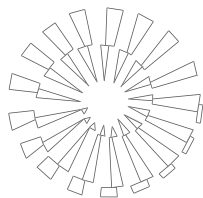


Algunos factores fisiológicos y nutricionales que afectan la incidencia de diarreas posdestete en lechones



Some physiological and nutritional factors affecting the incidence of post-weaning diarrhea in piglets

Tércia Cesária Reis de Souza* Gerardo Mariscal Landín** Konisgmar Escobar García*

Abstract

Weaning causes disturbances in the digestive function and intestinal health of piglets and is almost always associated with a severe growth depression and diarrhea. For this reason antibiotics in sub-therapeutic doses are often added to feed to prevent diarrhea and as growth promoters. However, due to the ban of antibiotics in feedstuffs in different parts of the world, an increase in post-weaning diarrhea in piglets has been observed. Several nutritional strategies have been used as control measures. This work reviews some aspects of nutrition, digestive physiology, intestinal microflora in weaned piglets and their relationship with post-weaning diarrhea. It is concluded that the use of probiotics and prebiotics in pig starter diets may be an alternative to replace antibiotics in post-weaning diarrhea control. Fed piglets after weaning with a low crude protein diet (17%) instead to high crude protein diets (23% or more), may also be an efficient strategy to diarrhea control through the reduction in the urea nitrogen level in plasma and the production of microbial toxic metabolites such as ammonia, which indicates a reduction in the fermentation of proteins and contributes to maintain intestinal health.

Key words: PIGLETS, WEANING, CRUDE PROTEIN LEVEL, DIARRHEA.

Resumen

El destete produce perturbaciones en el funcionamiento digestivo y en la salud intestinal de los lechones y casi siempre se asocia con una severa depresión del crecimiento y diarrea. Por ello, con frecuencia se agregan dosis subterapéuticas de antibióticos al alimento como medida preventiva contra las diarreas y como promotores de crecimiento. Sin embargo, debido a la prohibición del uso de antibióticos en la alimentación animal, en diferentes partes del mundo se ha observado un incremento de las diarreas posdestete en lechones. Para contrarrestar este problema se ha promovido el uso de estrategias nutricionales como medidas de control. El presente trabajo tuvo como objetivo revisar algunos aspectos relacionados con la nutrición, la fisiología digestiva, la microbiota intestinal de lechones recién destetados y su relación con las diarreas posdestete. Se concluyó que el uso de probióticos y prebióticos en las raciones iniciadoras puede ser una alternativa para reemplazar los antibióticos en control de las diarreas posdestete. Alimentar a los lechones después del destete con dietas con niveles bajos de proteína cruda (17% de PC, en lugar de 23% o más) también puede ser una estrategia eficiente para controlar diarreas. Esto a través de la reducción del nivel de nitrógeno ureico plasmático y de la producción de metabolitos microbianos tóxicos, como el amoníaco, lo que indica una reducción en la fermentación de proteínas y contribuye a mantener la salud intestinal.

Palabras clave: LECHONES, DESTETE, NIVEL DE PROTEÍNA CRUDA, DIARREA.

Recibido el 3 de diciembre de 2009 y aceptado el 12 de agosto de 2010.

Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, Av. de las Ciencias s/n. Juriquilla, 76000, Querétaro, Querétaro, México.

**CENID Fisiología INIFAP, km 1 Carretera a Colón, 76280, Ajuchitlán, Colón, Querétaro.

Correspondencia: Tércia Cesária Reis de Souza, Tel.: (442) 1 92 12 00, extensión 5391, Fax: (442) 2342958, Correo electrónico: tercia@uaq.mx

Introduction

Weaning of piglets alters digestive functioning and intestinal health. Maternal milk ingestion suppression is not immediately compensated by appropriate water consumption or by enough saliva and gastrointestinal secretion production. Under these conditions, the inherent stress of this stage may cause increased peristaltic movements and even an abrupt interruption of the synthesis of certain enzymes, giving origin to diarrheas on the same day they are weaned.¹ These problems become more serious in early-weaned piglets, when they are compared to those weaned at four and six weeks of age.² Nevertheless, in organic pigs production, where weaning is later (seven weeks in Denmark), post-weaning diarrheas are also a problem.³

A piglet that has been recently weaned demands a high amount of energy for physiological processes related to body development and maturation of the immunological system.⁴ Paradoxically, the necessary digestive capacity for piglets to use nutrients best is quite limited during the post-weaning period, since the organs of the gastrointestinal tract are not well developed and the activity of the digestive secretions is low.⁵ The problem is graver with vegetable origin proteins, since they are less susceptible to enzymatic digestion than those of animal origin.⁶ Thus during the post-weaning period, when the piglet starts consuming solid diets based on vegetable raw materials, there is an increased susceptibility to gastrointestinal disorders.¹ The above contributes to making this period the most critical one during the lifespan of the pig, since there is a phase of anorexia and undernourishment⁷ that affects digestive physiology and development of the animals. During the last decades there have been great advances in the formulation of rations for the first rearing phase, in order to adapt piglets to a post-weaning diet based on vegetable origin carbohydrates and proteins, thus reducing the risk of post-weaning diarrheas. These diets normally include antibiotics at doses below therapeutic levels⁸ as a diarrhea prevention measure and growth promoters.⁹ Nevertheless, recently due to the ban of antibiotics in animal feed in different parts of the world, post-weaning diarrheas (PWD) have increased in piglets.¹⁰ In order to block this problem, the use of nutritional strategies has been promoted to control PWD,^{8,9,11-14} including the manipulation of the diet ingredients in order to modify pathogenic and commensal bacterial populations.² Among the proposed nutritional solutions, the reduction of crude protein levels (CP) in the diet has been one of the most studied alternatives^{2,3,10,13,15-19} to reduce digestive problems in piglets. The objective of this study was to review certain aspects related to the nutrition of newly

Introducción

El funcionamiento digestivo y la salud intestinal de los lechones son perturbados por el destete. La supresión de la leche materna no es inmediatamente compensada por un consumo adecuado de agua o por una suficiente secreción salival o gastrointestinal. En este contexto, el estrés inherente a esta etapa puede ocasionar un aumento del peristaltismo y hasta una interrupción abrupta de la síntesis de algunas enzimas; originando diarreas en el mismo día del destete.¹ Esta problemática resultó ser más importante en lechones destetados a una edad temprana, cuando se compararon a cuatro y seis semanas de edad;² sin embargo, en la producción de cerdos orgánicos, en la cual el destete se realiza más tardíamente (siete semanas en Dinamarca), las diarreas posdestete también son un problema.³

El lechón recién destetado es un animal altamente demandante de energía para los procesos fisiológicos relacionados con el desarrollo corporal y la maduración de su sistema inmunológico.⁴ Paradójicamente, la capacidad digestiva necesaria para que los lechones aprovechen los nutrimentos es bastante limitada en el periodo posdestete, pues los órganos del tracto gastrointestinal están poco desarrollados y la actividad de las secreciones digestivas es baja;⁵ el problema es más grave con las proteínas de origen vegetal, pues son menos susceptibles a la digestión enzimática que las de origen animal.⁶ Así, en el periodo posdestete, cuando el lechón empieza a consumir dietas sólidas con base en materias primas vegetales, se incrementa su susceptibilidad a los desórdenes gastrointestinales.¹ Lo anterior contribuye a que este periodo sea el más crítico en la vida del cerdo, pues se presenta una fase de anorexia y subnutrición⁷ que repercute en la fisiología digestiva y en el desarrollo de los animales. En las últimas décadas se ha observado un gran avance en la formulación de las raciones de la primera fase de la crianza, para adaptar a los lechones a una dieta posdestete a base de carbohidratos y de proteínas de origen vegetal, reduciendo así el riesgo de las diarreas posdestete. Estas dietas normalmente incluyen dosis subterapéuticas de antibióticos⁸ como una medida preventiva contra las diarreas y como promotores de crecimiento.⁹ Sin embargo, recientemente, debido a la prohibición del uso de antibióticos en la alimentación animal en diferentes partes del mundo, han incrementado las diarreas posdestete (DPD) en lechones.¹⁰ Para contrarrestar este problema se ha promovido el uso de estrategias nutricionales como medidas de control de las DPD,^{8,9,11-14} incluyendo la manipulación de los ingredientes de la dieta para modificar las poblaciones bacterianas patógenas y comensales.² Entre las soluciones nutricionales

weaned piglets and the consequences on digestive physiology and intestinal microbiota; and to analyze the efficacy of certain nutritional strategies in the reduction of incidence and severity of post-weaning diarrheas.

