Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. *J Anim Sci Biotechnol.* 2015; 6:47e54.
78. Jugl-Chizzola M, Ungerhofer E, Gabler C, Hagmüller W, Chizzola R, Zitterl-Eglseer K, Franz C. Testing of the palatability of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. as flavouring feed additive for weaner pigs on the basis of a choice experiment. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2006; 119: 238–43.
79. Kamada N, Seo SU, Chen GY & Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Inmun.* 2013; 13(5): 321.
80. Karásková K, Suchý P, Straková E. Current use of phytogenic feed additives in animal nutrition: A review. *Czech J. Anim. Sci.* 2015; 60: 521–30
81. Kelly CJ, Zheng L, Campbell EL, Saeedi B, Scholz CC, Bayless AJ, et al. Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and

- intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell Host Microb.* 2015; 17:662–71. doi: 10.1016/j.chom.2015.03.005
82. Kenny M, Smidt H, Mengheri E, Miller B. Probiotics - do they have a role in the pig industry? *Anim.* 2011; 5:462e70.
83. Kiarie E, Bhandari S, Scott M, Krause DO, Nyachoti CM. Growth performance and gastrointestinal microbial ecology responses of piglets receiving *Saccharomyces cerevisiae* fermentation products after an oral challenge with *Escherichia coli* (K88). *J Anim Sci.* 2011; 89(4):1062–78
84. Kim J, Marshall MR, Wei C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J Agric Food Chem.* 1995; 43:2839e45.
85. Kim HB, Borewicz K, White BA, Singer RS, Sreevatsan S, Tu ZJ, Isaacson RE. Longitudinal investigation of the age-related bacterial diversity in the feces of commercial pigs. *Vet Microbiol.* 2011; 153: 124–33.
86. Kim HB, Borewicz K, White BA, Singer RS, Sreevatsan S, Tu ZJ & Isaacson RE. Microbial shifts in the swine distal gut in response to the treatment with antimicrobial growth promoter, tylosin. *Proc Nat Acad Sci.* 2012; 109(38): 15485-90.
87. Kim JS, Hosseindoust A, Lee SH, Choi YH, Kim MJ, Lee JH, et al. Bacteriophage cocktail and multistrain probiotics in the feed for weanling pigs: effects on intestine morphology and targeted intestinal coliforms and *Clostridium*. *Anim.* 2017; 11:45–53
88. Kommera SK, Mateo RD, Neher FJ, Kim SW. Phytobiotics and organic acids as potential alternatives to the use of antibiotics in nursery pig diets. *Asian-Australia J Anim Sci.* 2006; 19:1784.
89. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell.* 2016; 165:1332–45. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.041
90. Krause DO, Bhandari SK, House JD, Nyachoti CM. Response of nursery pigs to a synbiotic preparation of starch and an anti-*Escherichia coli* K88 probiotic. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76:8192–200.
91. Kroismayr A, Schedle K, Sehm J, Pfaffl MW, Pletzner C, Foissy H, Ertle T, Mayer H, Schreiner M, Windisch W. Effects of antimicrobial feed additives

- on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. *Bodenkultur*. 2008; 59: 111–20.
92. Krumbeck JA, Maldonado-Gomez MX, Martinez I, Frese SA, Burkey TE, Rasineni K, et al. *In vivo* selection to identify bacterial strains with enhanced ecological performance in synbiotic applications. *Appl Environ Microbiol*. 2015; 81:2455–65.
93. Lalles JP, Bosi P, Smidt H & Stokes CR. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc Nutr Soc*. 2007; 66(2), 260-8.
94. Lan R, Koo J, Kim I. Effects of *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performance, nutrient digestibility, fecal microbial and noxious gas emission in weaning pigs. *J Sci Food Agric*. 2016; 97:1310–5.
95. Lathrop SK, Bloom SM, Rao SM, Nutsch K, Lio C-W, Santacruz N, et al. Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*. 2011; 478:250. doi: 10.1038/nature10434
96. Lee JHVD, Valeriano YR, Shin JP, Chae GB, Kim JS, Ham J, et al. Genome sequence of *Lactobacillus mucosae* LM1 isolated from piglet feces. *J Bacteriol*. 2012;194: 47e66.
97. Lee SH, Ingale SL, Kim JS, Kim KH, Lokhande A, Kim EK, et al. Effects of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* LS 1e2 fermentation biomass on growth performance, nutrient digestibility, cecal microbiota and intestinal morphology of weanling pig. *Anim Feed Sci Technol*. 2014; 188:102e10.
98. Levesque CL, Hooda S, Swanson KS, de Lange K. Alterations in ileal mucosa bacteria related to diet complexity and growth performance in young pigs. *PLoS ONE* 2014; 9: e108472. doi: 10.1371/journal.pone.0108472
99. Lewis MC, Patel DV, Fowler J, Duncker S, Zuercher AW, Mercenier A, et al. Dietary supplementation with *Bifidobacterium lactis* NCC2818 from weaning reduces local immunoglobulin production in lymphoid-associated tissues but increases systemic antibodies in healthy neonates. *Br J Nutr*. 2013; 110:1243e52.
100. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JL. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102: 11070–5. doi: 10.1073/pnas.0504978102

