

# RETIRADA DE LOS ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO EN LA UNIÓN EUROPEA: CAUSAS Y CONSECUENCIAS

**Ricardo Cepero Briz**

Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.  
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

## RESUMEN

En la Unión Europea es ya inmediata (1/1/2006) la total prohibición del uso en alimentación animal de antibióticos promotores de crecimiento. Esta decisión, de potenciales repercusiones internacionales, supondrá importantes esfuerzos de adaptación y costes adicionales para la ganadería europea, aunque de distinta magnitud según el sector considerado. Los motivos que la han justificado y sus posibles efectos sobre la productividad y la salud animal y humana siguen siendo controvertidos socialmente y desde un punto de vista científico. Lo que no ofrece dudas es el rechazo de muchos consumidores europeos a esta práctica zootécnica y la voluntad política de mantener dicha prohibición. Por tanto el sector avícola ha aceptado con resignación esta situación, a la vez que se ha ido preparando progresivamente para afrontarla.

En los países escandinavos estos aditivos se abandonaron hace bastantes años (1986 en Suecia); en el resto de la UE se han restringido cada vez más desde 1997, habiéndose retirado sucesivamente media docena de sustancias, y actualmente una parte significativa de la producción avícola europea prescinde de su empleo. Esto ha tenido consecuencias variables a lo largo del tiempo, y también según el país considerado. Entre ellas destacan el aumento de patologías entéricas y del índice de conversión del pienso, y un incremento del coste de producción. No existe una única solución a la retirada de los antibióticos promotores de crecimiento (APC). La mejora de las condiciones higiénicas y de manejo en las granjas es esencial; también se precisa mejorar la calidad y digestibilidad de los piensos, modificando su composición en ingredientes y sus niveles nutricionales. Hoy se dispone de una amplia gama de aditivos alternativos, con muy distintos modos de acción y niveles de eficacia, pero ninguno de ellos puede sustituir por sí solo a los APC.

La prohibición de los últimos APC que se venían usando perjudicará a la competitividad de la avicultura europea, pero no son previsibles consecuencias dramáticas, pues ya hace años que se retiró la mayoría, por lo que el proceso de adaptación ha sido progresivo. El impacto será mayor en aquellas granjas y empresas con peores niveles higiénicos y de manejo, tal y como ocurrió en los países escandinavos. Por otra parte, la UE ha implantado, o lo hará próximamente, otras medidas (prohibición de ingredientes de origen animal, limitación de medicamentos, erradicación de *Salmonellas*, normas de bienestar animal y de protección del ambiente, reducción de aranceles a las importaciones,...) de mayor impacto económico para el sector. En los próximos años se verá hasta qué punto el "modelo europeo de producción animal", caracterizado por una prioridad total de la calidad y la seguridad de los consumidores, repercute en los hábitos de consumo de los europeos y en el comercio internacional.

## 1. ANTECEDENTES

El uso de antimicrobianos en nutrición animal (antibióticos y quimioterápicos) data de hace 50 años. Las primeras experiencias (en pollos) que demostraron sus efectos beneficiosos datan de finales de los años 40, y en la década de los 60 su empleo comercial estaba ampliamente extendido en Europa. En aquellos tiempos se usaban sustancias que a mayores dosis tenían actividades terapéuticas (penicilinas, estreptomina, tetraciclinas,...). Muy pronto surgieron críticas a esta práctica, alegando posibles riesgos para la salud humana.

En 1969 se publicó en el Reino Unido un informe elaborado por un Comité científico presidido por el Prof. Swann que, si bien reconocía la escasez en aquel momento de datos científicos para evaluar dichos riesgos, recomendó abandonar el uso en piensos de los antimicrobianos susceptibles de uso terapéutico, o con análogos empleados en medicina humana (todavía hoy, en EE.UU. y otros países, se siguen empleando como “promotores del crecimiento” muchas de estas sustancias). En cambio, en Europa se llevaron a la práctica en los años 70 estas recomendaciones, aunque no en su totalidad (caso de la bacitracina, tilosina, y espiramicina). Con el tiempo la industria farmacéutica desarrolló nuevos antibióticos para humana relacionados con algunos APC como la avoparcina (vancomicina, teicoplanina), virginiamicina (quinopristina/dalfopristina), y avilamicina (everninomicina), empleados para tratar infecciones resistentes a otros antibióticos, en especial en pacientes inmunosuprimidos.

**Cuadro 1. Evolución de la situación de los APC en Europa** (adaptado de Edqvist y Pedersen, 2000)

1945-1960s	Primeras advertencias del riesgo de desarrollo de resistencias bacterianas, y demostración de su transmisión vertical y horizontal
1960s	Comienza el uso de antibióticos en piensos (penicilina, estreptomina, tetraciclinas, ...)
1969	El Comité Swann recomienda imponer restricciones al uso de antimicrobianos en pienso, para permitir sólo aquellos no usados como terapéuticos en medicina humana y veterinaria
1970s	La mayoría de las recomendaciones Swann se llevan a la práctica en el Reino Unido y en la CEE
1975	Relajación de las recomendaciones Swann: Se permite el uso como APC de espiramicina y tilosina, a pesar de tener análogos en medicina humana.
1984	Los granjeros suecos solicitan a su gobierno la prohibición de los APC a causa de las preocupaciones de los consumidores
1986	Prohibición de los APC en Suecia fundamentada en el desarrollo de resistencias y en sus efectos “inseguros” a largo plazo.
1993	Primeros estudios que indican una relación entre uso de avoparcina y el aumento y transmisión de enterococos resistentes a vancomicina, antibiótico del mismo grupo (glucopéptidos)
1995	Suecia y Finlandia entran en UE, con permiso para mantener su prohibición de los APC. Prohibición de la avoparcina en Dinamarca
1996	Prohibición de la virginiamicina en Dinamarca y de la avoparcina en Alemania
1997	La UE prohíbe la avoparcina La OMS concluye que “es esencial sustituir el uso de APC”
1998	La UE prohíbe la ardamicina como APC por riesgos de resistencias cruzadas, y el uso desde 1999 de otros 4 antibióticos (virginiamicina, bacitracina Zn, fosfato de tilosina, espiramicina) como “medida de precaución”. Dinamarca prohíbe todos los APC
1999	El Comité científico permanente de la CE recomienda el abandono de los APC que puedan ser usados en medicina humana y veterinaria, o que promuevan resistencias cruzadas. Se prohíbe el uso de inhibidores (olaquinox, carbadox) por motivos de salud laboral
2000	La industria farmacéutica se opone judicialmente a la decisión de la CE, sin resultado.
2001-2004	Retirada de 6 sustancias anticoccidiósicas (amprolio, ídem + etopab ato, metilclorpidol, ídem + metilbenzocato, arprinocida, nicarbacina) Retirada de antihistomoniásicos (dimetridazol, ipronidazol, ronidazol, nifursol)
2006	Prohibición del uso de los restantes APC (avilamicina, flavofosfolipol, salinomicina, monensina,). Los 2 últimos podrán seguir siendo empleados en pollos como coccidiostatos.

La polémica, centrada principalmente en la posible selección de bacterias resistentes a los antibióticos y en la transmisión a otras de los genes que determinan dichas resistencias, aumentó tras la publicación de algunos trabajos científicos que presentaban datos en apoyo de estas hipótesis. Esto condujo a un proceso de retirada progresiva de los APC (que se resume en el **Cuadro 1**), iniciado en los países escandinavos y, desde su ingreso en la UE, asumido por el resto de los Estados miembros, comenzando por la avoparcina. En la práctica el uso de APC iba disminuyendo debido a las presiones de consumidores y cadenas de distribución. Según datos de la Federación Europea de Sanidad Animal, organización integrada por las empresas farmacéuticas, en 1999 el uso de antibióticos en animales de granja ascendía a 4.700 Tm (35% del consumo total); entre ellos 786 Tm de APC (6% del total), menos de la mitad que dos años atrás. En ese mismo año se prohibió la mayoría de los APC, sin tener en cuenta el informe del SCAN, que no halló base científica para dicha medida (salvo para la avoparcina). Más tarde, el Comité Científico Director de la Comisión Europea propuso su total prohibición, basada en el “principio de precaución”. Finalmente, se decidió completar la total retirada de estas sustancias, medida que entra en vigor el próximo 1 de Enero.

Otros antimicrobianos usados como promotores fueron también prohibidos por suponer un riesgo para los manipuladores, al igual que todos los productos usados para prevenir la histomoniasis, lo que ha causado grandes perjuicios a la industria europea del pavo. A ello se añade la escasez actual de productos terapéuticos legales para gallinas ponedoras y otras especies aviares, motivada por los ingentes costes y trámites de la obligada renovación de su registro, poco rentable para los laboratorios al suponer unas ventas comparativamente muy escasas frente a las habituales en el sector de producción de pollos y pavos.

### **1.1. APC y resistencias microbianas a los antibióticos**

Es importante comprender el origen de esta polémica, que dura ya 30 años, pues también podría afectar a algunos de los nuevos aditivos que se proponen como sustitutivos de los APC. Hay muchas revisiones al respecto, que expresan posiciones muy distintas (Walton, 1988, 1996; Gustafson y Bowen, 1997; Witte, 1998; NRC, 1999; Philips y col., 2004; Turnidge, 2004; Bywater, 2005). Es claro que hay bacterias resistentes a los antimicrobianos, y que están presentes en los animales, pero su contribución a la existencia o variedad de microbios resistentes en humanos sigue siendo muy controvertida.

La aparición de bacterias resistentes a los antibióticos es un proceso complejo que comprende distintos mecanismos (véase Schwarz y col., 2002), y es una consecuencia inevitable de su uso terapéutico o subterapéutico. La administración de dosis bajas durante largo tiempo crea las condiciones ideales para la inducción de resistencias (OMS, 1997), lo que constituye el principal argumento de los defensores de la prohibición de los APC. En realidad hasta hoy no se ha establecido claramente una relación directa entre uso de APC y aumento de resistencias bacterianas a los antibióticos; la mayoría de los estudios que propugnan esta tesis se basan en evidencias circunstanciales (Bywater, 2005), alegando un supuesto paralelismo en el tiempo entre el aumento de bacterias resistentes en la flora comensal animal y humana, ya sea a los mismos antimicrobianos o a los del mismo grupo químico.

En los años 90 se comprobó un aumento de infecciones hospitalarias por *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina (VRE) en pacientes inmunosuprimidos, antibiótico usado como “última línea de defensa” frente a gérmenes inmunes a los demás. Se aislaron cepas VRE procedentes de animales, y se demostró que presentaban resistencias cruzadas a avoparcina y vancomicina; más tarde otros estudios presentaron datos similares para la virginiamicina, tilosina, avilamicina y sus análogos. Los crecientes hallazgos de cepas multirresistentes en bacterias zoonóticas como *Salmonella*, *Campylobacter* y *E. coli* (más asociadas al uso de terapéuticos; los APC actúan principalmente sobre gérmenes Gram+) aumentaron los niveles de preocupación en los organismos sanitarios y en el público en general.

Los partidarios de prohibir los APC alegan que los antibióticos se usan “de forma abusiva” en los animales de producción, y que suponen incluso la mayoría del consumo total. Sólo algunos países europeos disponen de datos fiables al respecto, y desde hace poco tiempo; por tanto, las cifras están poco claras. En general se estima que el uso en animales (incluyendo équidos y mascotas) supone entre un 35 y un 40% del total; aunque algunos destacan que en términos de peso vivo el consumo humano es más de 3 veces mayor (Mellor, 2000; Ungemach 2000). En esta fecha los APC suponían entre el 20 y el 30% del consumo total animal, y sin duda sus ventas han ido disminuyendo en toda la UE. En cualquier caso, éste resulta un segmento muy atractivo si se pretende reducir el uso de antibióticos en general. Los defensores de su prohibición también utilizan otros argumentos (**Cuadro 2**), consideran que son innecesarios y contribuyen a generar costosos excedentes de productos animales, y denuncian que se posterga la salud humana en favor de los intereses económicos.

**Cuadro 2. Efectos positivos y negativos de los APC en distintos campos relacionados con la producción animal (Edqvist y Pedersen, 2000)**

Campo de acción	Efectos positivos	Efectos negativos
Pienso	Ninguno	Enmascaran mala calidad pienso Dificultan mejoras en formulación y desarrollo de alternativas
Manejo	Mejoran producción y productividad	Estimulan una mayor intensificación
Sistema producción	Reducen necesidad mano de obra al permitir sistemas más intensivos	Limitan desarrollo sistemas alternativos
Salud animal	Algunas enfermedades (entéricas) pueden controlarse hasta cierto punto	Limitan posibilidades terapéuticas por desarrollo de resistencias Ocultan enfermedades subclínicas Menos incentivos para mejorar higiene
Bienestar animal	Alivian y signos de enfermedad	Ocultan estrés por mal manejo Permiten mayores densidades de cría
Impacto ambiental	Mejor utilización del pienso Menos estiércol	Aumentan pool ambiental de genes RA Residuos de antibióticos
Salud humana	Ninguno	Transferencia de resistencias a humanos Acortan la vida de antibióticos médicos Riesgos laborales por aerosoles y polvo contaminados con antibióticos

Los defensores de los APC destacan la escasez de estudios científicos, el frecuente uso de metodologías inadecuadas – parece que se confundían *E. Faecium* y *E. Faecalis*, éste último naturalmente resistente a la avoparcina -, su falta de reproducibilidad, y que no demuestran relación directa entre cepas resistentes aviarias y humanas, alegando que si tras 50 años de uso aún son muy eficaces no pueden inducir resistencias importantes. También destacan el efecto de la cocción sobre los posibles residuos de APC, que además no pasan la barrera intestinal, y el hecho de que pocas bacterias de origen animal son capaces de colonizar el intestino humano, paso previo para que puedan producir plásmidos y transmitir resistencias.

La contribución de APC y antibióticos de uso veterinario al desarrollo de estas resistencias en humanos no está clara. Para el NRC (1999) es improbable que sean la principal causa de las mismas, pero sin duda contribuyen a ellas. No se ha llegado a conclusiones firmes en reuniones científicas monográficas (ver Hugoson y Wallen, 2000). Algunos organismos científicos europeos como ACMSF y EMEA opinan que la sobreutilización en medicina humana es el principal factor de desarrollo de resistencias bacterianas a los antibióticos. En la UE el

seguimiento de su evolución comenzó en 2003; antes de esta fecha sólo algunos países (Dinamarca, Suecia, Reino Unido y Holanda) tenían datos, y de muy pocos años atrás. En general se constata una reducción de VRE en animales y humanos desde la prohibición de la avoparcina, pero estas bacterias siguen apareciendo en países como Noruega, incluso en granjas inauguradas después de su retirada (Sorum y col., 2004). También disminuyen las resistencias de distintos gémenes a otros APC, de forma variable según los países, pero esto coincide a menudo con el aumento de las mismas a los antimicrobianos terapéuticos.

No parece que hoy este fenómeno constituya un serio problema para la salud humana (NRC, 1999; Ziggers y van der Sluis, 1998; Matthews, 2001; Phillips y col., 2004), pero siempre se subraya la gran magnitud de sus riesgos potenciales: *“Hoy es generalmente aceptado que todo uso de antimicrobianos en distintos sectores contribuye al desarrollo de resistencias... el arsenal antibiótico disponible se está haciendo cada vez más limitado... Se han de hacer mayores esfuerzos para prevenir las enfermedades infecciosas tanto en medicina humana como en veterinaria por otros medios”* (SWARM 2003). Se pretende preservar la eficacia de los existentes, otorgando total prioridad a la salud humana, y por ello se propone la eliminación de los APC y reducir el uso de los terapéuticos veterinarios. La Organización Mundial de la Salud defiende la retirada de los APC incluso en ausencia de evaluaciones de riesgo. Sin embargo, cuando éstas se realizan no apoyan esta postura (Phillips y col., 2004); así, se ha considerado que el uso de tilosina es muy beneficioso, al reducir la prevalencia de infecciones y la duración de la enfermedad, excediendo en mucho los riesgos para la salud humana por la posible inducción de resistencias  $-1/10_1$  en *Campylobacter*,  $1/3000_1$  en *E. faecium* (Hurd y col., 2004).

El énfasis puesto en los riesgos de inducción de resistencias ha hecho que se preste muy poca atención a los que podría implicar la retirada de los APC para la salud humana (Casewell y col., 2004). Se ha demostrado que la administración continuada de flavomicina y salinomicina evita la colonización del intestino de las aves por *Salmonella* y *Clostridium perfringens* (Ducattelle y col., 2001); en los países nórdicos preocupa que puedan aumentar los casos humanos por *C. perfringens*, primera causa de zoonosis en Noruega (Van Immerseel y col., 2004). Mucho se ha criticado el “principio de precaución” aplicado en la UE por carecer de fundamentos científicos, y ser muy costoso y hasta potencialmente contraproducente (Phillips y col., 2003), pero legisladores y consumidores europeos quieren que los animales se críen tan libres de antibióticos como sea posible, y sus demandas tienen mayor fuerza que cualquier informe científico. Además, los influyentes grupos ecologistas insisten en este tema en sus campañas contra la intensificación de la ganadería, subrayando que los APC son sólo indispensables en la cría “industrial” (Turnidge, 2004) y que hay una menor incidencia de bacterias resistentes en pollos criados de forma ecológica (Lederberger y col., 2003).

El uso de APC genera mayor oposición entre los consumidores europeos que cualquier otra práctica zootécnica. A primeros de los años 90 dos tercios de los encuestados en Reino Unido, Francia y Alemania estaban a favor de su prohibición. En un estudio realizado en otros 5 países de la UE se evidenció que el uso de antibióticos en la cría de pollos constituía una de las mayores preocupaciones de los consumidores, sólo por detrás del riesgo de contraer salmonellosis (Cowan, 1998). La “quimiofobia” no ha hecho más que crecer tras el gran impacto mediático de las “crisis alimentarias” (vacas locas, dioxinas, nitrofuranos, etc). Ahora en el Reino Unido un 87% de los consumidores se declaran en contra del uso de los APC (Thomas, 2001), y en la UE-15 los aditivos en pienso en general constituyen una seria preocupación para más del 70% de la población (Brewer y Prestat, 2002).