Weaning and digestive physiology

At the time of piglet weaning, the change from milk feeding to a solid diet is frequently associated with a severe growth depression and the presence of diarrhea giving way to the so-called “post-weaning diarrhea syndrome” with a multiple factor etiology (handling, diet composition, hygiene, among others); anorexia and undernourishment are important factors that trigger this syndrome.^{3,14,20-24} Figure 1 illustrates how these factors interact turning into diarrheal processes. During the first 24 to 36 hours after weaning, changes in the small intestinal mucosa are observed at the functional and structural levels, mainly villi atrophy and hypertrophy of Lieberkühn crypts with a reduction between 20% to 30% of this organ's weight.^{23,24} Also, certain anti-nutritional factors found in vegetable origin proteins may cause hypersensitivity reactions at the intestinal epithelium level, compromising intestinal health even more as well as its enzymatic activity. Taking also into consideration morphological alterations of the intestinal villi, with the loss of mature enterocytes rich in digestive enzymes, that are observed during the post-weaning period, there is a reduction of brush border enzyme activity.^{22,25} Interaction between pancreatic enzymes, trypsin and chymotrypsin, with anti-trypsin factors reduces their activities, since they compete for the enzyme-substrate point of union, affecting protein digestibility of the diet.²⁶ Through molecular studies it was observed that immediately after weaning the levels of messenger RNA (mRNA) in the pancreas are low and therefore there is a reduction in pancreatic enzyme synthesis during this period.²⁴ Nevertheless, a few days later, pancreatic levels of mRNA and enzymatic activity were restored, with the exception of lipase activity. During this period, digestive enzymes have low synthesis, secretion and activity, and the digestive process is highly compromised and the non-digested and non-absorbed nutrients that are present in the intestinal lumen serve as substrate for enteropathogenic bacteria such as *E. coli*, with their subsequent proliferation, causing diarrheas (colibacillosis) that may increase morbidity and mortality during post weaning stage.²⁷ Intestinal health may be maintained and colibacillosis effects minimized if weaning age is increased and diet protein level is reduced;² this is especially important in early-weaning, especially under environments that are adverse to piglet health. Table 1 summarizes the

propuestas, la reducción del nivel de proteína cruda (PC) dietaria ha sido una de las alternativas más estudiadas^{2,3,10,13,15-19} para disminuir los problemas digestivos en los lechones. El presente trabajo tuvo como objetivo revisar algunos aspectos relacionados con la nutrición de los lechones recién destetados, y sus consecuencias en la fisiología digestiva y en la microbiota intestinal; y analizar la eficacia de algunas estrategias nutricionales en la reducción de la incidencia y severidad de las diarreas posdestete.

El destete y la fisiología digestiva

Al momento del destete de los lechones, el cambio de la alimentación láctea por una ración sólida está frecuentemente asociado con una severa depresión del crecimiento y con la presencia de diarrea, dando lugar al denominado “síndrome de las diarreas posdestete”, con una etiología multifactorial (manejo, composición de las dietas, higiene, entre otros); la anorexia y la subnutrición son los factores desencadenantes más importantes de este síndrome.^{3,14,20-24} La Figura 1 ilustra cómo interactúan los factores que conducen a los procesos diarreicos. Durante las primeras 24 a 36 horas posdestete se observan cambios en la mucosa del intestino delgado a nivel funcional y estructural, principalmente con atrofia de las vellosidades e hipertrofia de las criptas Lieberkühn, con una reducción de entre 20 y 30% del peso de este órgano.^{23,24} Aunado a ello, algunos factores antinutrimientales presentes en las proteínas dietarias de origen vegetal pueden causar reacciones de hipersensibilidad a nivel del epitelio intestinal, agravando aún más la salud intestinal y su actividad enzimática. Considerando también que las alteraciones morfológicas de las vellosidades intestinales, con las pérdidas de enterocitos maduros ricos en enzimas digestivas, observadas en el periodo posdestete, traen como consecuencia una disminución en la actividad de las enzimas del borde de cepillo.^{22,25} La interacción de las enzimas pancreáticas, tripsina y quimotripsina, con los factores antitripsicos, disminuye sus actividades, pues éstos compiten por el punto de unión enzima-sustrato, afectando la digestión de las proteínas provenientes de la dieta.²⁶ A través de estudios moleculares se observó que inmediatamente después del destete, los niveles de ARN mensajero (ARNm) en el páncreas son bajos, por lo que hay una disminución en la síntesis de las enzimas pancreáticas en este periodo.²⁴ Sin embargo, pocos días después, los niveles pancreáticos de ARNm y la actividad enzimática fueron restaurados, con excepción de la actividad de la lipasa. Durante este periodo de baja síntesis, secreción y actividad de las enzimas digestivas, el proceso digestivo está altamente comprometido y los nutrimentos no digeridos y

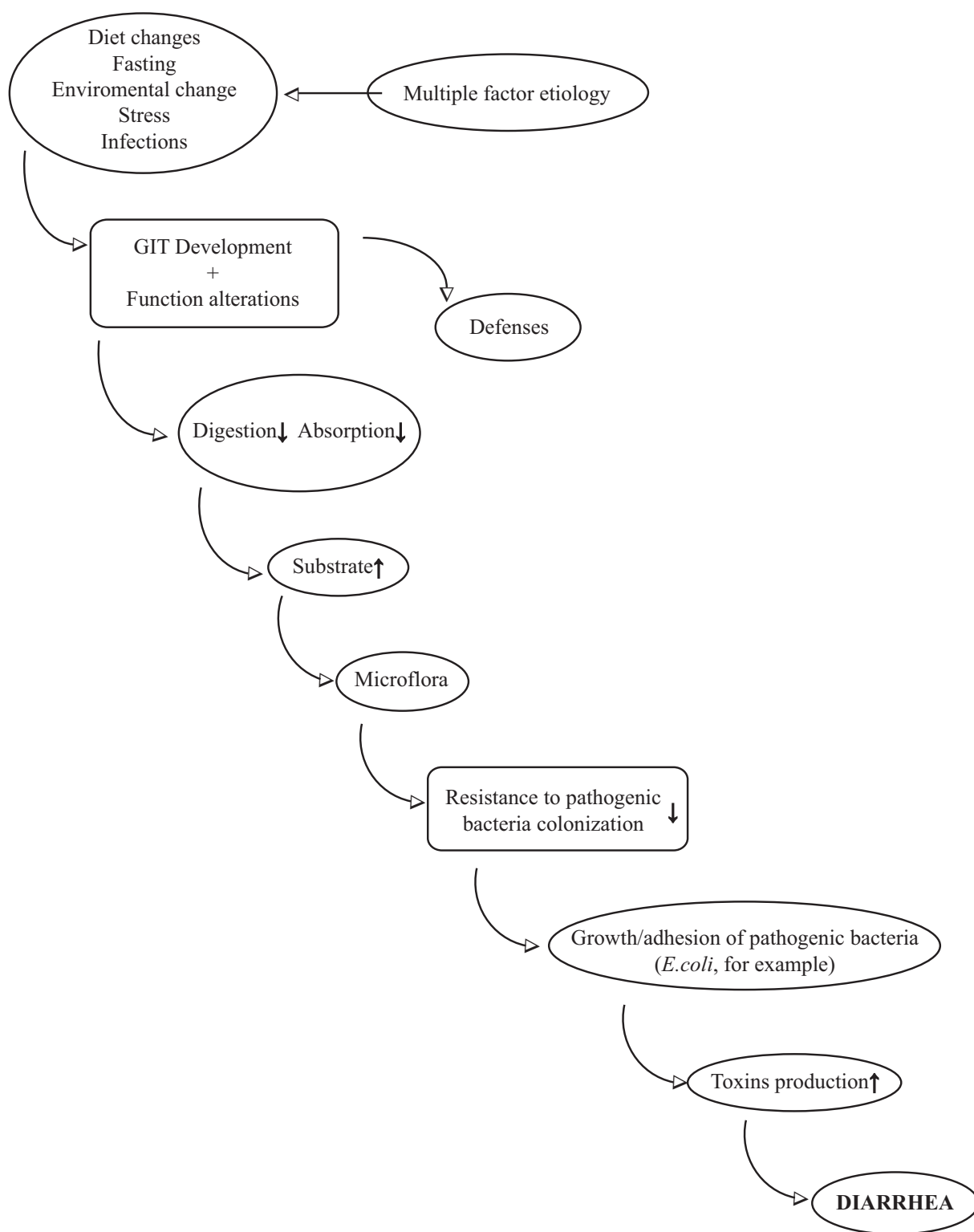


Figura 1. Procesos que desencadenan el síndrome de las diarreas posdestete.²² Las flechas ↓ indican una disminución y las ↑ un incremento del factor considerado.
TGI = tracto gastrointestinal.