101. Li PF, Piao XS, Ru YJ, Han X, Xue LF, Zhang HY. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2012; 25:1617–26.
102. Li SY, Ru YJ, Liu M, Xu B, Péron A, Shi XG. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. *Livest Sci.* 2012; 145:119–23.
103. Li PF, Piao XS, Ru YJ, Han X, Xue LF, Zhang HY. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2012; 25:1617–26.
104. Li F, Guan LL. Metatranscriptomic profiling reveals linkages between the active rumen microbiome and feed efficiency in beef cattle. *Appl Environ Microbiol.* 2017; 83: e00061-17. doi: 10.1128/AEM.00061-17
105. Li K, Xiao Y, Chen J, Chen J, He X & Yang H. Microbial composition in different gut locations of weaning piglets receiving antibiotics. *Asian Austr J Anim Sci.* 2017; 30(1): 78.
106. Li SY, Ru YJ, Liu M, Xu B, Péron A, Shi XG. The effect of essential oils on performance, immunity and gut microbial population in weaner pigs. *Livest Sci.* 2012; 145: 119–23.
107. Liao SF & Nyachoti M. Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. *An Nutr.* 2017; 3(4), 331-343.
108. Liu Y, Espinos CD, Abelilla JJ, Casas GA, Lagos LV, Lee SA, ...& Stein HH. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Anim Nutr.* 2018; 4(2): 113-125.
109. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med.* 2016; 8:51. doi: 10.1186/s13073-016-0307-y
110. Loch TP, Faisal M. Emerging flavobacterial infections in fish: a review. *J Adv Res.* 2015; 6:283–300. doi: 10.1016/j.jare.2014.10.009
111. Maenner K, Vahjen W, Simon O. Studies on the effects of essential-oil-based feed additives on performance, ileal nutrient digestibility, and selected bacterial groups in the gastrointestinal tract of piglets. *J Anim Sci.* 2011; 89:2106–12.

112. Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F, Gasa J. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J Anim Sci.* 2004; 82:3210–8.
113. Manzanilla EG, Nofrarias M, Anguita M, Castillo M, Perez JF, Martin-Orue SM, et al. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J Anim Sci.* 2006; 84:2743–51.
114. Martin GB, Ferasyi TR, Clean, Green, Ethical (CGE) Management: What Research DoWe Really Need? *Intern J Trop Vet Biomed Res.* 2016; 2016: 1–8.
115. Mathews S, Kumar R, Solioz M. Copper reduction and contact killing of bacteria by iron surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2015;1: 6399e403
116. McCormack UM, Curião T, Buzoianu SG, Prieto ML, Ryan T, Varley P, et al. Exploring a possible link between the intestinal microbiota and feed efficiency in pigs. *Appl Environ Microbiol.* 2017; 83: e00380-17.doi: 10.1128/AEM.00380-17
117. Merchant HA, McConnell EL, Liu F, Ramaswamy C, Kulkarni RP, Basit AW, et al. Assessment of gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue in the Guinea pig, rabbit and pig, and implications for their use in drug development. *Eur J Pharm Sci.* 2011; 42:3e10.
118. Michiels J, Missotten JAM, Fremaut D, De Smet S, Dierick NA. *In vitro* characterisation of the antimicrobial activity of selected essential oil components and binary combinations against the pig gut flora. *Anim Feed Sci Technol.* 2009;151: 111e27.
119. Miller JA, Laurenz JC, Rounsavall JW, Burdick NC, Neher FJ. Enhancing feed intake by the sow during lactation using BIOMIN® PEP. In *Phytogenics in animal nutrition: natural concepts to optimize gut health and performance*, edited by Steiner T. Nottingham University Press 2009. p 87–96.
120. Missotten JAM, Michiels J, Degroote J, De Smet S. Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future. *J Anim Sci Biotechnol.* 2015; 6:4
121. Moeser AJ, Pohl CS, Rajput M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: implications for lifelong gut health in pigs. *Anim Nutr.* 2017; 3:313–21. doi: 10.1016/j.aninu.2017.06.003