Por otra parte, para la industria avícola europea se ha hecho cada vez más evidente que existe una estrecha correlación entre consumo de antibióticos y granjas de mala calidad, en las que disimulan sus deficiencias higiénicas y de manejo. Los mejores granjeros producen aves más sanas con menores costes de medicación, y los peores tienden a un sobreconsumo y a considerarlos como soluciones para todos los problemas. En los últimos años las integraciones seleccionan cada vez más a sus criadores con el objetivo de minimizar los tratamientos medicamentosos, y ello ha ido en aumento a medida que se han ido restringiendo los APC.

## 1.2. Efectos de los APC

Desde el punto de vista de la producción, no hay duda de los beneficios de los APC: Aumentan la productividad, evitan pérdidas en el valor nutritivo del pienso, y contribuyen a la prevención de infecciones subclínicas y a reducir la mortalidad. Todo ello tiene importantes repercusiones económicas. En 1993 Viaene y de Craene estimaban que la retirada total de APC en Europa supondría un aumento de costes del 1,2% en huevos y del 3,4% en pollos. Más recientemente, Santomá (1999) valoraba en 51 millones de euros los costes de esta prohibición para el sector de producción de pollos.

Existe amplia información sobre los efectos de los APC en nutrición avícola (Gustafson y Bowen, 1997; Hughes y Heritage, 2001; Dibner y Richards, 2005). Aunque hay ciertas diferencias entre las distintas sustancias, desde un punto de vista nutricional las acciones de todos los APC se basan en la inhibición del crecimiento bacteriano en el ámbito intestinal. Estudios con pollos libres de gérmenes (Muramatsu et al., 1994) demuestran su mayor eficiencia metabólica para la energía (12,1%) y la retención de nitrógeno (9,9%). Esto indicaría que las acciones beneficiosas de la microflora (o, más propiamente, microbiota) intestinal (producción de amilasas, vitaminas del grupo B y ácidos grasos cadena corta; recuperación de nitrógeno; estimulación de la inmunidad local) son compensadas de sobra por sus efectos negativos, sobre todo cuando se prolifera excesivamente. La actividad antimicrobiana de los APC implica que las aves sanas no alcanzan la totalidad de su potencial genético a causa de la microbiota "normal", que puede usar para su proliferación los componentes de la dieta, degradar los enzimas digestivos, adherirse a la pared intestinal, reduciendo la absorción de nutrientes (en particular de los lípidos), e incluso llegar a causar inflamación y colonización, invadiendo la mucosa dañada (Taylor, 2001).

La abundancia de células inflamatorias induce una renovación mucho más frecuente de la mucosa, y casi un 20% de su capa proteica superficial es depositada diariamente en el lumen intestinal (Walton, 1988). La excesiva proliferación microbiana aumenta la secreción de mucus y el espesor y peso del intestino, y desencadena una reacción inmunitaria cuyo coste energético es elevado, y que se detrae de los requerimientos de producción. A ello se une el gasto de energía que se precisa para la transformación o eliminación de las sustancias tóxicas del metabolismo bacteriano, que equivale a 242 Kcal EM/kg (Teeter y col, 2003). La fermentación bacteriana de sustratos aumenta la producción de calor, que se reduce al usar APC, por lo que las dietas que los incluyen tendrían una mayor eficiencia calórica. Según estos investigadores, el uso de virginiamicina aumenta el valor energético del pienso en 74 Kcal/kg.

En condiciones prácticas, los APC (Walton 1996):

- Acercan la tasa de crecimiento al potencial genético
- Mejoran el crecimiento en aves jóvenes en un 5-10%
- Mejoran el índice de conversión (-2-3%), y ahorran energía metabolizable
- Las mejoras persisten en manadas sucesivas y en muchas granjas
- Tienen una relación eficacia/coste positiva
- Mejoran el bienestar físico de las aves

Estos efectos, que disminuyen con la edad, son más pequeños en aves que poseen un alto status sanitario. Por tanto, la magnitud de los efectos de los APC depende de la calidad del ambiente y del manejo (**Figura 1**). La actividad terapéutica de los APC es muy baja o nula, por lo que de poco sirven si se declaran en la manada las enfermedades infecciosas o parasitarias más clásicas en patología aviar; su acción antimicrobiana se dirige especialmente a las bacterias Gram +, entre ellas *Clostridium spp.* Por esta razón está claro que juegan un papel en la prevención de patologías intestinales (Hillman, 2001; McMullin, 2004), en particular de la enteritis necrótica, y esto puede contribuir a que se desarrollen menos resistencias a los antibióticos terapéuticos más utilizados. Aunque en realidad los APC más bien facilitan que promueven alcanzar óptimos crecimientos, sus críticos se han centrado en este último concepto, olvidando sus beneficios para la salud y el bienestar de los animales.

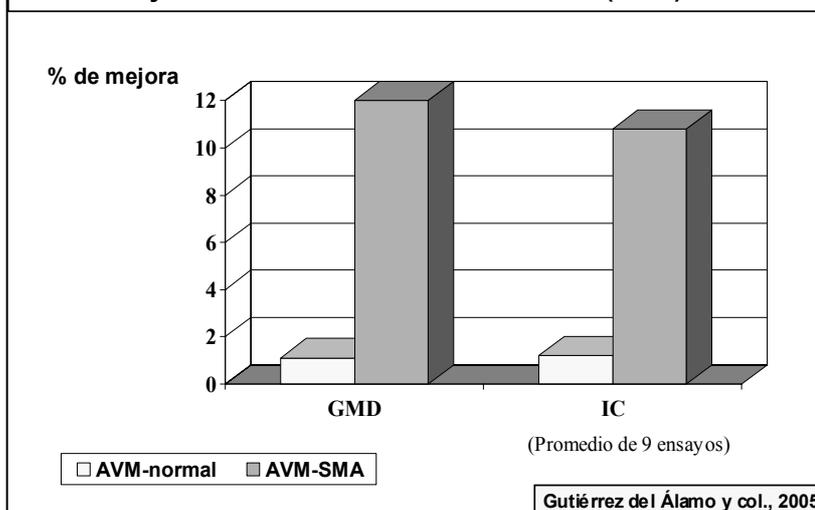
Finalmente, los APC tienen un papel en la protección del medio ambiente, a través de la disminución del índice de conversión y de la mejora de la digestibilidad del pienso, con la consiguiente reducción de excreciones. En 1992 Best calculaba que su uso en ganado porcino en la entonces UE-12 equivalía a un ahorro de 2,3 millones Tm de pienso, 300.000 Tm de proteína y 6.900 millones de litros de agua, disminuyendo la producción de heces en 7 millones de m<sup>3</sup> y su contenido en nitrógeno en 130.000 Tm.

El **Cuadro 3** resume la complejidad de las acciones de los APC. Sus teóricos sustitutos tendrían que ser capaces de ejercer las mismas acciones, y a un coste económico comparable. Como se verá más adelante, en la actualidad esto es muy difícil, si no imposible, de conseguir.

**Cuadro 3. Efectos de los APC en nutrición animal** (Anderson y col, 1999)

Efectos	Fisiológicos	Nutricionales	Metabólicos
Aumentan	Absorción de nutrientes Consumo de pienso	Retención de energía y nitrógeno Absorción glucosa, ácidos grasos, calcio, vitaminas, microelementos Nutrientes en plasma	Síntesis hepática proteínas Fosfatasa alcalina en intestino
Disminuyen	Tiempo tránsito intestinal Peso, longitud y diámetro de la pared intestinal Multiplicación células mucosa Humedad en heces	Pérdida de energía en intestino Síntesis de vitaminas	Producción amoníaco y aminas tóxicas Fenoles aromáticos Prod. degradación biliar Oxidación ácidos grasos Excreción grasa en heces Ureasa microbiana intestinal

**Figura 1. Efecto de la avilamicina sobre el crecimiento y el índice de conversión de pollos normales y con síndrome de mala absorción (SMA)**



## 2. CONSECUENCIAS DE LA RETIRADA DE LOS APC

Teniendo en cuenta las acciones beneficiosas de los APC, es esperable un empeoramiento de las producciones y del índice de conversión, y un aumento de las patologías digestivas y de la tasa de mortalidad (**Cuadro 4**); y, por tanto, un aumento del coste de producción; todo ello de forma más notable en pollos de carne que en ponedoras en jaula, cuya edad y sistema de alojamiento, que las separa de sus heces, las hace menos propensas a patologías digestivas de ciclo oral-fecal como la clostridiosis.

**Cuadro 4. Efectos de la retirada de los APC en la producción de broilers (Ross Tech, 1998)**

	Promedio	Rango de variación
Mortalidad	+ 0,1 %	-1,3% - +1,0%
Peso vivo a 42 días	- 50 g	0 - -150 g
Coef. variación peso vivo	+ 1,8%	+ 0,2% - +3,3%
Índice conversión	+ 0,04	0 - +0,08

Como se indicó anteriormente, en la UE la mayoría de los APC fueron prohibidos en 1997 y 1999, y en algunos países hay empresas que ya han prescindido de todos ellos por razones comerciales; por ejemplo, en 2000 en Holanda el 40% de fábricas ya no usaban APC, y en el Reino Unido se produjo una retirada casi generalizada, que los graves problemas de enteritis necrótica consiguientes obligaron a la mayoría del sector a utilizarlos de nuevo hasta que consiguió adaptarse a la nueva situación. Por tanto, ya se tiene bastante experiencia de lo que implica prescindir de APC en la producción avícola.

Lo normal es que en el período inmediatamente posterior a su retirada emerjan los problemas de higiene y manejo que eran compensados por los APC, con lo que aumentan los trastornos digestivos y el consumo de antibióticos terapéuticos. Según datos del Animal Health Institute de EE.UU. (2002), entre 1999 y 2001 éste aumentó un 10-15% en Holanda y Alemania, y un 51% en Francia. En el Reino Unido se sustituyeron 4 Tm (como producto activo) de APC por 54 Tm de terapéuticos, en particular de macrólidos (+135%). Estas cifras son globales para todas las especies animales, y todas las fuentes concuerdan en que estos aumentos se deben principalmente a un mayor recurso a las medicaciones en ganado porcino.

En avicultura la experiencia indica que estas consecuencias son transitorias hasta cierto punto, y que tienden a disminuir con el tiempo. Su magnitud depende de otros factores como los niveles higiénicos y de manejo, la composición de las dietas, y del uso adecuado de la amplia gama de aditivos alternativos y sus combinaciones, lo que se tratará más adelante. La retirada de los APC ha impulsado muchas investigaciones sobre la naturaleza y acciones de la microbiota intestinal, los efectos de la dieta sobre la misma, y la mejora de la digestibilidad de las raciones. Por otra parte, ha estimulado la mejora de las condiciones de cría de las aves y, al suprimir la distinción entre control de enfermedades y mejora de la producción, se ha hecho indispensable la colaboración entre nutrólogos y veterinarios de campo (McMullin 2004).

En ciertos países europeos se cuenta con una mayor experiencia, y muy bien documentada, en la producción avícola sin ningún APC, por lo que a continuación se prestará una particular atención a la misma. También se hará una breve revisión del estado de los conocimientos sobre las disbacteriosis y clostridiosis, principales amenazas patológicas en esta situación, y de las estrategias nutricionales más aconsejables para prevenirlas.

## 2.1. Experiencia en Suecia

En este país se prohibieron todos los APC en 1986, y se clasificaron como medicamentos veterinarios sujetos a prescripción. Por ello es en este país nórdico donde durante más tiempo se han criado pollos sin ellos (en gallinas de puesta no se utilizaban, como en general ocurre en la U.E.), y de allí proceden gran parte de las investigaciones al respecto. Las consecuencias de esta prohibición han sido analizadas en detalle por Wierup (1998, 2001), Inbarr (2001) y por la propia OMS en su informe de 2001.

El período transitorio fue muy corto, por lo que el sector tuvo poco tiempo para prepararse. Durante los 2-3 primeros años se produjo un gran aumento de problemas entéricos, en particular enteritis necrótica, patología prácticamente desaparecida en los años 70, y se triplicó la proporción de hígados decomisados en mataderos. Por ello se tuvo que volver a usar virginiamicina en piensos en el 100% de las manadas, esta vez como terapéutico, y a doble dosis (20 ppm); más tarde se emplearon penicilinas en agua de bebida, sustituidas a su vez por tilosina como tratamiento de elección. En pavos hubo menos problemas; en este caso los APC se habían utilizado únicamente para controlar brotes declarados de EN. En porcino las consecuencias fueron más graves, con lo que su consumo de antimicrobianos y de óxido de zinc para controlar las diarreas aumentó considerablemente hasta finales de los años 90.

La situación sanitaria de los broilers mejoró a principios de los años 90, debido al uso de distintas estrategias nutricionales: Reducción de niveles proteicos en pienso (el exceso de P.B. se reveló como factor predisponente fundamental) y aumento de la inclusión de aminoácidos sintéticos; raciones con más fibra y uso muy frecuente de trigo entero, para disminuir humedad de las heces; empleo generalizado de aditivos enzimáticos (principalmente xilanasas) y probióticos (éstos últimos más tarde desechados), y sobre todo de los coccidiostatos ionóforos.

También se produjeron grandes cambios en el manejo: Se mejoró el ambiente en las granjas, sobre todo los caudales de ventilación; las normas de bienestar animal redujeron la densidad de cría a 20 kg/m<sup>2</sup>, con posibilidad de llegar a 36 kg/m<sup>2</sup> sólo acreditando buenos resultados sanitarios; y se incrementaron las condiciones de higiene y bioseguridad como consecuencia de la implantación de exigentes programas de control de *Salmonella* y *Campylobacter*. El escaso número de criadores de pollos (menos de 200) y la ausencia de subvenciones, al contrario que en el resto de la ganadería sueca, también influyeron en la relativamente rápida adaptación del sector avícola sueco a la nueva situación.

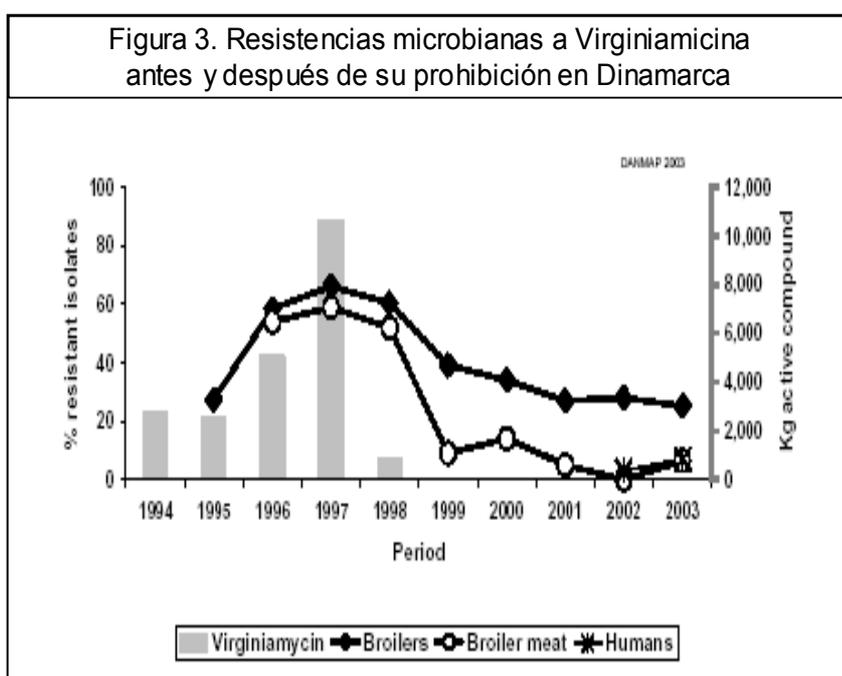
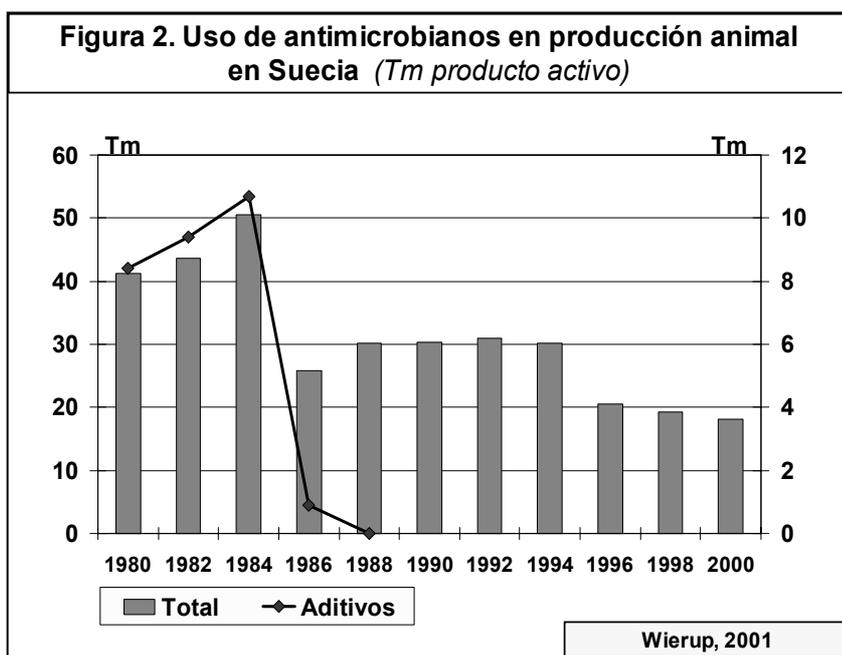
Ciertamente la retirada de los APC no ha significado un desastre para la producción avícola sueca: 10 años después de la prohibición de los APC la producción de broilers se había duplicado, alcanzando 68 millones anuales (más de un 15% para exportación). Actualmente la EN es una patología poco frecuente en Suecia, y es en este país donde se registran las menores prevalencias de *Salmonella* de toda la U.E. Por ello suele citar a Suecia como ejemplo de que es posible alcanzar una producción con altos rendimientos y competitiva sin usar APC en buenas condiciones de manejo (Wierup, 1998; Hughes y Heritage, 2002), y así mejorar la confianza de los consumidores en la seguridad del producto.