Figure 1. Processes that trigger post-weaning diarrheal syndrome.²² Downward arrows ↓ indicate a reduction and upward arrows ↑ an increase of the factor taken into consideration.
GIT = gastrointestinal tract.

above, presenting the context within which weaning is carried out, the induced enteric disorders and the main risk factors for the presentation of post-weaning diarrheas.²⁴

Digestive use of nutriment and diarrheas

It is known that digestibility of a nutriment is a consequence of the digestive process and an

no absorbidos, presentes en la luz intestinal, sirven de sustrato para las bacterias enteropatógenas (*E. coli*, por ejemplo), haciendo que éstas proliferen y causen enfermedades diarreicas (colibacilosis) que pueden aumentar la morbilidad y la mortalidad en la etapa posdestete.²⁷ Aumentando la edad al destete y disminuyendo el nivel de proteína dietaria se puede contribuir a mantener la salud intestinal y minimizar los efectos de la colibacilosis posdestete.² Disminuir el

Cuadro 1

CONTEXTO EN QUE SE REALIZAN LOS DESTETES, DESÓRDENES INTESTINALES INDUCIDOS Y PRINCIPALES FACTORES DE RIESGO²⁴

CONTEXT WHEREIN WEANINGS TAKE PLACE, INDUCED INTESTINAL DISORDERS AND MAIN RISK FACTORS²⁴

Context: weaning is directly related to animal immaturity added to multiple factor origin stress.

- *Immaturity of the animal in terms of:*
 - Behavior (in general and feeding).
 - Gastrointestinal tract functioning (secretion, motility, absorption, defense, etcetera).
 - Immune system (intestinal and general).
- *Psychological stress*
 - Abrupt separation from the mother.
 - Mixture with piglets of other litters.
 - New environment (nursery, production unit, farm, etcetera).
- *Nutritional stress*
 - Milk suspension: highly palatable and digestible liquid, etcetera).
 - Dry feed access (solid, less palatable, less digestible).
 - Access to drinking water separate from feed.

Induced intestinal disorders

- *Alterations in intestinal architecture and function:*
 - Morphology: villi atrophy followed by crypt hypertrophy.
 - Reduction of intestinal digestive enzymes activity.
 - Intestinal absorption, secretion and membrane permeability alterations
- *Associated enteric pathogens:*
 - Bacteria (enteric toxigenic or pathogenic *Escherichia coli*).
 - Virus: rotavirus.

Principal risk factors

- *Nutritional factors:*
 - Low or erratic feed consumption.
 - Presence of anti-nutritional factors (anti-trypsin factor, lectins, antigens, etcetera).
 - Diets with complex components that have low digestibility (vegetable proteins and carbohydrates).
 - High protein levels (high buffering capacity).
 - *Handling*
 - Numerous litter/ low weaning weight.
 - High piglet density in weaning installations.
 - Low hygienic level.
 - Not appropriate environment (low temperature, low quality air, etcetera).
-

indirect estimate of their absorption and therefore it is a measure of nutritional value of feed. From the evaluation of digestibility of the different nutriment in the starter diet, it is possible to measure the digestive capacity of the animal and the degree of tolerance it has to feed.²⁸ Digestibility is mathematically expressed as the difference between the ingested and the excreted amounts of a nutriment, divided by the ingested amount.²⁹ In a review of the literature³⁰ different forms of nutriment digestibility expression are discussed. Ileal level measurements are more appropriate to express the availability of dietary protein and fat in the digestive apparatus of the newly weaned piglet,³¹ since the microorganisms of the large intestine use nutrients that have not been absorbed in their passing through the intestine up to the ileum, increasing fecal digestibility values significantly.³²⁻³⁴ Nevertheless, the expression of fecal digestibility is more appropriate to estimate the use of feed dry matter and therefore its energy,³⁵ due to the importance of bacterial fermentation of non-amylaceous polysaccharides of feed, that generate short chain volatile fatty acids that are strong source of energy for animals.³⁶

There is a negative relationship between the apparent fecal digestibility of energy and the presence of diarrhea.³⁷ For example, pea starch has lower digestibility than the one from cereals and its incomplete digestion in the small intestine can increase the fermentation process in the large intestine, which corresponds to an increase in fecal digestibility of energy.³⁸ In consequence excessive fermentation in the caecum and colon causes diarrheas and dehydration.³⁸ It is known that protein components of vegetable origin have lower ileal digestibility than those of animal origin.³⁹ Diet protein that exceeds digestion and absorption capabilities, together with the one of endogenous origin that was not digested and not reabsorbed in the small intestine, continue into the large intestine where microbial flora ferments it, producing toxic products such as ramified chain volatile acids, biogenic amines, phenolic compounds, ammonia and sulfhydryric acid that can harm animal health and cause diarrheas as well as detrimental effects on their development.^{13,40} In several bibliographical reviews^{11,41-44} the effect of proteinic fermentation and synthesis of toxic compounds in the large intestine are analyzed.

Both weeks that follow weaning represent the most difficult period for the digestive use of nutriment and it is when the piglets are more sensitive to different factors that negatively affect digestibility in the anterior digestive tract.⁴⁵ Perhaps that is the reason why at this age they are more susceptible to gastrointestinal disorders.¹⁸

contenido de proteína dietaria suele ser especialmente importante en los destetes precoces, particularmente en ambientes adversos a la salud de los lechones. En el Cuadro 1 se resumen los puntos anteriormente mencionados, presentando el contexto en que se desarrolla el destete, los desórdenes entéricos inducidos y los principales factores de riesgo para la aparición de las diarreas posdestete.²⁴

Utilización digestiva de los nutrimentos y diarreas

Se sabe que la digestibilidad de un nutrimento es una consecuencia del proceso digestivo y una estimación indirecta de su absorción es, por tanto, una medición del valor nutritivo de los alimentos. A partir de la evaluación de la digestibilidad de los diferentes nutrimentos de la ración de destete, es posible medir la capacidad digestiva del animal y su grado de tolerancia a los alimentos.²⁸ La digestibilidad se expresa matemáticamente como la diferencia de la cantidad ingerida y la excretada de un nutrimento, entre la cantidad ingerida.²⁹ En una revisión bibliográfica³⁰ se discuten las diferentes formas de expresión de la digestibilidad de los nutrimentos. Las mediciones a nivel ileal son más apropiadas para expresar la disponibilidad de la proteína y de la grasa dietaria en el aparato digestivo de los lechones recién destetados,³¹ debido a que los microorganismos del intestino grueso utilizan los nutrimentos no absorbidos hasta el íleon, aumentando los valores de digestibilidad fecal de manera significativa.³²⁻³⁴ Sin embargo, la expresión de la digestibilidad fecal es la más apropiada para estimar la utilización de la materia seca del alimento y, consecuentemente, de su energía,³⁵ dada la importancia de la fermentación bacteriana de los polisacáridos no amiláceos de los alimentos, la cual genera ácidos grasos volátiles de cadena corta, que son fuente de energía para los animales.³⁶

Existe una relación negativa entre la digestibilidad fecal aparente de la energía y la presencia de diarreas.³⁷ Por ejemplo, el almidón de chícharos tiene una menor digestibilidad ileal que el proveniente de los cereales, y su incompleta digestión en el intestino delgado puede llevar a un incremento del proceso fermentativo en el intestino grueso, lo que corresponde a un aumento en la digestibilidad fecal de la energía.³⁸ Como consecuencia de la excesiva fermentación en el ciego y colon se provocan diarreas y deshidratación.³⁸ Se sabe que los componentes proteínicos del alimento de origen vegetal tienen menor digestibilidad ileal que los de origen animal.³⁹ La proteína dietaria que excede la capacidad de digestión y absorción, además de la de origen endógeno no digerida y no reabsorbida en el intestino delgado, pasan al intestino