122. Montagne L, Pluske JR, Hampson DJ. A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim Feed Sci Technol.* 2003; 108:95–117. doi: 10.1016/S0377-8401(03)00163-9
123. Mukherjee R, Chakraborty R, Dutta A. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal—a review. *Asian Australas J Anim Sci.* 2016; 29(11):1523–29
124. Muhl A, Liebert F. Growth and parameters of microflora in intestinal and faecal samples of piglets due to application of a phytogetic feed additive. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2007; 91:411–8
125. Namkung H, Li J, Gong M, Yu H, Cottrill M, de Lange CFM. Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs. *Can J Anim Sci.* 2004; 84:697–704.
126. Nishioka T, ElsharkawyMM, Suga H, Kageyama K, HyakumachiM, Shimizu M. Development of culture medium for the isolation of *Flavobacterium* and *Chryseobacterium* from rhizosphere soil. *Microb Environ.* 2016; 31:104–10. doi: 10.1264/jsme2.ME15144
127. Nofrarias M. Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. *J Anim Sci.* 2006; 84:2735–42.
128. Nürnberger T, Brunner F, Kemmerling B, Piater L. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunol Rev.* 2004; 198:249–66. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.0119.x
129. O'Bryan CA, Pendleton SJ, Crandall PG, Ricke SC. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture-*in vitro* studies on antibacterial mode of action. *Front Vet Sci.* 2015; 2:1e8.
130. Okada T, Fukuda S, Hase K, Nishiumi S, Izumi Y, Yoshida M, et al. Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. *Nat Commun.* 2013; 4:1654.
131. Owusu-Asiedu A, Jaworski NW, Awati AA, Stein HH. Effect of *Bacillus* spp. direct-fed microbial supplementation on the nutrient digestibility by weanling pigs. *J Anim Sci.* 2014; 92(Suppl. 2):143 [Abstract].

132. Pajarillo EAB, Chae JP, Balolong MP, Kim HB and Kang DK. Assessment of fecal bacterial diversity among healthy piglets during the weaning transition. *J Gen App Microbiol.* 2014; 60: 140–6.
133. Pajarillo EA, Chae JP, Balolong MP, Kim HB, Seo KS, Kang DK. Characterization of the fecal microbial communities of Duroc pigs using 16S rRNA gene pyrosequencing. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2015; 28: 584–91.
134. Petri D, Hill JE & Van Kessel AG. Microbial succession in the gastrointestinal tract (GIT) of the preweaned pig. *Livestock Sci.* 2010;133(1-3): 107-9.
135. Pluske JR, Turpin DL & Kim JC. Gastrointestinal tract (gut) health in the young pig. *An Nutr.* 2018; 4(2): 187-96.
136. Pringsulaka O, Rueangyotchanthana K, Suwannasai N, Watanapokasin N, Amnueysit P, Sunthornthummas S, et al. *In vitro* screening of lactic acid bacteria for multi-strain probiotics. *Livest Sci.* 2015; 174:66e73.
137. Proia P, Di Liegro MC, Schiera G, Fricano A, Di Liegro I. Lactate as a metabolite and a regulator in the central nervous system. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: doi: 10.3390/ijms17091450
138. Rhouma M, Fairbrother JM, Beaudry F & Letellier A. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Vet Scand.* 2017; 59(1), 31.
139. Sauer N, Eklund M, Roth S, Rink F, Jezierny D, Bauer E, et al. Short-term effect of dietary yeast nucleotide supplementation on small intestinal enzyme activities, bacterial populations and metabolites and ileal nutrient digestibilities in newly weaned pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2012; 6:700e8.
140. Schöne F, Vetter A, Hartung H, Bergmann H, Biertümpfel A, Richter G, et al. Effects of essential oils from fennel (*Foeniculi aetheroleum*) and caraway (*Carvi aetheroleum*) in pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2006; 90:500–10.
141. Serena C, Ceperuelo-Mallafré V, Keiran N, Queipo-Ortuño MI, Bernal R, Gomez-Huelgas R, et al. Elevated circulating levels of succinate in human obesity are linked to specific gut microbiota. *ISME J.* 2018; doi: 10.1038/s41396-018-0068-2