Sin embargo, otras fuentes indican que los resultados productivos en Suecia son algo inferiores (-1,3% en crecimiento, +0,1% en conversión) que los obtenidos en otros países que aún usan APC, mientras que la tasa de mortalidad, aunque no significativamente distinta, tiende a ser algo mayor, sobre todo en arranque (Viènet, 2000). Todo ello implicaría un coste del kg de carne 1 ct € mayor (+ 1,5%) por esta razón. A destacar que las normas de bienestar animal y de control de *Salmonella* vigentes en Suecia añaden otros 7 ct € de sobre coste. Las especiales exigencias y alto poder adquisitivo de los consumidores suecos parecen haber compensado sobradamente estas desventajas.

Las resistencias microbianas a los antibióticos han disminuido (informe SWARM 2004), lo que se ha relacionado con la reducción del consumo ganadero de antimicrobianos en más de un

60% (**Figura 2**). Algunos señalan que este descenso en volumen no es tal si se considera la biopotencia de los terapéuticos que se emplean (por ejemplo, la tiamulina tiene similar eficacia a la oxitetraciclina a una dosis 12 veces menor); así, en el período 1986-96 el consumo de antibióticos en Tm se redujo en un 25%, pero el incremento del uso de los más potentes equivaldría a un aumento superior al 100% (Ziggers y van der Sluis, 1998). También se ha indicado que la producción fecal de los broilers criados sin APC ha aumentado en un 2-3%.

Los criterios y resultados defendidos por Suecia en la U.E. han tenido una influencia decisiva en la adopción de la vigente política comunitaria respecto a los APC (y también en otros ámbitos). Su gobierno comienza a plantearse una futura retirada de los antibióticos ionóforos utilizados en la prevención de coccidiosis, y su sustitución por la vacunación.



## 2.2. Experiencia en Dinamarca

En este país, cuya producción de broilers (130 millones/año) y sobre todo porcina es muy superior a la de Suecia, la prohibición de todos los APC data de 1998. El sector de producción de broilers decidió voluntariamente dejar de usarlos casi un año antes. Desde entonces, la producción de pollos ha crecido a un ritmo del 0,4% anual, mientras que la de porcino, mucho más afectado por la prohibición, se ha reducido en un 1,4% por año.

Emborg y col. (2001) analizaron los datos productivos de 6.815 manadas criadas entre el 11/95 y el 7/99, concluyendo que la retirada de los APC no afectó a la productividad (en kg/m<sup>2</sup>) ni al porcentaje de mortalidad (tampoco aumentaron las bajas por EN), aunque incrementó el índice de conversión en 16 g/kg (algo menos del 1%). Los resultados medios sin APC, para pollos de 1,6-1,7 kg de peso vivo, fueron respectivamente de 43, 3,9 y 1,796 (inmediatamente después de la prohibición el IC aumentó a 1,83), aunque con una amplia variabilidad en todos los casos.

Estos investigadores efectuaron un análisis estadístico multivariante, incluyendo 20 posibles causas de esta variabilidad (estirpe, fábrica de pienso, incubadora, tamaño del lote, edad de sacrificio, % trigo en la dieta, etc, etc), y concluyeron que no había diferencias estadísticamente significativas entre los resultados productivos anteriores y posteriores a la prohibición. Las variables más influyentes sobre la mortalidad y la productividad fueron, respectivamente, el % de bajas en la primera semana y la densidad de cría. En este período, evidentemente, también se llevaron a cabo cambios importantes en la formulación de las dietas, tanto en sus ingredientes como en sus niveles nutritivos.

La Organización Mundial de la Salud realizó en 2003 una valoración de la experiencia danesa, que confirma estas conclusiones. Se estimó que el IC había aumentado en un 2,3%, lo cual se consideraba “sobradamente” compensado por el ahorro de costes derivado de la no inclusión de APC. Un año después de la prohibición, el consumo de amoxicilina para tratar brotes de EN en 1700 manadas subió a 24-25 kg de producto activo desde los 1-2 kg empleados en 1998, y también creció transitoriamente el nivel de decomisos (+0,1%); pero el informe concluye que la EN es hoy un problema menor, pues se siguen usando ionóforos, aunque su incidencia es mayor en aves vacunadas frente a coccidiosis. En el ámbito medioambiental las consecuencias en la eliminación de N y P en las heces, en claro descenso en los últimos años, se consideraban insignificantes. Por tanto la OMS concluyó que se puede prescindir de los APC “en condiciones de producción similares a las danesas”.

Tanto los informes anuales del DANMAP como este informe de la OMS coinciden en que el uso total de antibióticos en la ganadería danesa se ha reducido sustancialmente (54%) entre 1994 (205,7 Tm de producto activo) y 2003 (94,2), en especial en el sector del broiler, donde se tratan menos del 1% de los pollos, y durante sólo 0,4 días de media global. Sin embargo, en el período 1996-2001 aumentó a razón de 9 Tm/año sobre todo en porcino; y un 5,6% más en 2003 que el año anterior. Según el informe DANMAP, la avicultura danesa sólo consume el 0,4% del total de antibióticos, 100 veces menos que el porcino y el vacuno por kg de carne producida. Debido a su eficacia para tratar los problemas de enteritis necrótica, la amoxicilina supone un 65% de este consumo, aunque la mitad que en 2002. Por la misma razón, entre 1994 y 1999 hubo un gran aumento del consumo de ionóforos (sobre todo salinomina), pero ahora es menor que antes de la prohibición de los APC.

En este mismo período las resistencias a vancomicina de enterococos aislados de canales de pollo bajaron del 60-80% al 5-35%, no así a la avilamicina, aún empleada en esas fechas. Tras la prohibición de los demás APC, las resistencias bacterianas han disminuido (**Figura 3**), y ahora los enterococos de origen humano resisten poco a las estreptograminas, relacionadas con la virginamicina. Por el contrario, no ha habido ningún cambio en las resistencias de las Salmonellas. La prevalencia de *S. Enteritidis* en broilers y en humanos ha bajado, pero la de *Campylobacter* ha ido aumentando de forma continuada, aunque ello venía ocurriendo desde años antes de la prohibición de los APC.

### 2.3. Disbacteriosis y enteritis necrótica

Para algunos son distintas manifestaciones del mismo problema. La disbacteriosis (SIBO) se caracteriza por la presencia de una flora anormal en calidad y/o cantidad en intestino delgado; a menudo hay una reducción de bacterias Gram-, y un incremento de Gram+ con respecto a lo normal. *Clostridium spp.* contribuye a este exceso de proliferación bacteriana, que causa mala absorción de nutrientes. Es más difícil de detectar que otros procesos entéricos: Generalmente se manifiesta después de los 21 días, con un cambio en el aspecto de las heces (viscosas y húmedas, de color pálido y algunas sonrosadas), camas húmedas, aumentando el consumo de agua y disminuyendo el de pienso. Para identificarla se están utilizando cajas diseñadas para la recolección y valoración de la morfología de las heces. Hay que tener presente que hay muchos otros factores que pueden provocar camas húmedas (López Coello y col., 2003).

La enteritis necrótica (EN) es una enfermedad conocida desde hace décadas (Hafez, 2002). Está causada por *Clostridium perfringens* tipo A y C que migra desde ciegos e intestino grueso al delgado, donde produce toxinas que dañan la mucosa. La edad de presentación es variable: En broilers puede darse entre 1 y 6 semanas, entre 4 y 16 semanas en futuras reproductoras, y desde 10 días en pavos (más frecuentemente a las 4-6 semanas, junto a coccidiosis). En pollos lo más común es que comience hacia los 12 días, alcanzando un máximo a los 20-25, cuando aumentan las condiciones anaerobias en el intestino; en Francia se diagnostica más a menudo entre 25 y 35 días (Viènet 2000). Los signos clínicos varían con la edad, en la 1ª semana predomina la mortalidad, entre 8 y 21 días la presencia de contenido intestinal acuoso, y las camas húmedas a partir de las 4 semanas (van der Sluis, 2000).

La EN puede presentarse en forma subclínica, aguda o sobreaguda. En la primera hay diarrea, con heces más pálidas, líquidas, viscosas y pegajosas, lo que provoca una cama muy húmeda y resbaladiza. La relación agua/pienso aumenta (no siempre), así como la heterogeneidad de la manada, y disminuyen el consumo y crecimiento. Pueden aparecer problemas secundarios, como trastornos locomotores o aerosaculitis. La forma subclínica causa más pérdidas por las mermas de productividad que por la mortalidad, ya que no siempre es diagnosticada, y a menudo se interviene tardíamente (van der Sluis, 2000a). En las formas agudas, según la gravedad, la mucosa de yeyuno e íleon presenta una inflamación de tipo catarral ulcerativa o hemorrágica, e incluso una membrana fibrino-necrótica de aspecto "aterciopelado". La mortalidad oscila entre el 2 y el 10%, pero en la forma sobreaguda alcanza hasta un 40-50% en pocas horas. Los cadáveres se hallan en decúbito lateral, su vientre es verdoso, y se pudren rápidamente.

El tratamiento de la EN es muy eficaz si se diagnostica pronto. Los antibióticos más activos son la amoxicilina y otras penicilinas, eritromicina y estreptomycinina (mínimo 3 días), y la tilosina (7 días a 100 ppm). Los prebióticos (FOS, MOS), y los aceites esenciales son ineficaces si ya hay enfermedad, y los tratamientos con *Lactobacillus* pueden agravarla. En cambio, los probióticos ayudan a prevenirla, sobre todo por exclusión competitiva (Hofacre, 2001).

La colangiohepatitis es otra manifestación de la clostridiosis (quizá su forma crónica), a menudo sólo se detecta en mataderos, sin problemas clínicos visibles en granja. Provoca un aumento de canales desclasificadas (3-5%) y de hígados decomisados, que pueden llegar al 10-20% (Tice, 2001). Pero ésto sólo supone el 20% de las pérdidas totales (Morrow, 2001), pues en las manadas afectadas se suele observar un ligero aumento de mortalidad, una reducción del crecimiento, y camas húmedas, que eventualmente conducen a otras patologías. Su incidencia parece variar según los países; en el Reino Unido es un problema muy frecuente, y sólo esporádico en Holanda (van der Stroom, 2002); en España empieza a aparecer ahora.

Estos procesos han aumentado en los últimos años en toda la UE (Mateos y Lázaro, 2001; Williams, 2005). Según datos franceses (Balloy, 2004), en este país las enteritis suman el 48% de las patologías en broilers, la EN el 12% y las enteritis inespecíficas (que quizá están subestimadas, pues muchos casos no llegan al laboratorio de diagnóstico), el 8%. En pavos los

procesos entéricos alcanzan el 38%, de los cuales la EN supondría el 16% y las enteritis inespecíficas, el 53%. En una encuesta de van der Sluis (2000b) entre 200 veterinarios de todo el mundo, un 75% declaró que la EN era un problema mayor que años atrás, o que no había mejorado, y su incidencia, gravedad, y pérdidas consiguientes eran mayores en la UE.

El incremento de los problemas entéricos está sin duda ligado a la retirada de los APC; en los países escandinavos su incidencia fue considerable en los primeros años, pero también ha crecido en el resto de la UE. Entre 1995 (prohibición de la avoparcina) y 1999 los casos de disbacteriosis aumentaron en Holanda del 0,3 al 5,6% (Tice, 2001), y los de EN en Francia, del 4 al 12,4% (Williams, 2005). En Alemania los casos anuales de EN se han duplicado desde 1995, y hoy es una de las patologías más importantes (Köhler, 2000). Esto es lógico si se tiene en cuenta que *Cl. Perfringens* es muy sensible a la avoparcina, bacitracina y virginiamicina (éstos últimos prohibidos desde 1999), y mucho menos a la avilamicina y tilosina, mientras que la flavomicina carece de actividad (Pasmans y col., 2004; Hofacre y col., 2004). Actualmente la EN sigue siendo un problema, aunque menor que poco después de 1999; en 2006 podría resurgir, por lo que se están realizando grandes esfuerzos para mejorar el manejo y adaptar los programas de alimentación (de Gussem, 2004).

Hasta ahora la mejor línea de defensa frente a la EN ha sido el recurso a los coccidiostatos ionóforos. Todas las cepas de *Cl. Perfringens* son sensibles a la narasina, salinomicina, monensina, maduramicina y lasalocid sódico; la narasina es 2-4 veces más eficaz que la avilamicina (Pasmans y col., 2004; Martel y col., 2004). De hecho, los ionóforos tienen mejores ventas en aquellos países donde se han retirado totalmente los APC.

La EN es un problema multifactorial. Se ha demostrado la presencia de *Cl. Perfringens* en el aparato reproductor, lo implica una posible transmisión vertical (Craven y col., 2001), y también que puede contaminar el pienso; con recuentos desde  $10^2$  ya inducen depresión del crecimiento, y desde  $10^4$  pueden provocar EN (Köhler, 2000). El manejo es fundamental, pues esta enfermedad varía mucho de unas granjas a otras: Son factores predisponentes las malas condiciones ambientales, las camas húmedas, los bebederos de plafón, las altas densidades de cría, el consumo de cama (donde pueden resistir las esporas), las desinfecciones mal realizadas, y los vacíos sanitarios muy cortos. También influyen otras patologías, como inmunodepresión, salmonellosis, candidiasis del buche, y en especial la coccidiosis.

El papel de los coccidios en el desencadenamiento de la enteritis necrótica, a través de las lesiones que provocan en la mucosa intestinal es bien conocido, aunque ello depende del grado de lesión y del tipo de *Eimeria*; *E. maxima*, *acervulina*, y *necatrix* son las especies más implicadas (Tice, 2001; Williams, 2005). Las pérdidas por EN se duplican si también se da una infección subclínica coccidiosis (Köhler 2000). Por ello en ausencia de APC se ha de prestar especial atención al programa anticoccidióstico; los químicos carecen de actividad frente a clostridios, entre los ionoforos la narasina a 70 ppm sería el más eficaz en condiciones de campo (Brennan, 2001). El creciente recurso a la vacunación contra coccidiosis en broilers ha hecho temer un incremento de la EN en manadas vacunadas (Enberg y col., 2001), lo que de momento no se ha hecho realidad en los países donde su uso es mayor (Williams, 2005).

Existe una amplia gama de factores nutricionales que pueden predisponer a la disbacteriosis y/o clostridiosis, que serán revisados a continuación. Sin olvidar que en Europa se han producido otros cambios en la alimentación avícola, como la prohibición de harinas de origen animal, que también han tenido sus consecuencias en la incidencia de estos problemas.

## **2.4. Repercusiones en la nutrición aviar**

En primer lugar hay que tener presente que en la UE se emplea en alimentación de las aves una mayor variedad de cereales y proteaginosas que en otras partes del mundo, debido a la insuficiencia de su producción agrícola de maíz y soja. A partir de los años 80 el desarrollo de

los aditivos enzimáticos capaces de hidrolizar los polisacáridos no amiláceos (PNAs) presentes en trigo y cebada (que causan el aumento de la viscosidad intestinal con la consiguiente reducción de la digestibilidad y la productividad) permitió utilizar elevadas proporciones de estos cereales. Hoy no es infrecuente en piensos de crecimiento de broilers alcanzar cifras próximas al 50% de trigo o el 35% de cebada, y a veces más; pero en ocasiones se observan problemas de digestibilidad y camas húmedas, causados por la inadecuación entre contenido real de los cereales en PNAs y dosis de enzimas, o bien por problemas de dosificación o de inactivación de estos enzimas en el curso de la fabricación del pienso. Hay empresas que llegan a duplicar la dosis recomendada, especialmente cuando llegan los cereales de nueva cosecha, más ricos en PNAs.

Tras la crisis de las “vacas locas” en 2001 se prohibió el uso de harinas de carne incluso en cerdos y aves (aunque nunca se han detectado encefalopatías espongiiformes en estas especies), y (en la práctica) también de harinas de pescado, pues es obligatorio contar con líneas de fabricación separadas para piensos de monogástricos y rumiantes (para los que están igualmente prohibidas), lo que es imposible de cumplir para muchas fábricas de pienso (90% en España). Como resultado, a partir de esta fecha la inclusión de soja en las dietas avícolas aumentó en un 50-100% (**Cuadro 5**), así como la de grasas y fosfatos minerales.

**Cuadro 5. Fórmulas para broilers antes y después de la prohibición de harinas animales**

Tipo de pienso	Arranque, 0 - 21 días		Crecimiento, 22 - 35 días	
	Con harinas de origen animal	Sin harinas de origen animal	Con harinas de origen animal	Sin harinas de origen animal
Maíz	13,6	11,06	1,1	
Cebada	5,0			
Trigo	40,0	40,0	60,0	54,4
Girasol integral	4,7	3,5	3,5	0,5
Soja 47	21,5	31,7	14,4	29,9
Pipas de girasol	2,3	4,0	5,0	4,6
Grasa 3-5	4,1	6,0	5,0	7,0
Harina de carne	5,0		7,0	
Harina de pescado	2,0		2,8	
Bicarbonato Na	0,09	0,10	0,24	0,14
Carbonato Ca	0,68	1,10	0,24	1,07
Fosfato bicálcico	0,21	1,55		1,53
Cloruro sódico		0,30		0,30
Alimet	0,17	0,14	0,13	0,1
Lisina 50	0,21	0,09	0,12	
Colina	0,05	0,04	0,04	0,04
Enzimas	0,12	0,12	0,12	0,12
Corrector	0,30	0,30	0,30	0,30

Todo ello causó un alza de los costes del pienso del orden del 2-2,5%; en Dinamarca los costes de producción aumentaron en 2001 en 1,7 cts €/kg de pollo y en 9,4 cts €/kg de huevos (Engberg y Petersen, 2001). Esta situación originó nuevos problemas (Tice, 2001), pues no es infrecuente que en las dietas actuales se supere el 40% de ingredientes derivados de la soja. En estas condiciones su abundancia en lecitinas y oligosacáridos naturales, mal utilizados por las aves, y en potasio, puede crear problemas de digestibilidad y de heces viscosas y camas húmedas. A ello se añade no pocas veces la presencia de factores antinutricionales a causa de un procesamiento inadecuado y un insuficiente control de calidad. Se están aceptando valores de 6-8 mg/kg de inhibidores de tripsina en habas de soja tratadas, cuando lo recomendable es no pasar de 4 mg/kg (Mateos y col., 2002).