Digestive tract health and intestinal microbiota

Intestinal health may be defined as the capacity of the gastrointestinal tract (GIT) to maintain itself in balance, since it is a constantly changing ecosystem.⁴⁶ Diet, mucosa, and commensal microbiota are three main components of intestinal health. Certain components of the diet for weaned piglets, such as soy paste may harm intestinal mucosa, cause intestinal liquid accumulation and predispose the piglet to post-weaning diarrhea.¹¹ Development of the immune system of the intestinal mucosa depends on commensal and pathogenic bacteria colonization.⁷ Mucosa is formed by digestive epithelium, lymphoid tissue associated with the intestine (LTAI) and mucus that covers the epithelium. LTAI, commensal microbiota and mucus interact with host cells; generate a sensitive and dynamic balance in the GIT, insuring correct functioning of the digestive process.⁴⁷

In animal nutrition, the challenge created by the ban of antimicrobial growth promoters has called for a search of instruments capable of rendering better knowledge of intestinal microbiota components, in other words, the set of microorganisms that form one of the most interesting symbiotic microcosms of the animal kingdom.⁴⁸ GIT microbiota is a complex ecosystem that contains several thousands of bacterial species that have an important role in intestinal health, preventing colonization by potentially pathogenic microorganisms.⁴⁹ Traditionally, studies that analyzed the effects of raw materials or additives would use classic microbiology to count certain microorganisms, that in general were easily cultured, allowing a partial vision of the changes that might happen in the digestive tube lumen.⁴⁸ Nevertheless, only between 0.1% and 10% of the bacteria in this environment can be grown in the laboratory,⁵⁰ since many of the strictly anaerobic microorganisms are undetectable with conventional microbiological culture techniques.^{40,51,52} These limitations in culture techniques are overcome with the development of the molecular tools, which allow the detection and identification of bacteria based on ARNr 16S gene diversity sequencing. Thanks to these techniques, knowledge about the development and modifications to microbial flora composition in the intestine has greatly advanced during the last few years. Recently, phylogeny analysis of ARNr 16S gene subunit from swine GIT, revealed a very complex microbial population whose most bacterial species have not been characterized yet.⁵³ Authors of this study gathered a library of 4,270 clone sequences of the ARNr 16S gene, representing 375 phylotypes from the ileum, caecum, and colon of pigs between 12 and 18 weeks of age. These thousands of bacterial species

grueso y la flora microbiana las fermenta, produciendo productos tóxicos, como ácidos volátiles de cadena ramificada, aminos biogénicos, compuestos fenólicos, amoníaco y ácido sulfhídrico que pueden ser dañinos a la salud de los animales, causando diarreas y efectos detrimentales en su desarrollo.^{13,40} En diferentes revisiones bibliográficas^{11,41-44} se discuten los efectos de la fermentación proteínica en el intestino grueso y la síntesis de compuestos tóxicos.

Las dos semanas que siguen al destete representan el período más difícil para la utilización digestiva de los nutrientes, y es cuando los lechones son más sensibles a los diferentes factores que afectan negativamente la digestibilidad en el tracto digestivo anterior.⁴⁵ Tal vez por eso a esta edad son más susceptibles a los trastornos gastrointestinales.¹⁸

La salud del tracto digestivo y la microbiota intestinal

La salud intestinal puede ser definida como la capacidad del tracto gastrointestinal (TGI) de mantenerse en equilibrio, ya que es un ecosistema en constante cambio.⁴⁶ Existen tres principales componentes de la salud intestinal: la dieta, la mucosa y la microbiota comensal. Ciertos componentes de la dieta para lechones destetados, como la pasta de soya, pueden causar daños de la mucosa intestinal, acumulación de líquido intestinal y predisponer a diarreas posdestete.¹¹ El desarrollo del sistema inmune de la mucosa intestinal depende de la colonización por bacterias comensales y patógenas.⁷ La mucosa está compuesta por el epitelio digestivo, el tejido linfóide asociado con el intestino (TLAI) y el moco que recubre el epitelio. El TLAI, la microbiota comensal y el moco interactúan con las células del hospedero, generando un sensible y dinámico equilibrio en el TGI, asegurando el correcto funcionamiento del proceso digestivo.⁴⁷

En el área de nutrición animal, el reto planteado por la prohibición de los antimicrobianos promotores de crecimiento, ha hecho que se busquen instrumentos capaces de aportar un mayor conocimiento de los componentes de la microbiota intestinal, es decir, del conjunto de microorganismos que conforman uno de los microcosmos simbióticos más interesantes del reino animal.⁴⁸ La microbiota del TGI es un ecosistema complejo que contiene varios miles de especies de bacterias, las cuales tienen un papel importante en la salud intestinal, previniendo la colonización de microorganismos potencialmente patógenos.⁴⁹ Tradicionalmente, los estudios que analizaban los efectos de las materias primas o aditivos sobre la microbiota intestinal recurrían a la microbiología clásica para hacer recuentos de algunos microorganismos, en general fácilmente cultivables,

in the GIT, form a very complex ecosystem, have an important role in global wellbeing of the animal,⁵⁴ and above all in intestinal health, preventing colonization by potentially pathogenic microorganisms.⁴⁹

When they are born, piglets become exposed in the nursery to environmental microorganisms and maternal microbial flora and her feces all of which introduce bacteria that colonize the digestive tract.⁵⁴ These bacteria look for the most appropriate niche for them and compete and interact among themselves, constituting finally a relatively stable and complex population that represents the normal intestinal microbiota.⁵⁴ In the lactating piglet, dominant bacteria in the stomach and small intestine are usually lactobacilli and streptococci, both groups well adapted to the use of the available milk substrate.⁵⁴ Microbiota that develops in the large intestine shortly after birth is constituted by an extensive and varied selection of bacteria that are mostly strict anaerobes, including bacteroides, bifidobacteria, eubacteria, streptococci and lactobacilli; likewise, other microorganisms can be found in lower density such as enterobacteria. Normally, bacteroides is the most numerous genus and it may come up to 30% of the total.⁵⁵ Normal microbial flora that is established after birth interacts with the digestive and immunological systems of the body and their activities may be beneficial or harmful to the animal.⁷ Colonization of the different intestinal compartments by specific commensal bacteria, especially through the association with mucus or adhesion to the epithelial cells, serves as a first defense barrier against invading organisms or toxic substances present in the diet. At the time of weaning, during a short period, changes in intestinal microbiota occur in terms of amount and quality, which evolves into a complex and stable community.⁵² Intestinal microbiota development is a gradual and sequenced process that depends on nutritional and non-nutritional factors.^{52,56} It has been reported⁵⁷ that intestinal microbiota composition in piglets differs between individuals, even though the animals may be consuming the same diet.

Incidence and severity of post-weaning diarrheas

In experimental studies, incidence and severity of diarrheas are determined by visual appreciation of feces consistency. Most of the times a scale is used, where grades are given from 0 to 3.³⁷ Value 0 indicates normal feces and therefore no diarrhea presence; the value of 1 describes a slight pasty diarrhea; value 2, a moderate semi-liquid diarrhea; value 3 a severe very liquid diarrhea. Daily grades during the experimental period are summed and an index of severity of the

que permiten una visión parcial de los cambios que pudieron ocurrir en el interior del tubo digestivo.⁴⁸ Sin embargo, sólo entre 0.1% y 10% de las bacterias en el ambiente es cultivable,⁵⁰ ya que muchos de los microorganismos estrictamente anaeróbicos son indetectables con las técnicas microbiológicas de cultivo convencionales.^{40,51,52} Estas limitantes en las técnicas de cultivo se superan con el desarrollo de herramientas moleculares, que permiten detectar e identificar bacterias basándose en la secuenciación de la diversidad del gen ARNr 16S. Gracias a estas técnicas, los conocimientos sobre el desarrollo y las modificaciones de la composición de la flora microbiana intestinal han tenido avances importantes en los últimos años. Recientemente, análisis filogenéticos de la subunidad 16S del gen ARN proveniente del TGI de cerdos, revelaron una población microbiana muy compleja, cuyas especies bacterianas no han sido caracterizadas en su mayoría.⁵³ Estos autores reunieron una biblioteca con 4 270 secuencias clonadas del gen ARN 16S, representando 375 filotipos procedentes del íleon, ciego y colon de cerdos entre 12 y 18 semanas de vida. Estas miles de especies de bacterias del TGI, que conforman un ecosistema complejo, juegan un papel importante en el bienestar global del animal,⁵⁴ sobre todo en la salud intestinal, previniendo la colonización de microorganismos potencialmente patógenos.⁴⁹