142. Shade A and Handelsman J. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome. *Environ Microbiol.* 2012;14: 4–12.
143. Sanchez B, Delgado S, Blanco-Miguez A, Lourenco A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res.* 2017; 61(1)
144. Seow YX, Yeo CR, Chung HL, Yuk HG. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014; 54:625e44
145. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, Tundis R, Sharifi-Rad M, Loizzo MR, Ademiluyi AO, et al. Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules* 2017, 22, 70.
146. Sharon G, Garg N, Debelius J, Knight R, Dorrestein PC, Mazmanian SK. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab.* 2014; 20:719–30. doi: 10.1016/j.cmet.2014.10.016
147. Shi CY, He J, Yu J, Yu B, Mao XB, Zheng P, Huang ZQ, Chen DW. Physicochemical properties analysis and secretome of *Aspergillus niger* fermented rapeseed meal. *PLoS One.* 2016; 11(4): e0153230
148. Si W, Gong J, Tsao R, Zhou T, Yu H, Poppe C, et al. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *J Appl Microbiol.* 2006; 100:296e305
149. Smith AG, Croft MT, Moulin M, Webb ME. Plants need their vitamins too. *Curr Opin Plant Biol.* 2007; 10:266–75. doi: 10.1016/j.pbi.2007.04.009
150. Smith PM, Howitt MR, Panikov N, Michaud M, Gallini CA, Bohlooly-YM, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science.* 2013; 341:569LP–73. doi: 10.1126/science.1241165
151. Solorzano-Santos F, Miranda-Novales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2012; 23:136e41
152. Sommer F, Nookaew I, Sommer N, Fogelstrand P, Bäckhed F. Site-specific programming of the host epithelial transcriptome by the gut microbiota. *Genome Biol.* 2015; 16:62. doi: 10.1186/s13059-015-0614-4
153. Spano G, Russo P, Lonvaud-Funel A, Lucas P, Alexandre H, Grandvalet C, et al. Biogenic amines in fermented foods. *Eur J Clin Nutr.* 2010; 64(Suppl 3): S95–100. doi: 10.1038/ejcn.2010.218

154. Steiner T, Syed B. Phytogetic feed additives in animal nutrition. In medicinal and aromatic plants of the world. medicinal and aromatic plants of the world; Máthé Á Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2015; 1, pp. 403–423, ISBN 978-94-017-9810-5.
155. Stevanović Z, Bošnjak-Neumüller J, Pajić-Lijaković I, Raj J & Vasiljević M. Essential oils as feed additives—future perspectives. *Molecules*. 2018; 23(7): 1717.
156. Schokker D, Zhang J, Zhang LL, Vastenhouw SA, Heilig HG, Smidt H... & Smits MA Early-life environmental variation affects intestinal microbiota and immune development in new-born piglets. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100040.
157. Song HZ, Xiao K, Ke YL, Jiao LF, Hu CH. Zinc oxide influences mitogen-activated protein kinase and TGF- $\beta$ 1 signaling pathways, and enhances intestinal barrier integrity in weaned pigs. *Innate Immun*. 2015; 21:341e8.
158. Subramaniam MD, Kim IH. Clays as dietary supplements for swine: a review. *J Anim Sci Biotechnol*. 2015; 6:1–9.
159. Suiryanrayna MV, Ramana JV. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *J Anim Sci Biotechnol*. 2015; 6:1–11.
160. Sun Y & Kim SW. Intestinal challenge with enterotoxigenic *Escherichia coli* in pigs, and nutritional intervention to prevent postweaning diarrhea. *Anim Nutr*. 2017; 3(4), 322-330.
161. Swearingen MC, Sabag-Daigle A, Ahmer BMM. Are there acyl-homoserine lactones within mammalian intestines? *J Bacteriol*. 2013; 195:173–9. doi: 10.1128/JB.01341-12
162. Tactacan GB, Cho SY, Cho JH, Kim IH. Performance responses, nutrient digestibility, blood characteristics, and measures of gastrointestinal health in weanling pigs fed protease enzyme. *Asian Australas J Anim Sci*. 2016; 29:998–1003.
163. Tajima K, Ohmori H, Aminov RI, Kobashi Y, Kawashima T. Fermented liquid feed enhances bacterial diversity in piglet intestine. *Anaerobe*. 2010; 16(1):6–11
164. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 2014; 121:91–119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9