Por otra parte, los ingredientes más utilizados para sustituir a la soja (girasol, colza, guisantes y altramuces), también incluyen PNAs y/o factores antinutritivos, por lo que tienen sus riesgos, y su inclusión ha de limitarse necesariamente (Ortiz, 2004) en espera de disponer de aditivos enzimáticos apropiados para estas proteaginosas y para otros cereales (Brufau y col., 2002; Choct, 2004). El aumento del uso de grasas hace vital controlar su calidad para evitar problemas de toxicidad o de digestibilidad, especialmente en piensos de arranque; además, la mala imagen de las grasas animales entre los consumidores europeos ha potenciado la producción de pollos alimentados con dietas estrictamente vegetarianas

- Factores predisponentes a la disbacteriosis y clostridiosis. Han sido revisados, entre otros, por Kaldhusdal (1999, 2000), Dudley-Cash (2000), Morrow (2001) y Tice (2001). Aún se tiene un conocimiento parcial de los mismos, y los datos experimentales son a veces contradictorios, reflejando quizá los muchos y diversos factores implicados. El más importante quizá sea el cereal predominante en la formulación. Con dietas maíz-soja los problemas de enteritis necrótica son esporádicos (Waldroup, 2002) y menos graves en caso de producirse (Morrow, 2001). De hecho, en los pollos "label" franceses, criados en régimen extensivo y con piensos basados en maíz (por los requisitos comerciales de pigmentación de sus canales), la frecuencia de EN y disbacteriosis es escasamente la mitad que en broilers (Balloy, 2004). En los años en que aún se usaba la mayoría de los APC, los primeros brotes de EN se registraron al pasar de dietas con maíz a dietas con trigo y cebada (Schaller, 1998; Williams, 2005); en Dinamarca se suele forzar la sustitución de un tercio del trigo por maíz en piensos de arranque. Kaldhusdal (2000) recomienda el uso de un mínimo del 20% de maíz en esta fase.

Las dietas con maíz producen menos materias fermentables en el intestino grueso que las que incluyen altas proporciones de cereales ricos en PNAs. El aumento consiguiente de la viscosidad intestinal ralentiza el tránsito y perjudica la absorción de nutrientes, con lo que las bacterias disponen de más sustrato no digerido y de más tiempo para fermentarlo, lo que facilita su proliferación (Bedford, 2000). Por esta razón en la EN se observa cierta variación estacional; es más frecuente en primavera-verano, coincidiendo con el uso de los cereales de nueva cosecha, más abundantes en PNAs (Williams, 2005) y el uso de enzimas. El arroz induce una mayor proliferación de CP en ciegos que trigo o cebada (Francesch y col., 1999).

Hay menos acuerdo en la influencia de los ingredientes proteicos. La harina de pescado se ha usado para provocar experimentalmente la EN, pero también para aliviarla a nivel de campo (Mateos y col., 2002), y se ha indicado que la harina carne resulta más peligrosa en dietas basadas en trigo y en invierno. En algún estudio los piensos con soja han causado más EN que usando colza o guisante. Es muy posible que la calidad de la proteína (alta digestibilidad, ausencia de factores antinutritivos) sea mucho más importante que su origen; si su digestión en el intestino delgado es mala, llega en gran cantidad al grueso, y es degradada por *C. perfringens* (Bedford, 2000).

También se ha señalado que el uso de grasas animales tiene un mayor riesgo que el de aceite de soja. Este tema está poco estudiado, pero es sabido que los pollitos digieren mal sebos y manteca, abundantes en ácidos grasos saturados. Las grasas oxidadas, las micotoxinas, y las aminos biógenas son otros factores de riesgo de EN, al provocar lesiones en la mucosa intestinal. Al parecer ni las vitaminas liposolubles ni minerales como Zn y Se afectan a los recuentos cecales de *C. perfringens*.

Otros aspectos relevantes en la prevención de disbacteriosis y EN son el procesado, la presentación y manejo del pienso (Mateos y col., 2002). El tratamiento térmico (85 °C, 12 minutos) sin presencia de ácidos orgánicos puede reducir la contaminación por esporas de clostridios. La molienda fina del trigo puede causar atrofia y mal funcionamiento de la molleja, así como un peor desarrollo de la mucosa intestinal y la reducción de la secreción de enzimas; se considera beneficioso un tamaño de partícula mayor de 4 mm. En algunos países de la UE (Suecia, Dinamarca, Holanda, Reino Unido) es frecuente diluir el pienso agregando hasta un 30% de trigo entero. Los mejores resultados se obtienen cuando esta adición se realiza tras la

granulación (Wu y col., 2004; Kutlu y col., 2004), pues en granja es difícil lograr una mezcla adecuada y tiende a empeorar la uniformidad de la manada. Esta práctica estimula la función de la molleja y ayuda a inhibir la proliferación de *C. perfringens* (Bjerner y col., 2004), sin reducir su excreción fecal.

Además, en el Reino Unido se aconseja para prevenir la EN que hasta 21 días los cambios de formulación sean mínimos, mezclar cereales viejos y nuevos, y añadir bicarbonato sódico para compensar posibles excesos de potasio de la soja. Y todas las recomendaciones coinciden en la necesidad de implementar un buen control de calidad de los ingredientes

### **3. ADITIVOS ALTERNATIVOS A LOS APC**

Sin APC, para alcanzar una producción óptima sigue siendo necesario disminuir las agresiones a las aves de su entorno (a través de la mejora de la higiene y del manejo) y/o intentar optimizar la capacidad de defensa del animal. Una de las posibles vías para ello es la nutrición, y por ello en los últimos años se está investigado una gran cantidad de sustancias susceptibles de ser utilizadas como aditivos alternativos.

Pero muchas de estas alternativas fallan en la práctica, por muy diversas razones: Irregularidad en la concentración de sus componentes activos; porque su mecanismo de acción no se corresponde con la situación que experimentan las aves; por falta de adaptación a los nuevos procesos de fabricación, o porque reaccionan con los ingredientes del pienso. A veces otro motivo consiste en el empleo de técnicas experimentales poco adecuadas para simular las complejas condiciones ambientales en que se desenvuelve la producción avícola comercial

Los ensayos *in vitro* suelen ser el primer paso en el estudio de un posible aditivo, en especial si se buscan acciones antimicrobianas, pero a menudo los resultados se corresponden poco con lo que sucede dentro del intestino del ave. Los experimentos con animales alojados en jaulas, o aquellos que finalizan antes de los 40 días de edad no proporcionan una evaluación realista (Shane, 2003). Incluso los estudios realizados en granja experimental y con un elevado número de réplicas no se repiten en condiciones de campo, debido a que normalmente las condiciones ambientales y de salud de las aves suelen ser óptimas, lo que rara vez ocurre en la realidad. Por ello, para evaluar las sustancias candidatas a sustituir a los APC, algunos investigadores han desarrollado modelos en los que también se sitúa a las aves en condiciones desfavorables para su integridad intestinal, ya sea aportando en su dieta un material altamente viscoso (carboxi-metil celulosa), que favorece la proliferación microbiana intestinal, o bien infectándolas con reovirus a fin de inducir un síndrome de mala absorción (Huurne y Smits, 1999; Gutiérrez del Álamo y col., 2005).

Son muchas las sustancias que hoy se están utilizando en la UE como sustitutos de los APC; además, existen otras con interés potencial para el futuro. En todos los casos es importante comprender sus mecanismos de acción y las condiciones en que actúan, ya que su eficacia dependerá de ellas. El **Cuadro 6** intenta sistematizar los distintos grupos de sustancias y sus acciones. Seguidamente se revisa lo más esencial de nuestros actuales conocimientos.

#### **3.1. Con acción sobre la inmunidad**

##### **3.1.1. Inmunoglobulinas en pienso.**

Estos anticuerpos (AC) se obtienen del suero de animales hiperinmunizados, aunque una de las fuentes más interesantes es la yema de huevo. Intervienen en la inmunidad pasiva específica, por lo que su eficacia está en relación con la especificidad de los AC frente a los patógenos o antígenos en el medio intestinal (Bergman y col, 2005). Puede que a veces actúen de modo inespecífico, impidiendo la adhesión de los patógenos a la pared intestinal

(Zimmerman, 1997), lo que falta por comprobar, así como su resistencia a los procesos de fabricación y a la digestión gástrica. En un estudio en patos se pudo prevenir la colonización por *S. Enteritidis*, y también hubo sinergismo con la acción de probióticos (Fulton y col., 2002).

### 3.1.2. Inmunoestimuladores.

Activan el sistema inmunitario local, que responde de forma similar a un desafío por patógenos. Se obtienen de las paredes celulares de levaduras, hongos, bacterias, células animales, o de forma sintética, y hasta ahora se han estado usando en muchas vacunas. Su estructura química es muy variable (glucanos, péptidos, polímeros glucosa, glucoproteínas, lipopéptidos, liposacáridos,...). Los últimos son los más estudiados, y su actividad está ligada a un núcleo  $\beta$ -1,3 glucano; para el cual los macrófagos animales poseen receptores específicos.

Su interés actual es relativo, pues no se conoce su dosis óptima ni el tiempo de administración ideal, aunque hay disponibles algunos productos comerciales (Blecha, 2001). En pollos hay pocos estudios; al parecer no hay relación dosis-respuesta; las dosis intermedias son más eficaces, y las altas no tienen efecto o incluso pueden ser tóxicas. Su administración continuada puede inducir una excesiva estimulación inmunitaria, cuyos efectos son la reducción del crecimiento y de la acreción de músculo. Hay dudas sobre su resistencia a la granulación, y su coste es elevado.

**Cuadro 6. Tipos de aditivos en pienso estimuladores de la capacidad de defensa de los animales frente a microorganismos patógenos.** Adaptado de Santomá, 1999

Grupo	Aditivos	Mecanismo acción
Inmunoglobulinas	Anticuerpos obtenidos de suero o yema de huevo	Aportan inmunidad pasiva
Inmunoestimuladores	Preparados de la pared celular de bacterias, hongos, levaduras, animales y sintéticos	Activan el sistema inmunitario
Nutrientes inmunomoduladores	Algunos ácidos grasos: ALC, $\omega$ -3 Algunas vitaminas y carotenoides Algunos microelementos	Estimulan la respuesta inmunitaria
Prebióticos	Fructooligosacáridos  Derivados de la manosa	Estimulan el crecimiento de la microbiota intestinal favorable para el animal  Bloquean la adhesión de las bacterias patógenas a la pared intestinal
Flora intestinal favorable	Probióticos Exclusión competitiva	Implantar flora favorable Prevención colonización
Favorecedores de un ambiente intestinal adecuado	Enzimas Acidificantes Extractos plantas y aceites esenciales Antioxidantes Fungistáticos Ionóforos Algunas arcillas	Hidrólisis posibles sustratos Reducción pH digestivo Acción antimicrobiana
Productos biotecnológicos	Vacunas en materias primas Proteínas anti-salmonella	

### 3.1.3 Nutrientes inmunomoduladores.

El estrés inmunológico se produce cuando los tejidos son invadidos por un patógeno, ya sea por infección natural o por vacunación. Como respuesta fisiológica se inicia la actividad fagocítica de los macrófagos y la producción de anticuerpos específicos. La actividad antioxidante de las vitaminas E y C protege a los macrófagos de su autodestrucción por el mismo mecanismo con el que combaten a los patógeno, y la síntesis de anticuerpos requiere un aporte adecuado y continuo de vitaminas del grupo B. En condiciones de campo es bien conocido que los tratamientos vitamínicos ayudan a una mejor recuperación de los animales enfermos, pero sólo hace poco tiempo que se ha profundizado en la contribución de las vitaminas a la mejora de la inmunidad y a la prevención de patologías específicas. También participan en los procesos inmunitarios algunos carotenoides, y ciertos ácidos grasos y microminerales.

Tanto en broilers como en pavos se han demostrado claros efectos positivos de una fortificación vitamínica generalizada en condiciones de estrés (Ferket y Qureshi, 1992; Coelho y McNaughton, 1995; McKnight y col., 1995; Taranu y col., 1995; Deyhim y Teeter, 1996). En particular, están bien establecidos el papel de la vitamina C para aliviar el estrés de calor (Pardue y Thaxton, 1986) y la mejora de la respuesta inmunitaria gracias a la vitamina E (Ferket y Qureshi, 1999). El coste de una mayor fortificación vitamínica (que hoy supone el 1-1,5% del coste del pienso) es limitado en relación con la posible mejora.

Los estudios realizados en condiciones prácticas de campo por Coelho y McNaughton (1995) en broilers y McKnight y col. (1995) en pavos demostraron que las empresas que usaban mayores niveles de suplementación lograban mejores crecimientos, conversión del pienso y viabilidad de las aves, especialmente en condiciones de estrés moderado, y en rendimientos en matadero, que compensaban ampliamente el coste adicional. Esto ha sido confirmado específicamente en investigaciones análogas para la vitamina E (Kennedy y col., 1992; Bird, 1999) con niveles de 180-240 ppm, y para algunas vitaminas del grupo B (Coelho y col., 2001) suplementadas 4 veces por encima de lo normal en la industria avícola norteamericana (16 veces más que los niveles NRC). Estos incrementos del contenido vitamínico no tienen porqué ser perjudiciales, pues los niveles tóxicos son 100-1000 veces mayores que los mínimos requerimientos (NRC, 1987; Leeson y Summers 1997), salvo para las vitaminas A y D<sub>3</sub> (unas 10 veces).

- Vitamina A. Sus efectos inmunomoduladores requieren un aporte mayor que el recomendado por el NRC, que se estima entre 3 y 10 veces más; así lo han confirmado estudios con diversos agentes patógenos en pollos y pavos, aunque la dosis óptima no parece ser la misma para prevenir todas las enfermedades (Tengerdy, 1975; Davis y Sell, 1989; Sijtsma y col., 1990, 1991; Friedman y col., 1991; Rombout y col., 1992; Sklan y col., 1994, 1995; Aye y col., 1999; Dalloul y col., 2000).

- Vitamina E. Reduce la síntesis de prostaglandina E<sub>2</sub> y modula la producción de citoquinas, por lo que contribuye a la inmunidad humoral y celular. Es especialmente importante como promotor de la actividad fagocítica de los macrófagos, especialmente a nivel del timo, así como en otros mecanismos de la inmunidad mediada por células (Chang y col., 1990; Erf y col., 1998; Konjufca y col., 1999).

La relación entre vitamina E e inmunidad se vislumbró por primera vez en 1975; Tengerdy y Nockels lograron aumentar con 300 ppm la respuesta inmune y reducir la mortalidad frente a un desafío de *E. Coli*; trabajos posteriores hallaron efectos similares, con dosis entre 100 y 300 mg/kg, tanto en colibacilosis (Siegel y col., 2000) como en coccidiosis (Colnago y col., 1984). Pero subsiste bastante discusión. Allen y Fetterer (2002) consideran inconsistentes los resultados de Colnago, y en sus propios experimentos no hallaron mejoras en peso vivo ni índice lesional ante un desafío por *Eimeria máxima*; Friedman y col. (1998) observaron peor respuesta humoral frente a una infección colibacilar con 30 ppm que con 10, mientras que

Leschinsky y Klasing (2001) concluyeron que niveles de sólo 25-50 ppm son inmunomoduladores en broilers, y que los de 100 y 200 mg/kg son menos eficaces para aumentar las tasas de AC tras una vacunación de bronquitis.

Hay varias hipótesis para explicar estas discrepancias. En primer lugar, el efecto de la vitamina E sobre la respuesta humoral parece distinto según el antígeno considerado, y en ciertos procesos la respuesta inmunitaria celular tiene gran importancia (Leschinsky y Klasing, 2001). Otros señalan que la magnitud de las respuestas difiere según el grado de desafío del patógeno, muy variable en los diversos experimentos. Por otra parte, en algunos estudios se han hallado distintas respuestas según la estirpe considerada (Maurice y col., 1993; Siegel y col., 2000). Es muy probable que en los próximos años nuevas investigaciones contribuyan a aclarar esta cuestión.

En general las dosis que se proponen para mejorar el estado inmunitario son mucho mayores (100-300 ppm) que las normales, lo que significa un coste añadido importante y plantea cuál es la relación coste/beneficio. Algunos trabajos han adoptado este enfoque: Kennedy y col. (1991) observaron mejoras significativas en los índices de crecimiento y conversión de 168 manadas (3 millones de broilers) gracias al uso continuado de 160 mg/kg de vitamina E. La evaluación económica arrojó un beneficio del 8,4%, y tras descontar el coste de la vitamina E (ciertamente elevado, al mantener este alto nivel todo el cebo) de un 2,7% de media, siendo bastante mayor en los criadores con peores resultados.

- Vitamina D. Participa en la inmunidad inespecífica mediada por células T. Hay indicios de que la suplementación con 25-OH mejora la respuesta inmunitaria a las vacunaciones y en situaciones de estrés, como coccidiosis (Mireles, 1997; Mireles y col., 1999).

- Vitaminas hidrosolubles. Whitehead (1999) considera que los requerimientos de riboflavina para el crecimiento en condiciones de estrés podrían ser 2 veces más altos que los estipulados por el NRC, si se asume como criterio adicional el bienestar de las aves. Las recomendaciones de las principales firmas de selección genética van en este sentido. Asimismo, una concentración de biotina un 200% mayor que la indicada por el NRC permite una reducción significativa de las lesiones por infección de reovirus (Cook y col., 1984 a,b).