Al nacer, los lechones quedan expuestos a los microorganismos del ambiente que les rodea, y el contacto con la flora microbiana materna y sus heces en la maternidad, introduce bacterias que colonizan su tracto digestivo.⁵⁴ Estas bacterias buscan el nicho más adecuado donde compiten e interactúan entre sí, constituyendo finalmente una población relativamente estable y compleja, que representa la microbiota intestinal normal.⁵⁴ En el lechón lactante las bacterias dominantes en el estómago e intestino delgado suelen ser lactobacilos y estreptococos, ambos grupos están bien adaptados a utilizar el sustrato lácteo disponible.⁵⁴ La microbiota que se desarrolla en el intestino grueso poco después del nacimiento, está constituida por una extensa y variada selección de bacterias mayoritariamente anaerobias estrictas, incluyendo bacteroides, bifidobacterias, eubacterias, estreptococos y lactobacilos, mientras que en menor densidad pueden encontrarse otros microorganismos, como las enterobacterias; normalmente, el género bacteroides es el más numeroso y puede representar más de 30% del total.⁵⁵ La flora microbiana normal que se establece después del nacimiento, interactúa con los sistemas digestivo e inmunológico del cuerpo y sus actividades pueden ser benéficas o dañinas para el huésped.⁷ La colonización de los diferentes compartimentos del intestino por bacterias comensales específicas, particularmente por medio de la asociación

diarrhea is estimated;³⁷ this index may be expressed by the following equation:

$$DSI = \Sigma dFC/Pe$$

where:

DSI= Diarrhea severity index.

dFC= Daily fecal consistency grade.

Ep= Experimental period (days).

Diarrhea incidence is measured taking into account the number of days in which it is present. In general, it increases between the first and third week post-weaning.¹⁸ Diarrhea severity increases during the last days of the first week post-weaning,^{3,58} and during the second week post-weaning,¹⁰ notwithstanding the consumed diet as it can be observed in Figure 2.

Probiotics, prebiotics and post-weaning diarrhea

Probiotics and prebiotics are considered functional feed since they are compounds that have positive effects over one or several functions of the organism and promote animal wellbeing.⁵⁹ Probiotics are defined as products that contain a specific, viable microorganism in sufficient amount that due to implantation or colonization alters microflora of a compartment of the gastrointestinal tract of the host, causing a beneficial effect;⁶⁰ probiotics have gained popularity as food ingredients that are functional even for humans.⁹ Their effects on human health have been studied under several conditions, although results are still not consistent, yet their efficacy has been identified in the reduction of lactose intolerance signs, duration of several types of diarrheas, bacterial enzyme activity and in stimulating the immune system.⁶¹ Positive effects of probiotic use in piglet feeding is manifested in the intestinal microbiota balance, intestinal epithelium integrity, maturation of tissues associated with the digestive tract and their neuroendocrinous function.⁶² Inclusion of bacterial cultures (probiotics) in feed was one of the first alternatives used to replace antibiotics in animal feeding.⁹ Post-weaning diarrhea control effect depends on the used microorganism.⁷ A reduction in piglet diarrheas was observed when a mixture of four lactobacilli isolated from weaned piglets was used;⁶³ and the same happened when *E. coli* Nissle strain 1917 was used.⁶⁴ Yet, with the use of yeast in piglet feed there was no observable reduction in diarrhea incidence.⁶⁵

Prebiotics are another interesting alternative to substitute antibiotics for the reduction of incidence and severity of diarrheas. Prebiotics are non-digestible feed ingredients that have a beneficial effect on the host, since they stimulate selectively growth or activity

con el moco o de la adhesión a las células epiteliales, sirve como la primera barrera de defensa contra organismos invasores o sustancias tóxicas presentes en la dieta. Al momento del destete, en un corto periodo ocurren cambios en la composición de la microbiota intestinal del lechón en términos de cantidad y calidad, la cual evoluciona a una compleja y estable comunidad.⁵² El desarrollo de la microbiota intestinal es un proceso gradual y secuencial que depende de factores nutricionales y no nutricionales.^{52,56} Se ha informado⁵⁷ que la composición de la microbiota intestinal de los lechones difiere entre individuos, aun cuando los animales consuman la misma dieta.

Incidencia y severidad de las diarreas posdestete

En los trabajos experimentales realizados, la incidencia y la severidad de las diarreas se determinan mediante la apreciación visual de la consistencia de las heces. La mayoría de las veces se emplea una escala, en la cual se atribuyen calificaciones del 0 al 3.³⁷ El valor 0 indica heces normales, por tanto, la no existencia de diarrea; el valor 1 describe una diarrea ligera, pastosa; el valor 2, una diarrea moderada, semi-líquida; y el valor 3 una diarrea severa, muy líquida. La calificación diaria se suma durante el periodo experimental y se calcula el índice de severidad de la diarrea.³⁷ Este índice se puede expresar a partir de la siguiente ecuación:

$$ISD = \Sigma CFd/Pe$$

Donde:

ISD= Índice de severidad de la diarrea.

CFd= Calificación de la consistencia fecal diaria.

Pe= Periodo experimental (días).

La incidencia de diarrea se mide en función del número de días en que se presenta. En general, esta se incrementa entre la primera y tercera semana posdestete.¹⁸ La severidad de las diarreas aumenta en los últimos días de la primera semana posdestete,^{3,58} y en la segunda semana posdestete,¹⁰ sin importar la dieta consumida, como se puede observar en la Figura 2.

Probióticos, prebióticos y diarreas posdestete

Los probióticos y los prebióticos se consideran alimentos funcionales al ser compuestos que tienen efectos positivos sobre una o varias funciones del organismo y propician bienestar en el animal.⁵⁹ Los probióticos se definen como productos que contienen un microorganismo específico, viable y en cantidad suficiente, que por implantación o colonización

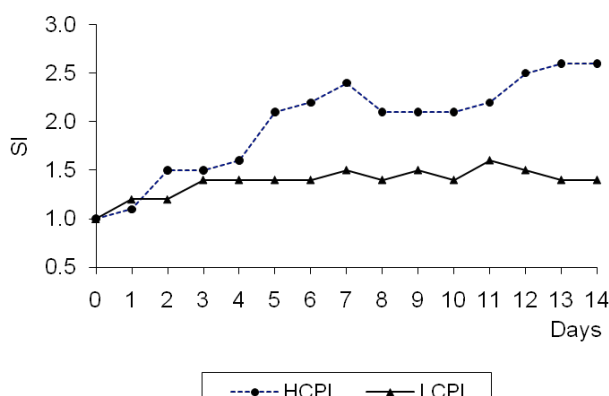


Figura 2. Índice de severidad (IS) de diarreas durante los primeros 14 días posdestete en lechones alimentados con dietas con un alto (DAPC) o bajo nivel de proteína cruda (DBPC).¹⁰

Figure 2. Severity index (SI) of diarrhea during the first 14 days after weaning of piglets fed with high crude protein level (HCPL) or low level (LCPL).¹⁰

of a bacteria or a limited number of colon bacteria, improving animal health.⁶⁶ Prebiotics are substrates for beneficial microorganisms (bifidobacteria and lactobacilli, among others), and they may be used to control post-weaning diarrhea.^{9,59} Prebiotics belong to a varied group of carbohydrates represented by oligosaccharides, such as inulin and oligofructose, or non-amylose polysaccharides, that can affect fermentation within the gastrointestinal tract and its microbiota.⁶⁶ Effect of carbohydrates on the gastrointestinal tract and *E. coli* populations and therefore on colibacillosis incidence, seem to be associated with the type of carbohydrates (soluble or insoluble; polysaccharides or oligosaccharides) present in the diet.¹¹ Bacterial population of the gastrointestinal tract of newly weaned piglets were significantly modified by the consumption of diets with beet pulp, inulin, lactulose and wheat starch.⁵²