165. Thompson JA, Oliveira RA, Djukovic A, Ubeda C, Xavier KB. Manipulation of the quorum sensing signal AI-2 affects the antibiotic-treated gut microbiota. *Cell Rep.* 2015; 10:1861–71. doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.049
166. Tian L, Bruggeman G, van den Berg M, Borewicz K, Scheurink AJ, Bruininx E, ... & Gruppen H. Effects of pectin on fermentation characteristics, carbohydrate utilization, and microbial community composition in the gastrointestinal tract of weaning pigs. *Mol Nutr & Food Res.* 2017; 61(1): 1600186.
167. Trckova M, Faldyna M, Alexa P, Sramkova Zajacova Z, Gopfert E, Kumprechtova D, et al. The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets. *J Anim Sci.* 2014; 92:767–74.
168. Trevisi P, Colombo M, Priori D, Fontanesi L, Galimberti G, Calò G, Motta V, Latorre R, Fanelli F, Mezzullo M, Pagotto U, Gherpelli Y, D'inca R and Bosi P. Comparison of three patterns of feed supplementation with live *Saccharomyces cerevisiae* yeast on postweaning diarrhea, health status, and blood metabolic profile of susceptible weaning pigs orally challenged with *Escherichia coli* F4ac. *J Anim Sci.* 2015; 93, 2225–33.
169. Tsukahara T, Ushida K. Organic acid profiles in feces of pigs with pathogenic or non-pathogenic diarrhea. *J Vet Med Sci.* 2001; 63:1351–4. doi: 10.1292/jvms.63.1351
170. Ushida K, Tsuchida S, Ogura Y, Toyoda A, Maruyama F. Domestication and cereal feeding developed domestic pig-type intestinal microbiota in animals of suidae. *Anim Sci J.* 2016; 87:835–41. doi: 10.1111/asj.12492
171. Valeriano VD, Balolong MP, Kang D-K. Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: insights from gut microbiota. *J Appl Microbiol.* 2017; 122:554–67. doi: 10.1111/jam.13364
172. Valeriano VDV, Balolong MP & Kang DK. Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: insights from gut microbiota. *J Appl Microbiol.* 2017; 122(3), 554-67.
173. Van Zyl RL, Seatlholo ST, Van Vuuren SF, Viljoen AM. The biological activities of 20 nature identical essential oil constituents. *J Essent Oil Res.* 2006; 18:129e33.

174. Vondruskova H, Slamova R, Trckova M, Zraly Z, Pavlik I. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: a review. *Vet Med*. 2010; 55:199–224.
175. Walter BM, Bilkei G. Immunostimulatory effect of dietary oregano etheric oils on lymphocytes from growth-retarded, low-weight growing-finishing pigs and productivity. *Tijdschr Diergeneeskd*. 2004; 129:178–81.
176. Wang A, Yu H, Gao X, Li X, Qiao S. Influence of *Lactobacillus fermentum* I5007 on the intestinal and systemic immune responses of healthy and *E coli* challenged piglets. *Ant Van Leeuwenhoek* 2009a; 96:89e98.
177. Wang AN, Yi XW, Yu HF, Dong B, Qiao SY. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. *J Appl Microbiol* 2009b; 107:1140e8.
178. Wang J, Han Y, Zhao JZ, Zhou ZJ, Fan H. Consuming fermented distillers' dried grains with solubles (DDGS) feed reveals a shift in the faecal microbiota of growing and fattening pigs using 454 pyrosequencing. *J Integr Agric*. 2017; 16(4):900–910
179. Wang C & Shi C & Zhang Y & Song D & Lu Z & Wang Y. Microbiota in fermented feed and swine gut. 2018. *Appl Microbiol Biotech*. 2018; 102:2941–2948. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8829-4>
180. Wiegel J, Tanner R, Rainey FA. An introduction to the family Clostridiaceae BT. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, ed. *The Prokaryotes, Vol. 4, Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. New York, NY: Springer US (2006). pp. 654–78. doi: 10.1007/0-387-30744-3\_20
181. Wiley NC, Dinan TG, Ross RP, Stanton C, Clarke G, Cryan JF. The microbiota-gut-brain axis as a key regulator of neural function and the stress response: implications for human and animal health. *J Anim Sci*. 2017; 95:3225–46. doi: 10.2527/jas.2016.1256
182. Williams BB, Van Benschoten AH, Cimermancic P, Donia MS, Zimmermann M, Taketani M, et al. Discovery and characterization of gut microbiota decarboxylases that can produce the neurotransmitter tryptamine. *Cell Host Microbe*. 2014; 16:495–503. doi: 10.1016/j.chom.2014.09.001