- Vitamina C. Hay más coincidencia en su capacidad para aumentar la respuesta inmunitaria frente a determinadas enfermedades. El ácido ascórbico favorece la función leucocitaria, aumentando el número y tamaño de los linfocitos del bazo. También previene los daños producidos a los órganos linfoides por los corticoesteroides en situaciones de estrés patológico o ambiental (Gross, 1988; Gross y col., 1988). Para este fin se precisa utilizar antes y durante el desafío del patógeno niveles de 300-330 mg/kg o superiores, aunque a veces se ha hallado una menor eficacia al aumentar la dosis por encima de 300-400 ppm (Gross y col., 1988; Davelaar y van der Bos, 1992). Los efectos más comúnmente observados consisten en reducciones significativas de la mortalidad y de las lesiones, y mejora de la inmunidad celular y de las tasas de anticuerpos específicos. También es importante su función antioxidante, que permite mantener la estabilidad de las membranas celulares. En el ámbito de los procesos digestivos se han observado respuestas positivas frente a la coccidiosis (McKee y Harrison, 1995; Creveieu-Gabriel y Naciri, 2001) y la colibacilosis (Gross y col., 1988; van Niekerk y col., 1989),

- Carotenoides ( $\beta$ -caroteno, cantaxantina, astaxantina) comparten estas propiedades antioxidantes, protegiendo las membranas celulares de los radicales libres y limitando los daños a neutrófilos y macrófagos derivados de su propia acción fagocitaria (Tengerdy y col., 1990).

- Ácidos grasos. El ácido linoleico conjugado, mezcla de isómeros del linoleico, reduce la síntesis de compuestos proinflamatorios, y en algún ensayo, a dosis del 0,5%, ha neutralizado la endotoxina de *E. Coli* (Cook y col., 1993). El EPA y el DHA, de la serie  $\omega$ -3 modifican la

cantidad y los tipos de eicosanoides proinflamatorios derivados de la serie  $\omega$ -6, y parecen aumentar la resistencia a algunas enfermedades como la coccidiosis. Pero la respuesta es variable según el tipo de antígenos y de células T a estimular, y además se ha de mantener un equilibrio con los ácidos grasos  $\omega$ -6, cuyo valor óptimo no se conoce. Todos ellos están contraindicados en aquellos problemas patológicos que desencadenan una fuerte respuesta inmunitaria celular.

- Microminerales. Los más importantes para la inmunidad son el Zn y el Se, en menor grado el Cu, y en ciertos casos el Fe; en la respuesta inmunitaria hay un aumento de excreción y pérdidas de Zn y Cu y una menor absorción de Fe (Nys, 1991). El Zn tiene más efectos sobre la inmunidad que sobre el crecimiento (Pimentel y col., 1991). Hay una discusión sobre si es mayor la eficacia de las fuentes inorgánicas o de las orgánicas, como el complejo zinc-metionina (Mohanna y Nys, 1999).

### 3.2. Modificación de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal es una barrera ecológica frente a los patógenos. En muchos casos los desórdenes gastrointestinales se deben a sus alteraciones, provocadas por mal manejo, ambiente inadecuado, alimentación de baja calidad, enfermedades, infecciones, alergias y micotoxinas. Todos estos factores pueden causar proliferación de bacterias dañinas y hongos (Gedek, 1999).

La microbiota se puede modificar de forma directa, administrando un sustrato específico para las bacterias beneficiosas (prebióticos), o aportando al ave estas mismas bacterias (probióticos). La vía indirecta consiste en el uso de ciertos aditivos (como acidificantes y enzimas) que ayudan a crear un ambiente intestinal propicio para el crecimiento de ciertas bacterias y que inhiba el crecimiento de otras.

Se necesita conocer la microbiota normal de las aves si se pretende modificarla. Hasta hace poco tiempo la información era escasa y antigua (Mead, 2000). Nuevos métodos de estudio, basados en la identificación de ADN microbiano han permitido avanzar en su conocimiento, y se han encontrado más de 600 especies, de las cuales más de un 90% se desconocían previamente por la dificultad de cultivarlas con métodos tradicionales (Apalajahti y col., 2004). Además, la microbiota intestinal no es estable: Hay un proceso constante de entrada y salida de microorganismos, la composición química de la digesta (y por tanto de la dieta) determinan la distribución de las especies que la integran, y su cantidad y calidad evolucionan con la edad.

En el intestino del pollito de 1 día hay  $10^{8-10}$  bacterias/g de digesta, y a los 3 días se encuentran  $10^{8-9}$ /g contenido ileal y  $10^{10-11}$ /g de contenido cecal. Estas cantidades permanecen estables hasta los 30 días (Apalajahti y col., 2004). En el ave adulta hay unas  $10^{12-14}$  bacterias por gramo de contenido, distribuidas en 200-400 cepas (Mul y Perry, 1994).

El buche, la molleja y la mayor parte del intestino delgado están dominados por bacterias aerobias, principalmente diversos tipos de lactobacilos; otros microorganismos (enterococos gram positivos, *E. coli*, levaduras) están presentes en menor concentración. En el ciego la población es mayor y muy compleja; la mayoría son bacterias anaerobias estrictas y sólo un 25% están completamente identificadas (Mead, 2004); hay cocos anaerobios gram positivos, *Bacteroides* gram negativos y bifidobacterias. Además, hay dos tipos de poblaciones bacterianas según el nicho ecológico que ocupan (Miles, 1995): Las que se asocian al epitelio (por ejemplo *L. acidophilus*), y las que viven libres en el lumen intestinal, como *Streptococcus faecium*, que han de replicarse a alta velocidad para no ser expulsadas por el peristaltismo intestinal.

Las especies que colonizan el digestivo varían según la especie huésped, la parte del tracto en que se encuentren, la alimentación (fuente principal de microorganismos para el animal), el

estado sanitario de la explotación, y el ambiente a que se expone a los pollitos al eclosionar, cuando su tracto gastrointestinal deja de ser estéril (Bedford, 2000). El ambiente es muy importante en este momento, no sólo por las especies dominantes, sino también por el orden de exposición a ellas, porque las primeras bacterias que entren no encontrarán competencia, y si son capaces de sobrevivir en el medio intestinal allí se establecerán. A medida que vayan entrando más microorganismos, la competencia se hará más dura y solo sobrevivirán los más adaptados (Langhout, 1999). La población intestinal se estabiliza a las 3-6 semanas de vida.

Una microbiota favorable es la que incluye bacterias que favorecen la salud del animal. Sus efectos positivos comprenden síntesis de vitaminas, estimulación del sistema inmunitario, inhibición del crecimiento de bacterias exógenas y/o dañinas y ayuda en la digestión de los ingredientes y minerales de la dieta (Snel y col., 1999). Las bacterias consideradas como beneficiosas son de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, y se cree que su presencia inhibe la proliferación de enterobacterias, consideradas perjudiciales. Snel y col., (1999) incluyen también entre las bacterias beneficiosas a las llamadas bacterias filamentosas segmentadas, que se hallan adheridas al epitelio ileal de muchos animales.

Aún no están aún claros los mecanismos por los que se instaura y mantiene una microbiota beneficiosa. La exclusión competitiva es una de las teorías más afianzadas; consiste en la inhibición de la colonización de algunos microorganismos (incluyendo patógenos) por otros. Este término fue introducido por Nurmi y Rantala (1973), que idearon una técnica para aumentar la resistencia de pollitos a la infección por *Salmonella*. Administraron contenido intestinal de aves adultas sanas a pollitos de 1 día de edad, y esto redujo la carga de *Salmonella* de estos pollitos. El mecanismo preciso que controla la colonización intestinal no se conoce bien; probablemente no haya un solo efecto sino una combinación de varios. Stern (1995) resume así los mecanismos de exclusión:

- Competencia por los lugares de adhesión en el epitelio. Según Gedek (1999) el efecto beneficioso de ciertas bacterias proviene de la formación de un biofilm sobre la capa mucosa que evita la adhesión de bacterias causantes de diarrea.
- Competencia por los nutrientes disponibles.
- Producción de sustancias bactericidas o bacteriostáticas como los ácidos orgánicos de cadena corta. Las bacterias acidolácticas (*Lactobacillus*, bifidobacterias...) producen ácido láctico, que inhibe el crecimiento de patógenos gram negativos. Algunas cepas también producen otros antibacterianos (bacteriocinas y peróxido de hidrógeno), que inhiben el crecimiento de bacterias gram negativas (Ewing y Cole 1994).
- Aglutinación de bacterias ácidolácticas con los patógenos.

La exclusión competitiva es sólo uno de los mecanismos que afectan a la colonización del tracto gastrointestinal. Los microorganismos que allí entran son seleccionados por los mecanismos de defensa local, con lo que el ambiente intestinal define la microbiota que lo coloniza (Snel y col., 1999). El pH es muy importante, pues cada microorganismo tiene un pH óptimo de crecimiento; la reducción del pH del medio es una medida eficaz de controlar la población bacteriana. El buche es la primera barrera de defensa; su bajo pH ayuda a que el alimento llegue al duodeno con un número reducido de bacterias, o con bacterias menos viables. Esta acidez del buche ocurre de forma natural, ya que en esta parte del digestivo predominan las bacterias productoras de ácido láctico, aunque una acidez excesiva puede afectar negativamente la población de lactobacilos, y erosionar las células epiteliales del buche (Thompson y Hinton., 1997). El ácido clorhídrico segregado por el proventrículo también inhibe el crecimiento de determinadas bacterias. Más adelante se hablará de acidificantes y otros aditivos que modifican el ambiente intestinal.

En la primera porción del intestino delgado la defensa está a cargo de los ácidos biliares y los enzimas pancreáticos, que tienen propiedades antibacterianas, y de la mucina secretada por las células caliciformes que impide la adhesión al epitelio de muchas bacterias. Aparte de estas líneas de defensa química, los movimientos peristálticos obligan a que las bacterias deban

adherirse al epitelio o multiplicarse a una velocidad mayor a la que son expulsadas para poder colonizar el intestino (Badiola y col., 2001).

El efecto de la composición de la dieta sobre la microbiota intestinal es hoy una de las líneas de investigación más importantes en Europa. Pero aún está en sus comienzos, y los datos disponibles son escasos y a veces contradictorios, en parte debido a la alta variabilidad de los recuentos en un mismo lote de pollos. En general las dietas a base de maíz resultan en mayor cantidad de enterococos, y menor cantidad de *Cl. Perfringens* en ciegos que con trigo (Badiola y col., 2001), y en general un menor número de bacterias intestinales, pero más diversas; y lo contrario ocurre con el centeno (Ollé y col., 2002). La cebada parece aumentar el número de *Cl. Perfringens* en yeyuno e íleon, pero también de lactobacilos. El trigo aumenta la concentración de bifido y propionibacterias, aunque los efectos de trigo molido y entero son distintos (Apalajahti y col., 2004); el arroz parece ser el cereal que induce una mayor actividad de microbios perjudiciales. Estos efectos están muy ligados al contenido de los cereales en sustancias no digeribles, como pectinas, pentosanos y polisacáridos no amiláceos (Langhout, 1999), por lo que la adición de enzimas específicos puede modificarlos (Choct, 2004).

#### 4.2.1. Prebióticos.

Los prebióticos son ingredientes no digeribles que estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o varias especies bacterianas de la microbiota intestinal, y que provocan una mejora de la salud del animal. Existen cientos de compuestos con interés potencial (Choct, 2000); la mayoría son hidratos de carbono, y entre ellos los más usados en avicultura son los oligosacáridos, carbohidratos de 3-10 unidades de azúcares monoméricos. Se distinguen según sus monómeros, el tipo de unión entre ellos, la estructura de la cadena, y por sus uniones a otras estructuras no hidrocarbonadas. La mayoría presentan un enlace glicosídico  $\beta$  entre sus unidades de azúcares, que no es degradado por los enzimas digestivos, pero sí por la microbiota intestinal. Los más estudiados son los fructo-oligosacáridos (FOS), los manano-oligosacáridos (MOS) y los xilo-oligosacáridos (XOS).

Los oligosacáridos pueden ser de origen natural, pero en su mayoría se obtienen por síntesis o hidrólisis enzimática. Los FOS se obtienen industrialmente a partir de la sacarosa o por hidrólisis de fructanos de mayor tamaño como la inulina; los XOS, por hidrólisis enzimática de xilanos, y los MOS principalmente a partir de la pared celular de levaduras, aunque también los hay de otros orígenes (garrofa, sintéticos, etc.). Existen productos comerciales que contienen diferentes formas de oligosacáridos (Iji y Tivey, 1998, 1999; Spring y col., 2000). Por su estructura química estos oligosacáridos resisten la acción de los enzimas, llegando intactos hasta la parte distal del intestino delgado, intestino grueso y ciegos, donde serán sustrato para la flora bacteriana allí presente. Entre sus mecanismos de acción se pueden destacar:

- Sustrato para la microbiota beneficiosa: Los microbios del aparato digestivo son sensibles a los sustratos que les llegan vía alimentación. FOS y XOS son utilizados selectivamente por un amplio rango de bacterias intestinales sacarolíticas, como *Bifidobacter adolescent*, *B. infants*, *B. longum* y *Lactobacilli*, pero no pueden ser utilizados por patógenos proteolíticos como *Clostridium*, *Staphylococcus* y *E. coli* (Mul y Perry, 1994). Pero los prebióticos no son útiles si no están presentes las bacterias objetivo (Apalajahti y Kettunen, 2002).

- Bloqueo de bacterias patógenas: Ciertos prebióticos como los MOS se unen y secuestran a algunas bacterias potencialmente patógenas, que poseen fimbrias en su superficie capaces de unirse a determinados receptores compuestos por carbohidratos y presentes en la superficie de los enterocitos. Esta unión es un paso esencial en la patogénesis de muchas bacterias, por lo que la posibilidad de producir oligosacáridos análogos a los receptores es de gran interés para la prevención de enfermedades. Los carbohidratos con residuos de manosa poseen la propiedad de unirse a las fimbrias y bloquear la adhesión de las bacterias patógenas a las células epiteliales.

Además del bloqueo directo de bacterias patógenas, los MOS favorecen el crecimiento de algunos microbios beneficiosos Gram positivos como *Lactobacillus plantarum*, que poseen receptores sensibles a la manosa, y capaces de adherirse a la mucosa intestinal bloqueando así la adhesión de bacterias patógenas e impidiendo su colonización (Mul y Perry, 1994). Esta acción no es válida para *Campylobacter*, que prolifera en el mucus intestinal.

- Producción de sustancias antimicrobianas: Los oligosacáridos, indigestibles para el animal, son fermentados por la flora y convertidos en ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato, principalmente), lactato, y gases (dióxido de carbono, metano e hidrógeno). Así, la mejora de la flora intestinal se debe tanto al incremento de las especies beneficiosas como a la producción de sustancias antimicrobianas y la acidificación del medio intestinal, con lo que se consigue una reducción directa del crecimiento de ciertos patógenos.

- Efecto sobre la mucosa intestinal: Los enterocitos tienen un ciclo continuo de proliferación a partir de la maduración y migración de las células de la cripta intestinal. La ingestión de toxinas o la producción de amonio por la flora intestinal aceleran su descamación, lo que requiere un gasto extra de energía y proteína para el crecimiento y desarrollo de este tejido. Algunos investigadores (Santin y col., 2001) han atribuido la mejora del crecimiento observada con MOS al aumento de la altura de las vellosidades intestinales, que permite una mejor digestión y absorción de nutrientes; ello podría ser consecuencia de una mayor eficacia de la respuesta inmunitaria intestinal.

- Estimulación de la respuesta inmunitaria: Shane (2001) indica que los MOS modulan la respuesta inmunitaria, actuando sobre uno o más de los componentes implicados en la respuesta inmunitaria mediada por citoquinas. En avicultura la información es escasa y aún se necesitan estudios *in vivo* para poder llegar a conclusiones firmes en este aspecto.

La mayoría de las experiencias prácticas con oligosacáridos en alimentación avícola se han llevado a cabo para prevenir infecciones por *Salmonella*, efecto que en el caso de los FOS precisa de dosis superiores al 0,37% (Iji y Tivey, 1998). La adición de FOS o MOS en el pienso (Bailey y col., 1991; Fukata y col., 1999) o en el agua de bebida (Oyofu y col., 1989) reduce la colonización por *Salmonella*. No todas las especies de esta bacteria responden de igual forma; algunas, como *S. Infantis*, no poseen fimbrias sensibles a la manosa y son capaces de unirse a la mucosa intestinal; por ello la suplementación con manosa no reduce la colonización por *S. infantis* en pollos (Allen y col., 1997). También se han observado efectos positivos de los FOS frente a *Campylobacter* en broilers (Schoeni y Wong, 1994).

Los resultados técnicos obtenidos son muy variables y dependientes de la dosis utilizada. Los FOS se incluyen al 0,1-0,5%, y los MOS al 0,1-0,2% en arranque y 0,05-0,2% en crecimiento. Hooge y Sefton (2004) presentaron datos de 10 años de pruebas de campo con MOS, en las que la mejora media obtenida fue de 2,2% para el crecimiento, 2% para la conversión, y 24% en el índice de mortalidad; pero los resultados varían mucho de un ensayo a otro (Ao y col., 2004). Simon y Jadamus (2002), al revisar 22 pruebas realizadas con prebióticos, concluyen que en 17 de ellas se obtuvo un mejor crecimiento, aunque sólo en 9 de forma significativa, debido a una gran variabilidad de la respuesta individual.

La combinación de un oligosacárido y un probiótico apropiado (productos simbióticos) puede lograr aumentar la eficacia de ambos productos por separado. (Bailey y col., 1991; Fukata y col., 1999; Sun y col., 2004). Sin embargo, una vez más dicho efecto depende de la microbiota presente en la situación inicial, y de la dosis, vía y duración de la administración, y puede ser perjudicado por muchas situaciones prácticas como estrés, cambios de pienso, tratamientos antibióticos,... Además, un exceso de oligosacáridos puede causar una proliferación microbiana excesiva que desencadene problemas diarreicos.

En resumen, las experiencias prácticas con oligosacáridos muestran resultados zootécnicos variables. Parece necesario profundizar en sus mecanismos de acción para poder desarrollar el tipo de prebiótico más adecuado y proponer recomendaciones para su óptima utilización.