Diets low in crude protein and post-weaning diarrhea

Post-weaning diarrhea (PWD) are considered to be within an important group of gastrointestinal diseases in swine, with a multiple factor etiology, already mentioned above (Figure 1) and associated with enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) proliferation.^{2,11,21,22} If antibiotics are not added to initiation diets during the immediate period after weaning, they must be formulated with barely 17% to 18% crude protein (CP) to avoid intestinal malfunction and diarrhea incidence.⁶⁷ Post-weaning diarrhea incidence and severity are higher in piglets fed diets with high levels of CP. (Figures 2 and 3).^{10,18,37,68} When CP level is increased in diets from 13% to 23%, feces fluidity was

altera la microflora de un compartimiento del tracto gastrointestinal de un hospedero, causando efecto benéfico.⁶⁰ Los probióticos han ganado popularidad como ingredientes alimenticios funcionales incluso para humanos.⁹ Sus efectos en la salud humana han sido estudiados bajo varias condiciones, sin todavía presentar resultados consistentes, pero se ha identificado su eficacia para reducir las señales de intolerancia a la lactosa, la duración de varios tipos de diarreas, la actividad de enzimas bacterianas y para estimular el sistema inmune.⁶¹ Los efectos positivos del uso de probióticos en la alimentación de lechones se manifiestan en el balance de la microbiota intestinal, en la integridad del epitelio intestinal en la maduración de los tejidos asociados al tracto digestivo, y en su función neuroendócrina.⁶² La inclusión de cultivos bacterianos (probióticos) a los alimentos fue una de las primeras alternativas usadas para reemplazar los antibióticos en la alimentación animal.⁹ Su efecto en el control de las diarreas posdestete depende del microorganismo utilizado.⁷ Se observó una disminución en la incidencia de diarreas en lechones cuando se empleó una mezcla de cuatro lactobacilos aislados de lechones destetados,⁶³ al igual que cuando se utilizó *E. coli* cepa Nissle 1917.⁶⁴ Sin embargo, con el uso de levaduras en la alimentación de lechones no se observó una disminución en la incidencia de diarreas.⁶⁵

Los prebióticos son otra alternativa interesante para suplir los antibióticos que disminuyen la incidencia y severidad de las diarreas. Aquellos son ingredientes alimenticios no digestibles que afectan benéficamente al hospedero, pues estimulan de forma selectiva el crecimiento o la actividad una bacteria o de un número limitado de bacterias del colon, mejorando su salud.⁶⁶ Los prebióticos son sustratos para microorganismos benéficos (bifidobacterias y lactobacilos, entre otros), y pueden ser usados para controlar diarreas posdestete.^{9,59} Los prebióticos pertenecen a un grupo muy variado de carbohidratos representados por oligosacáridos, como la inulina y oligofructosa, o polisacáridos no amiláceos, los cuales pueden afectar la fermentación del tracto gastrointestinal y su microbiota.⁶⁶ Los efectos de los carbohidratos sobre el tracto gastrointestinal y las poblaciones de *E. coli*, y consecuentemente sobre la incidencia de colibacillosis, parecen estar asociados al tipo de carbohidratos (solubles o insolubles; polisacáridos u oligosacáridos) presente en la dieta.¹¹ Las poblaciones bacterianas del tracto gastrointestinal de lechones recién destetados fueron significativamente modificadas por el consumo de dietas con pulpa de remolacha, inulina, lactulosa y almidón de trigo.⁵²

Dietas bajas en proteína cruda y diarreas

increased and there was a reduction of its dry matter, increasing the risk of post-weaning enteric disorders incidence.¹⁰ Heo *et al.*⁶⁸ concluded that diets low in CP (17.3% versus 24.3 % CP) reduced diarrhea incidence during the first seven to ten days after weaning. Similar responses were observed using diets with 23.6% and 17.6% CP,¹⁸ or reducing diet CP from 23.1% to 17.2% (Figure 3).⁶⁹ Feces with less liquid and higher amount of dry matter were obtained in piglets fed diets with more restriction in CP (from 20% to 12% CP).³ In four weeks-old piglets challenged orally with ETEC (*E. coli* 0149 239/03) on the third day post-weaning, consuming a diet with 13% of CP, had feces firmness significantly increased six days after the challenge, when compared to piglets fed with a 23% CP diet.²

A probable explanation to the dietary CP level effects on incidence and severity of PWD, is that diets low in CP (17%) in relation to diets high in CP (23% or more) help maintain intestinal health through the reduction of ureic nitrogen levels in plasma and toxic microbial metabolite production such as ammonia, which indicates a reduction in protein fermentation.^{16,19,69} Nevertheless, there are studies that indicate that dietary CP level does not affect PWD incidence. Reduction of CP level from 22.4% to 16.9% did not reduce diarrhea presentation;¹⁵ it was also observed that the presence of diarrheas and feces consistency was not affected by the level of CP in the diet (24% and 20%).¹⁷ Authors of this study believe that the good sanitary status of the experimental piglets, together with a low exposure to pathogenic bacteria could have contributed to the low incidence of PWD during the first 14 days post-weaning and the lack of response to dietary CP level reduction.

Based upon the above, it was concluded that PWD are due to a combination of factors related to physiological and immunological conditions of the GIT, as well as the chemical characteristics of initiation diets and their effect on intestinal commensal and

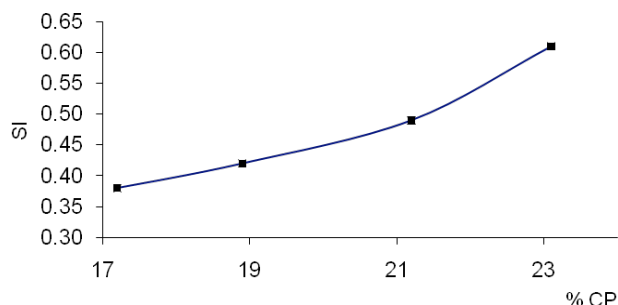


Figura 3. Efecto del nivel de proteína cruda (PC) dietaria sobre el índice de severidad (IS) de las diarreas en lechones durante los primeros 14 días posdestete.⁶⁹

Figure 3. Effect of crude protein (CP) level in the diet on severity index (SI) of piglet diarrheas during the first 14 days after weaning.⁶⁹

posdestete

Las diarreas posdestete (DPD) están consideradas dentro de un grupo importante de enfermedades gastrointestinales en los cerdos, con una etiología multifactorial, mencionada anteriormente (Figura 1) y asociada con la proliferación de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC).^{2,11,21,22} Durante el periodo inmediato al destete, si no se adicionan antibióticos a las dietas iniciadoras, es necesario que éstas se formulen con apenas 17-18% de proteína cruda (PC) para evitar el mal funcionamiento intestinal y la incidencia de diarreas.⁶⁷ La incidencia y la severidad de las diarreas posdestete son mayores en lechones alimentados con dietas altas en PC (Figuras 2 y 3).^{10,18,37,68} Al elevar el nivel de PC de las dietas de 13% a 23%, se observó un aumento en la fluidez de las heces y disminución de su materia seca, incrementando el riesgo de incidencia en desórdenes entéricos posdestete.¹⁰ Heo *et al.*⁶⁸ concluyen que dietas bajas en PC (17.3% contra 24.3% de PC) disminuyen la incidencia de diarreas en los primeros 7-10 días posdestete. Respuestas similares se observaron utilizando dietas con 23.6% y 17.6% de PC,¹⁸ o reduciendo la PC dietaria de 23.1% a 17.2% (Figura 3).⁶⁹ Con una mayor restricción de la PC dietaria (de 20% a 12% de PC)³ también se consignaron heces menos líquidas y con un mayor contenido de materia seca en los lechones alimentados con la dieta baja en PC. Se ha observado² que en lechones destetados a las cuatro semanas de vida y desafiados vía oral con ETEC (*E. coli* 0149 239/03) en el tercer día posdestete, el consumo de una dieta con 13% de PC incrementó la firmeza de las heces tres de manera significativa a seis días después del desafío en comparación con lechones alimentados con una dieta con 23% de PC.

Una probable explicación a los efectos del nivel de PC dietaria sobre la incidencia y severidad de las DPD, es que dietas bajas en PC (17%) en relación a dietas altas en PC (23% o más) ayudan a mantener la salud intestinal a través de la reducción del nivel de nitrógeno ureico en plasma y de la producción de metabolitos microbianos tóxicos como el amoníaco, lo cual indica una reducción en la fermentación de proteínas.^{16,19,69} No obstante, hay trabajos que señalan que el nivel de PC dietaria no afecta la incidencia de DPD. La reducción del nivel de PC de 22.4% a 16.9% no disminuyó la presentación de diarreas;¹⁵ tampoco se observó que la presencia de diarreas y la consistencia de las heces fuese afectada por el nivel de PC de la dieta (24% y 20%).¹⁷ Estos autores suponen que el buen estado sanitario de los lechones experimentales, además de la baja exposición a bacterias patógenas, pudieron contribuir a la baja incidencia de DPD durante los primeros 14 días posdestete y a la falta de respuesta a la reducción del

pathogenic microbial flora balance. Use of probiotics and prebiotics in initiation rations represent an alternative for the replacement of antibiotics in the control of PWD. Impact of dietary CP concentration on post-weaning diarrhea is non-conclusive, since results found by different authors are contradictory. Nevertheless, there are important evidences that piglet diets free of antibiotics, the use of low concentration of protein, help intestinal integrity during the first two weeks after weaning. This is achieved through the reduction of plasma ureic nitrogen and toxic microbial metabolite production which indicates a reduction in protein fermentation. It is probable that the addition of prebiotics or probiotics to diets with a low level of CP may generate results positive for the intestinal health of piglets and reduction in the use of antibiotics in initiation diets.