183. Windisch W; Schedle K; Plitzner C; Kroismayr A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci.* 2008; 86 (Suppl. 14): E140–E148.
184. Winter SE, Winter MG, Xavier MN, Thiennimitr P, Poon V, Kestra AM ... & Popova IE. Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut. *Science.* 2013; 339(6120): 708-11.
185. Xiao L, Feng Q, Liang S, Sonne SB, Xia Z, Qiu X, et al. A catalog of the mouse gut metagenome. *Nat Biotechnol.* 2015; 33:1103. doi: 10.1038/nbt.3353
186. Xiong W, Sun Y, Zhang T, Ding X, Li Y, Wang M, et al. Antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in fresh water aquaculture environment in China. *Microb Ecol.* 2015; 70:425–32. doi: 10.1007/s00248-015-0583-x
187. Yan L, Meng QW, Kim IH. The effect of an herb extract mixture on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and fecal noxious gas content in growing pigs. *Livest Sci.* 2011; 141:143–7.
188. Yang H, Huang X, Fang S, He M, Zhao Y, Wu Z, et al. Unraveling the fecal microbiota and metagenomic functional capacity associated with feed efficiency in pigs. *Front Microbiol.* 2017; 8:1555. doi: 10.3389/fmicb.2017.01555
189. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell.* 2015; 161:264–76. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.047
190. Yin FG, Farzan A, Wang Q, Yu H, Yin YL, Hou YQ, Friendship R, Gong JS. Reduction of *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* DT104 infection in experimentally challenged weaned pigs fed a *Lactobacillus*-fermented feed. *Foodborne Pathog Dis.* 2014; 11(8):628–34
191. Zhai H, Liu H, Wang S, Wu J & Klueenter AM. Potential of essential oils for poultry and pigs. *Anim Nutr.* 2018; 4(2), 179-86.
192. Zeng ZK, Xu X, Zhang Q, Li P, Zhao PF, Li QY, et al. Effects of essential oil supplementation of a Low-Energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. *Anim Sci J.* 2014. doi:10.1111/asj.12277 (Published online).

193. Zeng Z, Zhang S, Wang H, & Piao X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. *J Anim Sci Biotech.* 2015; 6(1): 7.
194. Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunol.* 2017; 10:18e26.
195. Zhai H, Liu H, Wang S, Wu J, Kluentner AM. Potential of essential oils for poultry and pigs. *Anim Nutr.* 2018; 4(2): 179-86.
196. Zhang S, Jung JH, Kim HS, Kim BY, Kim IH. Influences of phytoncide supplementation on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, diarrhea scores and fecal microflora shedding in weaning pigs. *Asian-Austral J Anim Sci.* 2012; 25:1309–15.
197. Zhang Y, Wang QC, Yu H, Zhu J, de Lange K, Yin Y, Wang Q, Gong J. Evaluation of alginate–whey protein microcapsules for intestinal delivery of lipophilic compounds in pigs. *J Sci Food Agric.* 2016; 96: 2674–81.
198. Zhao PY, Kim IH. Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. *Anim Feed Sci Technol.* 2015; 200:86e92.
199. Zheng Y, Chaudhry A, Kas A, deRoos P, KimJM, Chu T-T, et al. Regulatory Tcell suppressor program co-opts transcription factor IRF4 to control T(H)2 responses. *Nature.* 2009; 458:351–6. doi: 10.1038/nature07674
200. Zhou D, Zhu Y-H, Zhang W, Wang M-L, Fan W-Y, Song D, Yang G-Y, Jensen BB and Wang J-F. Oral administration of a select mixture of Bacillus probiotics generates Tr1 cells in weaned F4ab/acR– pigs challenged with an F4+ ETEC/VTEC/EPEC strain. *Vet Res.* 2015; 46: 95.
201. Zhu C, Lv H, Chen Z, Wang L, Wu X, Chen Z, et al. Dietary zinc oxide modulates antioxidant capacity, small intestine development, and jejunal gene expression in weaned piglets. *Biol Trace Elem Res.* 2016. doi:10.1007/s12011-016-0767-3.