#### 4.2.2. Probióticos

El término probiótico se ha entendido de muchas formas a lo largo del tiempo. Hoy se define como un cultivo de microorganismos vivos que, utilizado como aditivo alimentario, beneficia al animal mejorando el equilibrio de su microbiota intestinal (Fuller, 1992). En Estados Unidos se usa el término "direct-fed microbials" (DFM). Para que un microorganismo sea útil como probiótico debe cumplir unas determinadas características, resumidas por Ewing y Cole (1994):

1. Seguro para el animal, sin causar enfermedad ni toxicidad.
2. Resistente al ácido y a la bilis; debe llegar vivo al intestino, por lo que debe soportar el pH gástrico y los ácidos biliares del intestino delgado.
3. Capacidad de colonización del intestino: Sólo algunas cepas se adhieren al epitelio intestinal. Esto es necesario para lograr una exclusión competitiva eficaz.
4. Capacidad de inhibir el crecimiento de patógenos: Deben producir ácidos u otras sustancias que inhiban el crecimiento de patógenos Gram negativos como *E. coli*.
5. Estables y viables durante los procesos tecnológicos
6. Estables y viables durante el almacenaje. Hay que tener en cuenta si el microorganismo usado es aerobio o anaerobio para conservarlo adecuadamente.

Santomá (1999) añade algunas características más, como elevada capacidad de multiplicación (debido al rápido tránsito digestivo), tolerancia a altas concentraciones de ácidos grasos volátiles en ciego e intestino grueso, resistencia a los antibióticos más usados, y capacidad germinativa (si son esporas). Tantos requisitos no los cumple un único microorganismo, por lo que se utilizan combinaciones de varios para que realicen su función de forma óptima. Los probióticos se pueden clasificar:

- Según su origen:

- Microbiota indígena: Puede ser un subcultivo del contenido intestinal inespecífico (varias especies sin definir) o específico (un solo microbio) Los cultivos indefinidos han mostrado más eficacia que los formados por un solo microorganismo (*Lactobacillus* o *Streptococcus* por ejemplo). Esto parece lógico, pues cuanto más variada sea la composición del probiótico será eficaz contra más microorganismos, se podrá usar en diferentes especies animales, tendrá menos efectos adversos, y cumplirá mejor con las características ideales de un probiótico. El problema es que resultan muy difíciles de registrar debido a esa inespecificidad, que los hace más "inseguros".
- Microbiota ajena a la intestinal: Los microorganismos más estudiados en avicultura son: *Bacillus*, *Enterobacterium* y *Saccharomyces* (Patterson y Burkholder, 2003).

- Según su mecanismo de acción:

- Formas vegetativas: *Lactobacillus* y *Streptococcus* han sido las más estudiadas por su producción de ácido láctico y su desarrollo comercial en humanos (Ewing y Cole, 1994).
- Esporas de *Bacillus*.
- Levaduras: *Saccharomyces* es la especie de levadura más utilizada como probiótico.

Los microorganismos usados más comúnmente como probióticos son:

1. *Lactobacilli*: Se usan con frecuencia pues no son patógenos, son componentes de la microbiota intestinal normal, y se les suponen efectos beneficiosos (Ewing y Cole, 1994).
2. *Bacillus*: Es más estable a los tratamientos térmicos y al pH gástrico debido a su capacidad de formar esporas, que deben germinar en el intestino para ser activos. No pueden adherirse a la pared intestinal pero tienen una gran capacidad de multiplicación.

Favorecen el desarrollo de *Lactobacillus* y deprimen el crecimiento de *E. Coli*, *Clostridium*, *Streptococcus*, y *Enterobacteriaceae*. Además, durante la germinación de las esporas se liberan enzimas que ayudan a la digestión (Gedek, 1999).

3. *Streptococci*: También forman parte de la microbiota intestinal y producen ácido láctico. Sus características beneficiosas son similares a las de los lactobacilos, pero se han estudiado menos porque algunas especies pueden ser patógenas (Ewing y Cole, 1994).
4. *Saccharomyces*: Muy usado en medicina humana para combatir las diarreas causadas por antibióticos. Sus características favorables según Hooge (1995) y Stern (1995) son que crece muy bien a 37°C (con lo que sobrevive a la mayor temperatura corporal de las aves), resiste el pH del proventrículo y tiene un efecto antimicrobiano, del cual no se conocen bien los mecanismos de acción. Sin embargo, no es capaz de colonizar el tracto gastrointestinal, por lo que se debe administrar a diario para que funcione. Se está estudiando la presencia de carbohidratos complejos en su superficie, que pueden tener propiedades deseables para controlar los patógenos intestinales, como adsorción de bacterias y aumento de la secreción de Ig A (Spring, 2000).

El principal mecanismo de acción de los probióticos es la exclusión competitiva, pero se han sugerido muchas otras acciones beneficiosas (Jin y col., 1997; Gedek, 1999):

- Aumento de la actividad enzimática del animal (Sissons, 1989). Las levaduras provocan un aumento de la actividad disacaridasa, con lo que se evitarían las diarreas causadas por disacáridos sin digerir (Hooge, 1995). *Lactobacillus* produce un aumento de la actividad amilasa en el intestino delgado (Jin y col., 2000).
- Disminución de la producción de amoníaco al reducir la actividad ureasa, con lo que se produce menos amoníaco, abrasivo para los enterocitos (Yeo y Kim, 1997).
- Neutralización de enterotoxinas, por ejemplo *L. bulgaricus* neutraliza enterotoxinas de *E. coli*. (Mitchell y Kentworthy, 1976)
- Síntesis de vitaminas (Ewing y Cole, 1994) por especies de *Lactobacillus*.
- Estimulación general del sistema inmunitario. Las bacterias que se adhieren a la pared intestinal son reconocidas como antígenos por las células inmunitarias de la lámina propia, con lo que se consigue un efecto estimulante de las defensas (Gedek, 1999; Koenen y col., 2004). También las levaduras tienen esta propiedad.
- Disminución del pH. Los lactobacilos producen ácidos orgánicos al metabolizar la fibra (Ewing y Cole, 1994) que reducen el pH, inhibiendo el crecimiento de patógenos.
- Adsorción de patógenos gram negativos: Este mecanismo es propio de las levaduras. Adsorben bacterias a su superficie, y se elimina el complejo levadura-bacteria por peristaltismo (Stern, 1995).

El uso de probióticos como aditivos ha generado mucho escepticismo, debido a la variabilidad de los resultados obtenidos en condiciones prácticas (Apalajahti y col., 2004). Las causas son diversas: Uso de cepas poco viables y/o poco resistentes a la granulación, administración inadecuada, mala elección del microorganismo, o conservación inapropiada. Chen y col. (1998) compararon un mismo cultivo en fresco y tras congelarlo a -80° durante 2 meses, y observaron una marcada reducción en su eficacia. El insuficiente conocimiento actual de la microbiota normal (ecología microbiana, interacciones con el huésped...) limita hoy por hoy el uso óptimo y estandarizado de los probióticos. Por el momento se trabaja de forma empírica, considerando la situación de cada explotación para escoger el probiótico más adecuado.

Una norma general en el uso de probióticos (como en el de los APC) es que cuanto peor es la situación inicial más marcado es el efecto positivo. Por ejemplo, Line y col. (1997) demostraron la eficacia de *Saccharomyces cerevisiae spp boulardii* en reducir los recuentos de *Salmonella* y *Campylobacter* en ciego Sólo después de someter a los broilers a un estrés por transporte.

Los trabajos más recientes con probióticos en aves se centran en el control de *Salmonella*, aunque también hay estudios sobre su eficacia contra *Campylobacter* y *E. Coli* (Line y col., 1997, 1998). Se ha comprobado que la mejor manera de administrar el probiótico es en dos pasos: En spray en la incubadora, y en los primeros días de vida en pienso o agua de bebida (Blankenship y col., 1993; Chen y col., 1998). Utilizando un subcultivo de la flora normal obtenida del epitelio del ciego de aves sanas adultas se obtuvo un efecto positivo en el control de infecciones por *Salmonella* (Chen y col., 1998) y *Campylobacter* (Blankenship y col., 1993). Line y col. (1998) aumentaron la resistencia de las aves tratadas con *Saccharomyces* frente a *Salmonella*, pero no frente a *Campylobacter*, explicando este resultado porque *Salmonella* tiene afinidad por la manosa de la pared celular de la levadura y *Campylobacter* no; pero en otras pruebas (Stern, 1995) esta levadura parece ser también eficaz contra *Campylobacter*.

En condiciones de campo los resultados han sido más variables (Stavric y D'Aoust, 1993; Guillot, 2000). Bailey y col. (1998) sugieren que el fallo de la exclusión competitiva para controlar *Salmonella* en la práctica se puede deber a una contaminación ya en incubadora, donde un solo huevo contaminado es suficiente para que haya una transmisión horizontal importante. En cambio, los estudios de Hofacre y col. (2003, 2005) muestran resultados prometedores para el control de *Clostridium perfringens* por exclusión competitiva.

En el ámbito de la producción, Simon y Jadamus (2002), tras revisar 22 estudios, observan una tendencia a la mejora de crecimiento y conversión del orden del 1-2%, pero concluyen que existe una gran variabilidad debido a diferencias en el estatus intestinal y en el microbismo ambiental externo e interno. *Lactobacillus* aumenta la digestibilidad de la materia orgánica, y disminuye la viscosidad del contenido intestinal (Schneitz y col., 1998); Jin y col. (2000) observaron en broilers mejoras en el peso final a 40 días y también en el índice de conversión con su adición a la dieta basal. Otro estudio, éste con levadura, encontró mejoras en el índice de conversión (Sapir y col., 2001). Por el contrario, en muchos de los estudios arriba mencionados no se hallaron diferencias significativas en los índices zootécnicos. Apalajahti y Kettunen (2002) afirman que la administración de probióticos sólo es eficaz cuando al mismo tiempo se cubren sus necesidades para el crecimiento, por lo que los productos simbióticos (probiótico + prebiótico) son la solución más idónea.

#### **4.3. Favorecedores de un ambiente intestinal adecuado.**

En este apartado se engloban diferentes estrategias y compuestos (enzimas, acidificantes y extractos de plantas) capaces de modificar el ambiente intestinal y favorecer de forma indirecta aquella microbiota beneficiosa para el animal.

Por una parte, las bacterias en el ámbito intestinal compiten por los nutrientes del alimento, reduciendo el óptimo crecimiento de las aves. De esta forma, una manera eficiente de minimizar el crecimiento de la flora intestinal es a través de estrategias en la alimentación que reduzcan la cantidad de nutrientes no digeridos en el intestino delgado de las aves. De las diferentes estrategias existentes cabe destacar las siguientes:

- Formulación de dietas de elevada digestibilidad, a partir de ingredientes de elevada calidad.
- Procesado: La elevada temperatura y/o presión durante la fabricación del pienso puede modificar positivamente la digestibilidad del alimento. Sin embargo, a veces se observan efectos negativos debido a un aumento de la viscosidad del alimento.
- Variaciones en el tamaño de partícula del pienso: La inclusión de granos de cereal enteros estimulan el desarrollo de la molleja y como resultado las partículas que llegan al intestino están más trituradas y su digestión es más eficiente.
- Adición de enzimas que será ampliamente expuesto más adelante.

Por otra parte, la integridad de la mucosa gastrointestinal es vital para una correcta digestión y absorción de nutrientes. Hay muchos factores que pueden comprometerla (Miles, 1995):

- Micotoxinas: producidas por hongos que contaminan el pienso. En general todas ellas, a dosis bajas, producen un empeoramiento del crecimiento. Una de ellas, la ocratoxina, tiene efecto sobre el colágeno y debilita la pared intestinal de manera que se puede romper al eviscerar al ave en el matadero y contaminar así toda la canal.
- Taninos: son factores antinutricionales presentes en algunos ingredientes (por ejemplo el sorgo o el altramuz) y provocan edema gástrico, úlceras, hipersecreción de mucina,...
- Melanoidina: Aparece como consecuencia de las reacciones de Maillard; es frecuente en soja excesivamente calentada. En pollos no se han estudiado sus efectos, pero en ratas causa necrosis de las microvellosidades por abrasión.
- Aminas biógenas: Resultado de la descarboxilación de aminoácidos; su presencia a niveles bajos es normal. Son un problema si el pienso está altamente contaminado por bacterias. Causan erosión de la molleja, hipersecreción de mucus, destrucción de la mucosa intestinal,... Entre ellas están la putrescina, la cadaverina y la histamina.
- Gizzerosina: Es un producto que se encuentra en harina de pescado sobrecalentada y provoca erosión de la molleja.
- Productos de oxidación: La oxidación de los lípidos de la dieta produce peróxidos, compuestos altamente reactivos que atacan los fosfolípidos de membrana y pueden resultar en lisis celular de enterocitos y de la microbiota residente.
- Cualquier situación de enfermedad: Infecciones víricas, parasitarias, bacterianas...

La actuación más importante en estos casos es la prevención mediante un buen control de calidad de las materias primas. El uso de conservantes en el pienso para prevenir el crecimiento fúngico (acidificantes) está muy extendido, y también el de antioxidantes.

Esto es especialmente importante para evitar problemas de micotoxinas, ya que una vez que están presentes, es muy difícil deshacerse de ellas. Una opción (aunque nunca tan eficaz como una buena conservación del pienso) es el uso de arcillas. Las arcillas son componentes estructurales de la tierra. Hay varios tipos: caolita, bentonitas, zeolitas y sepiolita. Se usan principalmente por sus características tecnológicas (lubrificante y aglomerante) en la fabricación de piensos. Su capacidad adsorbente hace que puedan captar micotoxinas, en concreto las zeolitas captan aflatoxinas (Miazzo y col., 2000). También se han usado otros adsorbentes, como el carbón activado (Jindal y col., 1994).

#### **4.3.1. Enzimas.**

Son bien conocidos los efectos negativos de los polisacáridos no amiláceos solubles (PNAs), indigestibles por el animal y que aumentan la viscosidad de la digesta, lo que resulta en la disminución de la velocidad de tránsito intestinal y el aumento de la proliferación microbiana en intestino delgado. Como consecuencia se obtiene un menor crecimiento, peores índices de conversión y disminuye la digestibilidad de los nutrientes en general (Choct y col., 1996). Los ingredientes más problemáticos trigo y centeno (contienen arabinoxilanos) y la cebada ( $\beta$ -glucanos). Los enzimas más usados, por lo tanto, son arabinoxilanasas y  $\beta$ -glucanasas. Los enzimas actúan en dos fases (Bedford, 2000):

1. Fase ileal: Permiten una digestión más eficiente de hidratos de carbono, aunque su degradación suele ser parcial, y la cantidad de monosacáridos liberados, reducida. Sus efectos más pronunciados son indirectos: La reducción de la viscosidad mejora la actividad enzimática, el tránsito intestinal, y la digestibilidad de la grasa; también se ha indicado que la hidrólisis de los PNAs podría aumentar la hidrólisis de proteínas y grasas (al liberar compuestos ligados a los PNAs), con lo que hay una mayor absorción de nutrientes. En

consecuencia hay menos almidón y proteína sin digerir en el intestino delgado, lo que reduce la población microbiana en el íleon (Choct y col., 1996).

2. **Fase cecal:** La degradación de  $\beta$ -glucanos y arabinosilanos produce como resultado oligómeros y azúcares libres. Algunos de estos productos no son absorbidos por el ave, llegando a ciegos y siendo fermentados, dando como resultado ácidos grasos volátiles (AGV). Choct y col. (1996) demostraron que la adición de enzimas a una dieta con arabinosilanos resultaba en un incremento de la producción de AGV en ciego, que pueden ser aprovechados por el animal como fuente de energía.

Los enzimas se han usado siempre en combinación con los APC, pero ahora la investigación se está enfocando a reevaluar las dosis óptimas de cada tipo de enzimas en ausencia de antibióticos, que pueden ofrecer beneficios adicionales en ausencia de APC y ionóforos (Bedford, 2000). Vukic y Wenk (1996) compararon el efecto de enzimas con o sin APC y observaron un mayor efecto en ausencia de APC. De ello se deduce que parte de los efectos de los enzimas están mediados por microorganismos. Al igual que los APC, los enzimas son más eficaces en explotaciones con higiene deficiente.

Se ha indicado que el futuro está en diseñar enzimas para inducir efectos específicos en la microbiota (Choct, 2004). Los AGV resultantes de la hidrólisis de los arabinosilanos favorecen el crecimiento de bifidobacterias y otras especies, con lo que se reduce el porcentaje relativo de *Campylobacter* y *Clostridium* (Apajalahti y Bedford, 1999; Ollé y col., 2002). Varios ensayos han demostrado que las xilanasas reducen la población intestinal de *Clostridium perfringens* y de coliformes, enterococos y bacterias en general (Choct, 2004). Owens y col. (2004) encontraron que la adición de xilanasas por sí sola fue tan eficaz como la avilamicina para mejorar los índices productivos y reducir la población de bacterias coliformes; lo mismo al combinar estos enzimas con oligosacáridos o la combinación de ácidos orgánicos con productos de levaduras o con oligosacáridos. Por otra parte, en otro estudio (2003) los mismos autores hallaron efectos sinérgicos entre xilanasas, ácidos orgánicos, y productos de la pared celular de levaduras.

En cualquier caso, la eficacia de los enzimas sigue dependiendo de una serie de factores enumerados por Marquardt y col. (1996) y Brufau y col. (2002):

- a) El suplemento enzimático debe contener el espectro adecuado de enzimas para neutralizar los efectos antinutritivos del sustrato específico.
- b) El suplemento debe contener el nivel de actividad enzimática adecuada.
- c) Diferentes variedades de cereales o cosechas contienen diferentes niveles de PNAs. Por ello la respuesta a un tratamiento con enzimas varía dentro de un mismo cereal.
- d) Los resultados dependen de la especie animal y de su edad.
- e) Los resultados varían con el nivel de cereal y el nivel y tipo de grasa añadida
- f) Los enzimas no deben ser inactivados por el procesado del pienso, por el pH intestinal o por los enzimas pancreáticos del tracto gastrointestinal.

#### **4.3.2. Acidificantes**

Su eficacia está muy contrastada en porcino, pero en aves es menor debido a su distinta fisiología; además, en la mayoría de los casos niveles altos (> 2%) pueden inducir depresión del crecimiento y descalcificación (Mateos y col., 1999). Tradicionalmente se han usado como conservantes del pienso, para prevenir el crecimiento fúngico y disminuir su contaminación bacteriana. El descenso del pH del pienso reduce indirectamente la colonización intestinal por *E. Coli*, *Salmonella* y otros patógenos, que en su mayoría precisan para crecer un pH neutro o ligeramente alcalino.