Referencias

1. BOLDUAN G, JUNG H, SCHNABEL E, SCHNEIDER R. Recent advances in nutrition of weaner piglets. *Pig News Infor* 1988; 9:382.
2. WELLOCK IJ, FORTOMARIS PD, HOUDJIK JGM, KYRIAZAKIS I. Effects of dietary protein supply, weaning age and experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection on newly weaned pigs health. *Animal* 2008; 2:834-842.
3. SØRENSEN MT, VESTERGAARD EM, JENSEN SK, LAURIDSEN C, HØJSGAARD S. Performance and diarrhea in piglets following weaning at seven weeks of age: Challenge with *E. coli* 0 149 and effect of dietary factors. *Livest Sci* 2009; 123:314-321.
4. LE DIVIDICH J, SÈVE B. Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments. *Domest Anim Endocrinol* 2000;19: 63-74.
5. CRANWELL PD. Development of the neonatal gut and enzyme systems. In: VARLEY MA, editor. *The neonatal pig development and survival*. Wallingford UK: CAB International, 1995:99-154.
6. PIERCE KM, CALLAN JJ, MCCARTHY P, O'DOHERTY JV. Effects of high dietary concentration of lactose and increased soya-bean meal inclusion in starter diets for piglets. *Anim Sci* 2004; 79:445-452.
7. LALLÈS JP, BOSI P, SMIDT H, STOKES CR. Weaning, a challenge to gut physiologists. *Livest Sci* 2007; 108:82-93.
8. FIGUEROA VJL, CHI MEE, CERVANTES RM, DOMINGUEZ VIA. Functional foods for weanling pigs. *Vet Méx* 2006; 37:117-136.
9. VERSTEGEN MWA, WILLIAMS BA. Alternatives to the use of antibiotics as growth promoters for monogastric animals. *Anim Biotechnol* 2002; 13:113-127.
10. WELLOCK IJ, FORTOMARIS PD, HOUDJIK JGM, KYRIAZAKIS I. The effect of dietary protein supply on the performance and risk of post-weaning enteric

nivel de PC dietario.

Con base en todo lo anterior, se concluyó que las DPD se deben a una combinación de factores relacionados con las condiciones fisiológicas e inmunológicas del TGI, y también con las características químicas de las dietas iniciadoras y su efecto en el equilibrio de la flora microbiana intestinal, comensal y patógena. El uso de probióticos y prebióticos en las raciones iniciadoras representa una alternativa para reemplazar los antibióticos en control de las DPD. El impacto de la concentración de PC dietaria sobre la incidencia de las diarreas posdestete no es concluyente, pues los resultados encontrados por diferentes autores son contradictorios. Sin embargo, hay evidencias importantes de que en dietas para lechones libres de antibióticos, el uso de bajas concentraciones de proteína ayuda a mantener la integridad intestinal en las dos primeras semanas posdestete; esto a través de la reducción del nivel de nitrógeno ureico plasmático y de la producción de metabolitos microbianos tóxicos como el amoníaco, lo que indica una reducción en la fermentación de proteínas. Es probable que la adición de prebióticos o de probióticos a dietas con un bajo nivel de proteína dietaria pueda generar resultados positivos para la salud intestinal de los lechones y disminuir el uso de antibióticos en las dietas iniciadoras.

disorders in newly weaned pigs. *Anim Sci* 2006; 82:327-335.

11. PLUSKE JR, PETHICK DW, HOPWOOD DE, HAMPSON DJ. Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pigs. *Nutr Res Rev* 2002; 15:333-371.
12. ROSELI M, FINAMORE A, BRITTI MS, BOSI P, OSWALD I, MENGHERI E. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of *in vitro* and *in vivo* results. *Anim Res* 2005; 54:203-218.
13. STEIN HH, KIL DY. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools. Part 2. *Anim Biotechnol* 2006; 17:227-231.
14. LALLÈS JP, BOSI P, HAUKE S, STOKES CR. Nutritional management of gut health in pigs around weaning. *Proc Nutr Soc* 2007; 66:260-268.
15. LE BELLEGO L, NOBLET J. Performance and utilization of dietary energy and amino acids in piglet fed low protein diets. *Livest Prod Sci* 2002; 76:45-58.
16. NYACHOTICM, OMOGBENIGUNFO, RADEMACHER M, BLANK G. Performance response and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets. *J Anim Sci* 2006; 84:125-134.
17. HTOO JK, ARAIZA BA, SAUER WC, RADEMACHER M, ZHANG Y, CERVANTES M *et al.* Effect of dietary protein content on ileal amino acid digestibility, growth performance, and formation of microbial metabolites

- in ileal and cecal digesta of early-weaned pigs. *J Anim Sci* 2007; 85:3303-3312.
18. REIS DE SOUZA TC, STEIN HH, MARISCAL-LANDÍN G, URRIOIA PE. Efecto del nivel de proteína y aminoácidos azufrados en dietas para lechones sobre la incidencia y severidad de diarreas posdestete. *Memorias XLIV Congreso Nacional AMVEC*; 2009 Julio 22-25; Puerto Vallarta (Jalisco), México. México DF: Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, 2009:184.
 19. WELLOCK IJ, HOUDIK JGM, MILLER AC, GILL BP, KYRIAZAKIS I. The effect of weaner diet protein content and diet quality on the long-term performance of pigs to slaughter. *J Anim Sci* 2009; 87:1261-1269.
 20. DONG GZ, PLUSKE JR. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. *Asian-Aust J Anim Sci* 2007; 20:440-452.
 21. LAINE MT, TAPANI L, MAIJA Y, MARJUKKA A. Risk factors for post-weaning diarrhea on piglets producing farm in Finland. *Acta Vet Scand* 2008; 50:21-31.
 22. DIRKZWAGER A, VELDMAN B, BIKKER P. A nutritional approach for the prevention of post weaning syndrome in piglets. *Anim Res* 2005; 54:231-236.
 23. MCCracken BA, SPURLOCK ME, ROOS MA, ZUCKERMANN FA, GASKINS HR. Weaning anorexia may contribute to local inflammation in the piglet small intestine *J Nutr* 1999; 129:613-619.
 24. LALLÈS JP, BOUDRY G, FAVIER C, LE FLOC'H N, PIÉ S, PIEL C *et al.* Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim Res* 2004; 53:301-316.
 25. KELLY D, SMYTH JA, MCCracken KJ. Digestive development of the early-weaned pig. 2. Effect of level of food intake on digestive enzyme activity during the immediate post-weaning period. *Br J Nutr* 1991; 65:181-188.
 26. LALLÈS JP, TOULLEC R. Digestion des protéines végétales et hypersensibilité digestive chez le veau prèrumiant. *INRA Prod Anim* 1996; 9:255-264.
 27. MCCracken KJ, KELLY D. Development of digestive function and nutrition/disease interactions in the weaned pig. In: FARRELL DJ, editor. *Recent advances in animal nutrition in Australia*. Armidale AU: Department of Biochemistry, Microbiology and Nutrition, University of New England, 1993:182-192.
 28. REIS DE SOUZA TC, MARISCAL-LANDÍN G. El destete, la función digestiva y de la digestibilidad de los alimentos en cerdos jóvenes. *Téc Pec Méx* 1997; 35:145-159.
 29. SAUER WC, FAN MZ, MOSENTHIN R, DROCHNER W. Methods for measuring ileal amino acid digestibility in pigs. In: D'MELLO JPF, editor. *Farm animal metabolism and nutrition*. Wallingford UK: CABI publishing, 2000:279-306.
 30. MARISCAL LG, REIS DE SOUZA TC, HERNÁNDEZ DAA, ESCOBAR KG. Pérdidas endógenas de nitrógeno y aminoácidos en cerdos y su aplicación en la estimación de los coeficientes de digestibilidad ileal de la proteína y aminoácidos de las materias primas. *Revisión. Téc Pec Méx* 2009; 47:371-388.
 31. BENGALA-FREIRE J, AUMAITRE A, PEINIAU J. Effects of feeding raw and extruded peas on ileal digestibility, pancreatic enzymes and plasma glucose and insulin in early weaned pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 1991; 65:154-164.
 32. DARRAGH AJ, HODGKINSON SM. Criteria and significance of dietary protein sources in humans. Quantifying the digestibility of dietary protein. *J Nutr* 2000; 130:1850-1856.
 33. ALBIN DM, WUBBEN JE, SMIRICKY MR, GUBERT VM. The effect of feed intake on ileal rate of passage and apparent amino acid digestibility determined with or without corrections factors in pigs. *J Anim Sci* 2001; 79:1250-1258.
 34. STEIN HH, KIM SW, NIELSEN TT, EASTER RA. Standardized ileal protein and amino acid digestibility by growing pigs and sows. *J Anim Sci* 2001; 79:2113-2122.
 35. REIS DE SOUZA TC. Conséquences digestives, métaboliques et zootechniques de l'incorporation des lipides dans la ration du porcelet au sevrage (tesis de doctorado). Rennes Francia: Universidad de Rennes, 1992.
 36. WISEMAN J, PICKARD J, ZARKADAS L. Starch digestion in piglets. In: VARLEY MA, WISEMAN J, editors. *The weaner pig: nutrition and management*. New York: CABI Publishing, 2001:65-80.
 37. BALL RO, AHERNE FX. Influence of dietary nutrient density, level of feed intake and weaning age on young pigs. II. Apparent nutrient digestibility and incidence and severity of diarrhea. *Can J Anim Sci* 1987; 67:1105-1115.
 38. WISEMAN J. Variations in starch digestibility in non-ruminants. *Anim Feed Sci Tech* 2006; 130:66-77.
 39. SALGADO P, FREIRE JPB, MOURATO M, CABRAL F, TOULLEC R, LALLÈS JP. Comparative effects of different legume protein sources in weaned piglets: nutrient digestibility, intestinal morphology and digestive enzymes. *Livest Prod Sci* 2002; 74:191-202.
 40. WILLIAMS BA, BOSCH MW, AWATI A, KONSTANTINOV SR, SMIDT H, AKKERMANS ADL *et al.* *In vitro* assement of gastrointestinal tract (GIT) fermentation in pigs: fermentable substrates and microbial activity. *Anim Res* 2005; 54:191-201.
 41. PLUSKE JR. Nutritional mangement of the gastrointestinal tract to reduce enteric diseases in pigs. *Adv Anim Nutr Aust* 2001; 13:127-134.
 42. WILLIAMS BA, VERSTEGEN MWA, TAMMINGA S. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr Res Rev* 2001; 14:207-227.
 43. GASKINS HB, COLLIER CT, ANDERSON DB. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Anim Biotechnol* 2002; 13:29-42.
 44. CONE JW, JONGBLOED AW, VAN GELDER AH, DE LANGE L. Estimation of protein fermentation in the large intestine of pigs using a gas production technique. *Anim Feed Sci Technol* 2005; 123-124:463-472.
 45. BOUDRY G, PÉRON V, LE HUÉROU-LURON I, LALLÈS JP, SÈVE B. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory,