En la UE se están usando ampliamente para prevenir la contaminación por *Salmonella spp.* en ponedoras y reproductoras; en broilers los resultados parecen más variables (Mateos y col., 1999; Choct, 2000;). Este efecto parece más marcado en los ácidos grasos de cadena media (entre 6 y 10 átomos de carbono – caproico, caprílico, cáprico, etc). Sin embargo, este uso de los acidificantes puede plantear problemas potenciales; *E. Coli* y *Salmonella* pueden desarrollar tolerancia a los ácidos, que parece ligada a un incremento de su virulencia, aunque esta resistencia varía según ácidos y condiciones (Ricke, 2003; van Immerseel y col., 2004).

La capacidad acidificante de un ácido depende principalmente de su constante de disociación, que ha de ser reducida, pero también de factores ambientales en pienso e intestino. Su uso en piensos está limitado por su estado físico a temperatura ambiente (sólido en sales), y sobre todo por su poder corrosivo y efectos sobre la palatabilidad. Aquí nos referimos a los ácidos orgánicos y sus sales; en la UE el único inorgánico registrado es el ortofósforico, muy corrosivo. Además, los ácidos inorgánicos no atraviesan las membranas celulares, lo que limita su acción antibacteriana.

El empleo de ácidos orgánicos en alimentación de aves se basa en dos mecanismos:

1. Disminución del pH. Este efecto sólo se produce en buche (Van den Broek, 1999) por su volatilidad y rápida absorción intestinal, y porque el organismo tampona eficazmente cualquier cambio de acidez de forma eficaz. Para reducir el pH intestinal han de llegar allí, lo que requiere protegerlos con una matriz que no sea desnaturalizada por los jugos gástricos, hasta que la acción de enzimas pancreáticos y sales biliares liberen el ácido. La reducción del pH intestinal favorece a *Lactobacillus* y otras bacterias beneficiosas.
2. Acciones antibacterianas. Los ácidos orgánicos (fórmico, propiónico, butírico, láctico,...), son capaces de penetrar en forma no disociada en la célula bacteriana, liberando en su interior aniones e hidrogeniones, que provocan alteraciones importantes del metabolismo celular, específicas para cada ácido, que terminan en la inhibición o lisis bacteriana por el fuerte descenso de su pH interno.

Para lograr este efecto se precisan dosis bastante altas (1-1,5%), lo que supone un coste más elevado que el uso de APC. Las mezclas de acidificantes (por ejemplo propiónico + fórmico), son más eficaces que el producto único; también pueden combinarse con FOS (Ducatelle y col. 2001), y parece que existe una sinergia entre ácidos orgánicos y extractos de plantas (en concreto de rutáceas). Estas últimas posibilidades permitirían reducir la dosis de ácido y conseguir un producto más manejable, menos corrosivo, más palatable y más barato. (Calvo y col., 2001; Vilá y col., 2004). Es evidente que hacen falta más estudios para determinar las dosis más adecuadas y las combinaciones de ácidos más efectivas.

Por otro lado los ácidos de cadena media intermedios en el ciclo de Krebs (cítrico, málico, fumárico) pueden servir como fuentes de energía para el animal (a dosis relativamente elevadas), y aportar beneficios adicionales en la nutrición aviar (mejoran la digestión de la proteína, estimulan las secreciones del páncreas, quelan minerales, ...). En un ensayo con butirato sódico (Manzanilla y col., 2001) se detectó una reducción en la concentración de ácidos grasos volátiles, lo que sugiere una mejora de la digestibilidad de los ingredientes, comprobada para el almidón en otro estudio con fórmico (García y col., 2004).

No hay muchos estudios en aves en condiciones de campo, y sus resultados son variables. Van Campenhout y col. (2001) y Andrýs y col. (2001) observaron mejoras en los índices de conversión de broilers y gallinas respectivamente, usando combinaciones de ácidos orgánicos. En cambio Waldroup y col. (1995) no observaron ningún efecto mejorante de los ácidos láctico, fumárico, fórmico, propiónico y cítrico sobre índices productivos ni en la reducción de la contaminación de la canal por *Salmonella*. En algunos ensayos con mezclas de ácidos se ha logrado reducir la proporción de huevos sucios (Manfreda y Cerchiari, 2000; Rose y col., 2003).

### 4.3.3. Extractos de plantas, especias y aceites esenciales

Probablemente son los productos más antiguos utilizados en medicina humana, pero su uso en animales es relativamente nuevo (Kamel, 2000). Se sabe que muchos extractos de plantas tienen efectos bactericidas, bacteriostáticos, fungistáticos etc., pero muy poco del verdadero mecanismo de acción de las sustancias que contienen en el digestivo del animal. Sus sustancias activas y mecanismos de acción son insuficientemente conocidos (Kamel, 2001; Wenk, 2002), y hay más de 60 géneros de plantas de interés potencial, cuyos componentes poseen distintas propiedades: Antioxidantes, estimulantes de la función hepática y de la producción de enzimas digestivos, inmunomoduladoras y antimicrobianas (Santomá, 1999).

La composición química de los extractos de plantas es muy variada. Los aceites esenciales son los componentes más estudiados en nutrición animal; a su vez integran una gran variedad de sustancias, como terpenos, fenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos y cetonas, que confieren propiedades aromáticas a las plantas que los contienen. Entre ellas, anís, orégano, pimienta, tomillo, romero, apio, rábano, sanguinaria, ajo, ginseng, etc. Se ha comprobado en condiciones experimentales que el uso de aceites esenciales, obtenidos de extractos de ciertas plantas y especias permite obtener resultados que pueden llegar a ser equivalentes al uso de APC (Costa-Batllore y col., 1999).

El problema a la hora de usar estos extractos es que hay multitud de componentes diferentes y que varían de forma imprevisible en una misma planta. Esta diversidad obliga a incluir dosis bastante elevadas, entre 10 y 100 veces la dosis normal de un APC. En muchos casos los aceites esenciales de estos extractos funcionan en combinación con otras sustancias de efecto secundario que forman parte del mismo extracto y que pueden modificar su efecto. También se pueden combinar con otros aditivos, en especial con ácidos orgánicos, pues sus mecanismos de acción se complementan (Ricke y col., 2005).

Uno de los problemas más repetidos al retirar los APC, especialmente con dietas de origen exclusivamente vegetal, es la aparición de disbacteriosis intestinal, y aun problemas claros de enteritis necrótica. Por tanto se debe buscar en los productos alternativos a los APC un control de la flora bacteriana intestinal. Este efecto parece probado en diversas sustancias (Dorman y Deans, 2000; Mitsch y col., 2004; Guo y col., 2004), como timol (obtenido de *Thymus vulgaris*), eugenol (de *Syzygium aromaticum* o de *Cinnamomum zeylanicum*), curcumina (de *Curcuma zanthorriza*) y piperina (de *Piper nigrum*). En varios ensayos el uso de una mezcla de estas sustancias permitió reducir la colonización intestinal por *Cl. perfringens* (Losa y Köhler, 2001; Williams y col., 2003; Mitsch y col., 2004), y estimular la secreción de algunos enzimas digestivos (Williams y Losa, 2001; Lee y col., 2003).

Parece que la eficacia de estos compuestos es mayor en las primeras semanas de vida del pollo. Por ejemplo, en un experimento realizado en condiciones comerciales (Barragán y col., 2004), a los 21 días el grupo AE mostró un peso vivo mayor y un índice de conversión inferior que el grupo APC, pero a los 42 ya no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en peso vivo, consumo de pienso, índice de conversión, o mortalidad. Como en otros casos, es necesaria más investigación sobre los mecanismos de acción y eficacia en la práctica de estas sustancias, pues éste es un campo muy nuevo en alimentación animal.

Actualmente este tipo de productos se pueden registrar como aromatizantes o sustancias estimulantes del apetito; esto podría cambiar en los próximos años. Por otro lado las empresas farmacéuticas no pueden patentar un compuesto ya utilizado en medicina tradicional, por lo que son escasos los estudios farmacológicos, toxicológicos, etc., lo cual limita su desarrollo.

#### 4.4. Productos biotecnológicos

Ya existen cereales modificados genéticamente que contienen enzimas (arabinoxilanasas y  $\beta$ -glucanasas), por lo que reducen la viscosidad intestinal y aumentan la digestibilidad de los nutrientes en las aves (Wettstein y col., 2000). También se pueden obtener anticuerpos monoclonales del maíz (Bergman y col., 2005) y proteínas con propiedades antibacterianas como lactoferrina y lisozima del arroz transgénico. La combinación de estas dos moléculas es eficaz y se afirma que protege el tracto intestinal de forma similar a los APC (Humphrey y col., 2001).

El problema es que la población de la UE tiene una opinión muy polarizada respecto a los GMO. Por un lado, están los que no consideran los cultivos de GMO como naturales, sino como un riesgo serio de cara a la salud humana y animal, y por otro, aquellos que ven un tremendo potencial al cultivo de GMO en vistas al abastecimiento de la población mundial. Hoy predomina la primera posición, con lo que su uso es muy conflictivo, aunque parece que el ambiente social comienza a ser más favorable.

Las bacteriocinas, y ciertos péptidos producidos por las mismas aves, son antimicrobianos naturales. Pero son aún muy desconocidos, y presentan riesgos potenciales de inducción de resistencias antibióticas y de toxicidad, respectivamente. Además, su actividad en intestino parece ser muy inferior a la que muestran en sangre, y los péptidos son sensibles a la digestión. Los bacteriófagos son otra posible vía; son eficaces contra *E. Coli*, por diversas vías de aplicación, siendo por spray la más prometedora (Huff y col., 2005), pero problemas de gran especificidad, desarrollo de fagoresistencias e incluso posibilidad de que los fagos puedan mediar en la transferencia de genes entre bacterias (Joerger, 2003;). También existen bacteriocinas, péptidos antimicrobianos y bacteriófagos procedentes de GMO (Joerger, 2003)

Los últimos avances en genética han dado lugar también al estudio de vacunas recombinantes orales para aves. Así, Kim y col. (1989) mostraron como la inoculación oral de pollos con bacterias vivas de *E. coli* que contenían secuencias genéticas que codificaban para proteínas de superficie de *Eimeria acervulina*, confería una protección parcial contra la coccidiosis.

### 4. SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

#### 4.1. Legislación

Hasta hace pocos años el marco legal de los aditivos para piensos eran las Directivas 70/524 (modificada hasta 2002 por más de 120 normas posteriores), y 87/153 y 96/51, que definían el procedimiento para su evaluación, a cargo del SCAN (Comité Científico de Nutrición Animal). Tras las “crisis alimentarias” y la promulgación por la Comisión Europea del Libro Blanco de la Seguridad Alimentaria se produjo una profunda modificación de las normas vigentes sobre evaluación y autorización de aditivos, cuya responsabilidad pasó de la DG de Agricultura a la de Protección de la Salud de los Consumidores, y más tarde a la nueva Agencia Europea de Seguridad Alimentaría (EFSA).

La Directiva 2001/79 establece las nuevas condiciones de autorización, limitada a 10 años, para los aditivos en pienso. Esta normativa, que excluye a los productos genéricos, no afecta a probióticos ni enzimas (que se rigen, respectivamente, por las Directivas 94/40/EC y 95/11/EC), para las sustancias derivadas de organismos genéticamente modificados (como la mayoría de los enzimas) existe un procedimiento especial. En el caso de los aditivos que ya estaban aprobados según las normas de la 70/524; su registro se confirmará o no antes de 2010 bajo nuevas condiciones, principalmente la caracterización de las sustancias activas y el establecimiento de límites máximos de residuos (LMR) en caso necesario.

Se exige un completo dossier que incluya muchos y variados datos, según el tipo de aditivo y el uso que se proponga: Estudios toxicológicos y mutagénicos, de resistencias a antibióticos, de impacto ambiental, y de seguridad para trabajadores y usuarios (todo ello aplicando una metodología de evaluación de riesgos), además de pruebas de eficacia en cada especie objetivo. Para los coccidiostatos y otras sustancias medicinales estas pruebas han de cumplir condiciones específicas, y además se deben presentar monografías detalladas, similares a las antes exigidas para los APC. La EFSA ha de responder en un plazo de 6 meses, y puede reclasificar el aditivo en cuestión en otro grupo, con las restricciones de uso que estime adecuadas, e imponer un LMR distinto del propuesto en la solicitud. Al expirar la autorización provisional la renovación será mucho más sencilla, ya que sólo se solicita aportar nuevos datos si éstos fueran relevantes.

El Rglto. 1831/2003 establece las definiciones básicas y la competencia de la EFSA para evaluar la eficacia y seguridad de los aditivos usados en nutrición animal, que se clasifican en 5 grupos, con requisitos específicos de autorización y etiquetado: Tecnológicos, sensoriales, nutricionales, zootécnicos, y anticoccidiósicos/antihistomoníasicos. Los aminoácidos sintéticos, antes regulados como ingredientes por la Directiva 82/471, pasan a considerarse como aditivos nutricionales junto a vitaminas, minerales y elementos traza. Este Reglamento también impone la retirada definitiva de los restantes APC, y propone que coccidiostatos y antihistomoníasicos pasen en 2012 a la categoría de medicamentos veterinarios sujetos a prescripción, previo informe de la CE antes del final de 2008.

Sólo los aditivos que se sometan al procedimiento obligatorio de evaluación y registro podrán ponerse en el mercado europeo. Para ello se ha de demostrar que cumplen una serie de criterios: Mejorar las características de pienso y productos animales; satisfacer las necesidades nutricionales de los animales; mejorar la producción y el bienestar animal (en particular afectando a la flora microbiana y a la digestibilidad); reducir el impacto ambiental de la producción animal; prevenir la coccidiosis y la histomoniasis. No deben perjudicar a la salud animal, humana ni al medio ambiente, presentarse de forma que confunda al usuario o poner en riesgo al consumidor con publicidad engañosa, o bien empeorando las características propias de los distintos productos animales. Se otorgó el plazo de 1 año (después prorrogado hasta fin de 2005) para que empresas y particulares con aditivos ya en el mercado notifiquen su existencia a la CE, y soliciten su reevaluación conforme a los nuevos criterios establecidos. Sin embargo, estas normas dejan una “zona difusa” (McCartney, 2001). Algunos aditivos no registrados, como extractos de plantas y especias y aceites esenciales están siendo tolerados por su origen “natural”, y muchos acidificantes tampoco han pasado por registro alguno, pues se han usado tradicionalmente como conservantes. Se prevé que en un próximo futuro se habrá de demostrar la ausencia de contaminantes (dioxinas, furanos, etc), aportar estudios básicos de toxicidad, y muy posiblemente (en aquellas sustancias para las que se propongan efectos antimicrobianos) se haya de establecer su LMR y período de retirada, junto a la ausencia de riesgos de transferencia de resistencias antibióticas.

Las disposiciones más recientes establecen normas detalladas de aplicación del Rglto. 1831/2003 para los laboratorios de referencia (Rglto. EC 378/2005) y un programa coordinado de controles en alimentación animal (Recomendación 2005/187/EC), dirigido a verificar la presencia en piensos de aditivos autorizados y no autorizados (sobre todo APC, coccidiostatos y productos antihistomoníasicos).

## **4.2. Situación actual**

Varía según los países. En el Reino Unido ya prácticamente no se utilizan APC, y la prevención de patologías digestivas se basa en el uso combinado de ácidos orgánicos, MOS y ionóforos. En Holanda en 2000 el 40% de las fábricas no usaban APC, y en Bélgica, Italia, Francia se emplean muy poco. Los probióticos, como ocurrió en los países escandinavos, no han dado

resultados satisfactorios. Los aditivos botánicos tienen cierto predicamento en Francia y en Holanda.

En España hay integraciones que emplearán APC hasta el final, y están ahora iniciando pruebas para evaluar qué combinaciones de nuevos aditivos estiman más convenientes. Otras los han abandonado en parte de sus operaciones, en particular las que proveen a clientes exigentes como ciertas cadenas de supermercados y de restauración (aunque se trata de pollos de crecimiento más lento y criados a menor densidad). Por otra parte, casi la mitad de las empresas ya no los incluye a partir de 32-34 días, ya que cambian a piensos de retirada a esa edad por temor a que aparezcan residuos en carne. Así pues, aproximadamente el 20% del pienso que consumen los pollos en su vida no contiene APC. Desde hace años han aumentado los problemas de camas húmedas, pero por ahora se ha informado de pocos casos de enteritis necrótica como tal. Está muy extendido el uso de ácidos orgánicos, pero con el objetivo principal de reducir la contaminación por *Salmonellas*. Se contempla con interés el posible uso de MOS.

No obstante, es indudable que aquellas empresas que aún usan avilamicina habrán de afrontar un aumento de los costes de producción, que se estima entre el 1-2% (integraciones con buenas granjas y buen manejo) y el 10% (allí donde haya que hacer inversiones para mejorar la higiene y las instalaciones). Los nutricionistas consultados prevén un aumento del índice de conversión entre 100 y 400 g/kg, según el nivel higiénico-sanitario de las granjas. Por otra parte los aditivos “alternativos” son hoy por hoy mucho más caros que los APC (**Cuadro 7**), y teniendo en cuenta su mayor dosificación en general, repercuten más en el coste de la fórmula que los APC (1,5-2% vs < 1%); además su relación coste/beneficio es bastante inferior.

**Cuadro 7. Costes de distintos aditivos en la UE**

	€/Tm
Avilamicina	1,80 – 2,10
Enzimas	0,60 – 1,30
Acidos orgánicos	4,50 – 7,50
Probióticos	4,50 – 7,50
Prebióticos	3,00 – 6,00
Extractos plantas y aceites esenciales	1,50 – 4,50

En cuanto a la eficacia comparada, recientemente se ha presentado al último Symposium Europeo de Nutrición Aviar un trabajo realizado en España (Gutiérrez del Álamo y col., 2005), que comprende múltiples ensayos con diversos aditivos efectuados a lo largo de la última década en las instalaciones experimentales de un gran grupo multinacional, y que creemos será de interés para los lectores (**Cuadros 8a y 8b**). Las pruebas se desarrollaron en paralelo en pollos normales e infectados con el virus causante del síndrome de mala absorción (SMA).