- and barrier properties of piglet intestine. *J Nutr* 2004; 134:2256-2262.
46. MELIN L, JENSEN-WAERN M, JOHANNISSON A, EDEROTH M, KATOULI M, WALLGREN P. Developement of selected faecal microfloras and of phagocytic and killing capacity of neutrophils in young pigs. *Vet Microb* 1997; 54:287-300.
 47. 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-rumiant animals. *Anim Feed Sci Technol* 2003; 108:95-117.
 48. PÉREZ DE ROZAS AM, ROCA M, CARABAÑO R, DE BLAS C, FRANCESCH JB, MARTIN-ORUE S *et al*. El estudio de la Diversidad Intestinal por RFLP. Memorias del XIX Curso de Especialización FEDNA; 2003 Octubre 23 - 24; Madrid, España. Madrid, España: Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal, 2003:31-45.
 49. TAKAHASHI S, YOSHIDA Y, NAKANISHI N, TSUKAHARA T, USHIDA K. Quantitative real-time PCR monitoring of *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* with oral administration of *Lactobacillus plantarum* strain Lq 80 to weaning piglets. *J Anim Sci* 2008; 79:737-744.
 50. ESCALANTE-LOZADA A, GOSSET-LAGARDA G, MARTINEZ-JIMÉNEZ A, BOLÍVAR-ZAPATA F. Diversidad bacteriana del suelo: método de estudio no dependiente del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas. *Agrociencias* 2004; 38:583-592.
 51. KONSTANTINOV SR, ZHU WY, WILLIAMS BA, TAMMINGA S, DE VOS WM, AKKERMANS ADL. Effect of fermentable carbohydrates on piglets faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16s ribosomal DNA. *FEMS Microb Ecol* 2003; 43:225-235.
 52. KONSTANTINOV SR, FAVIER CF, ZHU WY, WILLIAMS BA, KLÜB J, SOUFFRANT WB *et al*. Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition *Anim Res* 2004; 53:317-324.
 53. LESERT D, AMENUVOR JZ, JENSEN TK, LINDECRONA RH, BOYE M, MOLLER K. Culture-Independent analysis of gut bacteria: the pig gastrointestinal tract microbiota revisited. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:673-690.
 54. PLUSKE JR, HOPWOOD DE, HAMPSON DJ. Relación entre la microbiótica intestinal, el pienso y la incidencia de diarreas, y su influencia sobre la salud del lechón tras el destete. Memorias del XIX Curso de Especialización FEDNA; 2003 octubre 23-24; Madrid, España. Madrid, España: Fundación para el desarrollo de la nutrición animal, 2003:93-108.
 55. CASTILLO GMS. Development of gut microbiota in the pig: modulation of bacterial communities by different feeding strategies [master in science]. Barcelona, Spain: Universitat Autònoma de Barcelona, 2006.
 56. INOUE R, TSUKAHARA T, NAKANISHI N, USHIDA K. Development of the intestinal microbiota in the piglet. *J Gen Appl Microbiol* 2005; 51:257-265.
 57. SIMPSON JM, MCCracken VJ, GASKINS HR, MACKIE RI. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of *Lactobacillus reuteri* strain MM53. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:4705-4714.
 58. VENTE-SPREUWENBERG MAM, VERDONK JMAJ, BEYNEN AC, VERSTEGEN MWA. Interrelationships between gut morphology and faeces consistency in newly weaned piglets. *Anim Sci* 2003; 77:85-94.
 59. VELASCO JLF, MORENO EEC, RAMÍREZ MC, VARA IAD. Alimentos funcionales para cerdos al destete. *Vet Méx* 2006; 37:117-136.
 60. SCHREZENMEIR J, DE VRESE M. Probiotics, prebiotics and synbiotics-approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:361S-364S.
 61. GUARNER F, SCHAAFSMA GJ. Probiotics. *International J Food Microbiol* 1998; 39:237-238.
 62. METZLER B, BAUER E, MOSENTHIN R. Microflora management in the gastrointestinal tract of piglets. *Asian-Australas J Anim Sci* 2005; 18:1353-1362.
 63. HUANG C, QIAO S, LIFA D, PIAO X, REN J. Effects of lactobacilli on the performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs. *Asian-Australas. J Anim Sci* 2004; 17:401-409.
 64. SCHOROEDER B, DUNCKER S, BARTH S, BAUERFEIND R, GRUBER AD, DEPPENMEIER S *et al*. Preventive effects of the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 on acute secretory diarrhea in a pig model of intestinal infection. *Dig Dis Sci* 2006; 51:724-731.
 65. REYNOSO E, CERVANTES M, FIGUEROA JL, CUCA JM. Productive response of pigs to low-protein diets added synthetic amino acids and yeast culture. *Cuban J Agricultural Sci* 2004; 38:269-275.
 66. GIBSON GR, ROBERFOID MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 899-907.
 67. STEIN HH. Experience of feeding pigs without antibiotics: a European perspective. *Anim Biotech.* 2002; 13:85-95.
 68. HEO JM, KIM JC, HANSEN CF, MULLAN BP, HAMPSON DJ, PLUSKE JR. Effects of feeding low protein diets to piglets on plasma urea nitrogen, faecal ammonia nitrogen, the incidence of diarrhea and performance after weaning. *Arch Anim Nutr* 2008; 29:343-358.
 69. YUE LY, QIAO SY. Effects of low-protein diets supplemented with crystalline amino acids on performance and intestinal development in piglets over the first 2 week after weaning. *Livest Sci* 2007; 115:144-152.