Como se verá, el efecto de la avilamicina fue mucho más pronunciado en los pollos con SMA. Los probióticos sólo funcionaron bien en condiciones óptimas. La adición de diversos ácidos orgánicos ofreció resultados variables según las condiciones de cría; en pollos normales disminuyó el IC, mientras que en aves con SMA mejoró el crecimiento pero aumentó la conversión del pienso.

El uso de  $\beta$ -glucanos de levaduras (como estimulantes de la inmunidad) produjo escasos efectos en condiciones normales y mejoraron crecimiento e IC pero sólo entre 0 y 21 días, mientras que los extractos de hierbas y aceites esenciales ofrecieron resultados poco consistentes de uno a otro ensayo, especialmente si las aves padecían problemas digestivos.

Los mejores índices productivos se hallaron al emplear ácidos grasos de cadena media (caproico, caprílico y cáprico) a dosis de 0,1 y sobre todo 0,15%, y más aún en caso de trastornos digestivos. También se demostró un efecto sinérgico entre estos ácidos (0,05%) y los ácidos orgánicos (a 0,325%), más pronunciado en la fase de arranque.

Como resultado de estas investigaciones esta compañía ha desarrollado un núcleo propio, que también ha sido testado en varios ensayos. Los datos más recientes indican que entre 0 y 41 días produce una mejora de crecimiento y conversión del orden del 4%.

**Cuadro 8a. Eficacia comparada (como % respecto al control negativo) de diversos aditivos en la productividad de pollos normales y con síndrome de mala absorción (SMA).**

Gutiérrez del Álamo y col., 2005

	Normales			Con SMA		
	GMD	IC	Consumo	GMD	IC	Consumo
APC (Avilamicina)	1,1	1,2	n.i.	12,5	10,8	n.i.
Probióticos (Lactobacillus) vivos	1,9	0,7	1,2	- 1,3	0,3	- 1,5
Muertos	- 1,0	- 0,2	0,8	- 2,3	- 0,1	- 2,1
Ácidos orgánicos Láctico 1%	- 2,6	- 0,09		1,9	- 0,3	
Fórmico 0,5%	- 4,8	1,0		0,6	- 1,4	
Láctico 0,5% + Fórmico 0,25%	- 3,7	0,09		1,9	- 0,2	
Fórmico + Propiónico	0,2	0,05		n.d.	n.d.	
Fórmico + Propiónico + Acético	2,0	1,3		- 1,7	2,2	

**Cuadro 8b. Eficacia comparada (como % respecto al control negativo) de diversos aditivos en la productividad de pollos normales y con síndrome de mala absorción (SMA).**

Gutiérrez del Álamo y col., 2005

	0 – 21 días			0 - 42 días		
	GMD	IC	Consumo	GMD	IC	Consumo
Ác. grasos cadena corta Exp. 1				0,6	1,8	- 1,5
Exp. 2				7,0	5,7	0,9
Exp. 3				- 1,2	- 2,4	1,9
Ácidos orgánicos	- 1,7	2,2	n.i.	- 3,9	0,2	n.i.
Acidos grasos cadena corta	- 1,2	- 2,4	n.i.	0,4	1,6	n.i.
Combinación de ambos	5,3	3,4	n.i.	0,8	1,2	n.i.
B-Glucanos (Levaduras) Exp 1	4,3	4,2	n.i.	0,5	0,4	n.i.
Exp. 2	2,6	3,4	n.i.	1,2	- 0,6	n.i.
Extractos de hierbas Exp. 1				2,0	1,0	2,7
Exp. 2				0,6	0,7	- 0,3
Exp. 3				- 3,9	2,5	- 6,5
Exp. 4				4,8	- 0,9	5,3
Exp. 5				- 0,2	1,5	- 1,7

El panorama actual de los nuevos aditivos a nivel práctico y sus perspectivas legales han sido muy bien descritas recientemente por McCartney (2005) – ver **Cuadros 9 y 10**:

- Enzimas. Son útiles para conservar la salud intestinal, pero no son propiamente sustitutos de los APC. Actualmente sólo hay unos 25 enzimas con autorización definitiva, aunque más de 60 productos han estado sometidos a revisión en los últimos tiempos. Inducen una mayor respuesta en ausencia de APC, pero es necesario reevaluar su dosis óptima. Su coste puede ser compensado por su efecto de aumentar el valor energético de la dieta.

- Ácidos orgánicos y sus sales, y formaldehído. Su uso principal es la desinfección y conservación de piensos, y últimamente para intentar reducir la prevalencia de Salmonellas. Su empleo como PC está muy poco regulado. No está clara cual es la dosis óptima para producir efectos sanitarios y zootécnicos, pero parecen ser menos eficaces que en porcino. Plantean problemas importantes: Dificultades de manejo en las fábricas de pienso, corrosión de los equipos, y seguridad laboral; para el formaldehído el margen de seguridad sólo es 1,5 veces mayor que la dosis recomendada, por lo que la EFSA lo está evaluando exhaustivamente. Los más usados son butírico, fumárico y propiónico. Su coste es elevado, aunque menor que el de otros sustitutos de los APC. Combinaciones entre ácidos o con aceites esenciales

Actualmente el mercado está saturado de productos basados en mezclas de ácidos, cuya dosis se establece más en términos de coste que de eficacia, para la que se precisan dosis altas (1-2%). La revisión prevista en los próximos años puede llevar a una reducción considerable de los productos autorizados, exigiendo sustancias activas únicas, dosis más altas que las usadas hoy día, y presentaciones protegidas.

- Oligosacáridos. Los más usados son los manano-oligosacáridos (MOS), extraídos de levaduras, y de los fructo-oligosacáridos (FOS), derivados de plantas. Resisten la granulación y tienen buena imagen, “natural” Los estudios con los MOS presentan resultados bastante alentadores, en particular en mortalidad de pollitos, pues reducen los patógenos intestinales y mejorar la inmunidad. Existen menos datos para los FOS, y por otra parte hay dudas en la EFSA sobre su seguridad y eficacia. Su combinación con probióticos puede ser un campo prometedor.

- Probióticos. Son pocos los productos cuya seguridad, calidad y eficacia han resultado convincentes a las autoridades europeas. Algunos pueden producir sustancias antimicrobianas que pueden absorberse y generar residuos; también hay dudas sobre la posible transferencia de resistencias por parte de las bacterias que los componen, y sobre su estabilidad en piensos; ni siquiera los probióticos bacilares resisten a la extrusión. Sus resultados han sido heterogéneos (algunas veces buenos) pero en general su acción es limitada y escasa, quizá porque el número de bacterias puede ser insuficiente para modular una flora ya instalada. Su coste es elevado.

- Aditivos botánicos. Incluyen normalmente extractos de hierbas, especias y aceites esenciales. Aunque se comercializan como alternativas naturales, muchos de los componentes de estos productos son en realidad antisépticos y desinfectantes que se usaban antes del conocimiento de los antibióticos, y que tienen un menor margen de seguridad. Este mercado es muy confuso, con cientos de productos que se pretenden sustitutos eficaces de los APC.

La volatilidad de los concentrados de aceites esenciales puede plantear problemas de manejo y seguridad en las fábricas, y de estabilidad en los piensos. También hay dudas sobre su eficacia y seguridad para los animales. En la práctica su coste hace que se apliquen dosis muy bajas y por tanto poco eficaces.

- Minerales. Zinc y cobre a elevadas dosis pueden ayudar en el control de las diarreas. Se han reducido las concentraciones máximas autorizadas por causas de seguridad e impacto

ambiental, y por ello se tiende al uso de formas orgánicas, más biodisponibles. La calidad de estos productos varía y en ocasiones es cuestionable.

- Vacunación. En la UE existe una tendencia al incremento del uso de vacunaciones que es previsible que continúe. Los productores desearían contar con vacunas eficaces que pudieran administrarse en pienso.

### 4.3. PERSPECTIVAS DE FUTURO

El escenario en que se desenvuelve la avicultura europea ha cambiado profundamente. Hasta hace poco tiempo el principal objetivo de la nutrición aviar era reducir el coste de alimentación (disminuyendo el IC), sin perjudicar la calidad del producto final. Hoy se trata de obtener carne y huevos de alta calidad a un coste “aceptable”, y de garantizar un riesgo casi nulo para el consumidor, eliminando contaminantes, residuos de fármacos, y bacterias causantes de toxoinfecciones alimentarias. A la vez se exige aumentar los estándares de bienestar animal (lo que puede suponer un aumento de costes del 5-15% en pollo y de más del 30% en huevos) y minimizar el impacto ambiental de las explotaciones avícolas (lo que aún puede ser más costoso). En este marco se puede considerar como seguro que la prohibición de los APC no tiene vuelta atrás, y quizá en un próximo futuro se plantee también la retirada de los ionóforos, ya que será difícil explicar al consumidor que se están criando pollos sin APC cuando de hecho aumentará el uso de estos antibióticos anticoccidióticos (Enberg y Petersen, 2001).

Hoy por hoy no se puede decir que los aditivos alternativos tengan efectos comparables a los APC; dada la diversidad de sus modos de acción, generalmente indirectos, y su dependencia de circunstancias complejas aún no del todo conocidas, compensan sólo en parte la ausencia de APC. Es improbable que se logre un único sustituto que sea económicamente viable (Dibner y Richards, 2005). Por tanto, para ampliar su espectro de acción habrá que emplear las combinaciones más adecuadas, lo que puede suponer un coste excesivo. Pero también, si se consigue mejorar la productividad de un modo aceptable para clientes y consumidores, la retirada de los APC podría generar nuevas oportunidades para el sector europeo.

Para el futuro inmediato se ha pronosticado un aumento de los problemas digestivos, debido al menor control de la microbiota intestinal, en especial cuanto mayor sea el desafío del microbismo ambiental. Sus consecuencias podrían ser: Aumento de gastos de medicación, peor digestibilidad del pienso, y crecimientos y costes de producción menos competitivos, aun a pesar de todas las mejoras (Bedford, 2000; Morrow, 2004). Esto requiere algunas matizaciones desde nuestro punto de vista. En algunos países ya se llevan años de adaptación y se sabe que los efectos de la retirada de los APC están muy condicionados por los niveles de higiene y manejo. En este campo se habrá de trabajar para mejorar sus estándares, sin confiar en recurrir sistemáticamente a las medicaciones, y quizá también sea necesario que las firmas de genética pongan mayor énfasis en mejorar la resistencia de las aves a las enfermedades. Se precisará una mayor formación de la mano de obra; y es esperable que se produzca una selección de los granjeros, descartando a los peores.

En el ámbito de la nutrición, continuará la tendencia al uso de ingredientes de mayor calidad y digestibilidad, y a otorgar una mayor importancia al control de calidad en fábricas de pienso, para poder compensar o reducir la variabilidad de las materias primas. Mateos (2001) recomendaba un cambio hacia piensos menos concentrados y el descenso de los niveles de proteína bruta, compensado por un mayor recurso a los aminoácidos sintéticos, que ya se está dando en la actualidad. Será imprescindible desarrollar un esfuerzo investigador para reevaluar las necesidades nutritivas, conocer mejor el papel de la fibra dietética y de la microbiota intestinal, así como su relación con los ingredientes del pienso, y desarrollar nuevos enzimas y procesos tecnológicos para mejorar la digestibilidad de las dietas. Respecto a los aditivos alternativos, puede haber grandes cambios; hasta ahora la experimentación se ha centrado prioritariamente en aspectos prácticos y de eficacia, pero en la próxima década, en la que la

UE revisará la totalidad de los aditivos aplicando estándares objetivos, los aspectos legales y de seguridad impondrán nuevas restricciones.

Mientras que se pronostica un descenso de la producción europea de huevos a causa del impacto de la legislación sobre control de Salmonella y bienestar de las ponedoras, la de carne de ave, más bien estancada en los últimos tiempos, se enfrenta al desafío de los países emergentes, sobre todo en un entorno de reducción progresiva de aranceles y cuotas a la exportación. Países como Brasil, cuyos costes de producción del kg vivo son casi la mitad que en la UE, y los de sacrificio aún menores, están aumentando en los últimos años sus cifras de exportación a la UE a un ritmo medio del 35% anual (Le Boucher, 2002; Penz y Roppa, 2003).

Es muy probable que la UE exija a los países exportadores de carne de pollo el cese del uso de APC, con el argumento de que “las bacterias no conocen fronteras”, lo cual se ha criticado como una barrera comercial encubierta (Palermo Neto, 2004). En este sentido, la Organización Mundial de Comercio ha decidido aceptar las normas que imponga la Oficina Internacional de Epizootias; dada la postura que mantiene la OIE sobre este tema, esta iniciativa tendría muchas más oportunidades de prosperar que, por ejemplo, las pretensiones de imponer los estándares europeos de bienestar animal. Como estrategia alternativa, se está proponiendo la implantación de un sello de calidad europeo que garantice a los consumidores que en la producción de alimentos se han cumplido estrictamente las diversas normas de la UE. Esto ya se está llevando a efecto en el Reino Unido con el programa de certificación “Red Tractor”.

Por otra parte, quizá EE.UU. podría sumarse a medio plazo a la posición europea, pues la presión social contra el uso de antibióticos en la producción animal está aumentando, tal y como se ha visto en el caso de la enrofloxacin. En una encuesta altamente representativa, el 30% de las integraciones estadounidenses declararon que ya no usaban APC, y que su empleo en dietas para broilers había bajado desde 1995 del 95 al 60% (Waldroup, 2002). Por otra parte, según fuentes de la industria, el desarrollo y registro de un nuevo aditivo cuesta 8-10 años y entre 15 y 25 millones €. La pérdida del mercado europeo podría contribuir a desalentar a la industria farmacéutica a la hora de invertir en el desarrollo de nuevos productos. La experiencia europea puede ser muy instructiva para la avicultura de otros países en caso de que se extienda la retirada de los APC, pero se habrá de tener en cuenta que no es trasladable al 100% debido a las especificidades de sus condiciones en la nutrición y el sistema de producción avícola, y de su entorno socioeconómico.

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor agradece a los Dres. Gerardo Santomá y Ana Barroeta su valiosa contribución científica, así como a los muchos nutricionistas y veterinarios avícolas españoles que han comunicado generosamente su experiencia práctica y relevantes datos técnico-económicos.

**Cuadro 9. Comparación de la actividad de los antibióticos promotores del crecimiento (APC) con los de sus alternativas actuales (Taylor, 2001)**

	Económicos	Permiten óptimo crecimiento	Reducen pérdida nutrientes	Evitan ruptura enzimas digestivos	Mejoran absorción nutrientes	Previene daños invasión bacterias
Sin APC ni aditivos						
APC	<b>SI</b>	<b>SI</b>	<b>SI</b>	<b>SI</b>	<b>SI</b>	<b>SI</b>
Acidificantes	<b>V</b>	<b>V</b>				<b>V</b>
Enzimas	<b>V</b>	<b>V</b>			<b>V</b>	<b>V</b>
MOS y FOS	<b>V</b>	<b>V</b>				<b>V</b>
Prebióticos	<b>V</b>					
Probióticos	<b>V</b>					<b>V</b>
Ext.hierbas y ac.esenciales		<b>V</b>				
Minerales	<b>V</b>				<b>V</b>	
Vitaminas	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>		<b>SI</b>	<b>V</b>
Bacteriófagos	<b>?</b>	<b>V</b>	<b>SI</b>	<b>SI</b>	<b>V</b>	<b>V</b>
Inmunomoduladores	<b>V</b>	<b>V</b>			<b>V</b>	<b>V</b>
Vacunas	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>SI</b>	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>

V, variable

**Cuadro 10. Problemas posibles con los productos sustitutivos de los antibióticos promotores del crecimiento (Mc Cartney, 2005)**

	Seguridad Anim. Alim. Lab.	Estabilidad en pienso	Eficacia	Manejo en fábrica	Fácil aplicación	Problemas ambiente	Aceptación legal	Calidad, disp. y dosis óptima
Acidos orgánicos	<b>P</b>	<b>?</b>		<b>P</b>		<b>P</b>	<b>P</b>	<b>?</b>
Formaldehído	<b>P</b>			<b>P</b>		<b>P</b>	<b>P</b>	
MOS								
FOS			<b>?</b>				<b>?</b>	
Enzimas		<b>?</b>						
Probióticos	<b>?</b>	<b>?</b>					<b>?</b>	
Ext.hierbas y ac.esenciales	<b>P</b>	<b>?</b>	<b>?</b>	<b>P</b>		<b>P</b>	<b>P</b>	<b>?</b>
Minerales	<b>?</b>					<b>P</b>		<b>?</b>
Vitaminas		<b>?</b>						
Vacunas					<b>?</b>		<b>?</b>	

P, Problemático. ?, Dudoso

# REFERENCIAS

## APC Y NUTRICIÓN EN GENERAL

- Anónimo (1999). Antibiotic growth promoters. *Ross Tech* 99/37.
- Anderson, D.B.; McCracken, J.J.; Aminov, R.I.; Simpson, J.M.; Mackie, R.I.; Verstegen, M.W.A.; Gaskins, H.R. (1999). Gut microbiology and growth-promoting antibiotics in swine. *Pig News & Information*, 20(4):115N-122N.
- Apajalahti, J. (2002). Microbial management: a new approach to developments in animal nutrition. Proc. Danisco Animal Nutrition Seminar "Challenges in poultry nutrition – preparing the future".
- Apajalahti, J.; Bedford, M. (2000). Impact of dietary and environmental factors on microbial communities of the avian GI tract. Proc. XXI World's Poultry Congress, Montreal, Canada, CD-Rom.
- Apajalahti, J.; Kettunen, A. (2002). Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. XVIII Curso de especialización FEDNA, Barcelona, pp. 41-51.
- Badiola, J.I.; Pérez, A.M.; Francesch, M.; Esteve, E.; Brufau, J. (2001). Evaluación del efecto de los componentes de la ración sobre la microbiota intestinal. Memoria XXXVIII Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Córdoba, pp. 63-76.111-118.
- Apajalahti, J.; Kettunen, A.; Graham, H. (2004). Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *WPSA J.*, 60(2):223-232.
- Bedford, M. (2000). Removal of antibiotic growth promoters from poultry diets: implications and strategies to minimise subsequent problems. *WPSA J.*, 56:347-365.
- Best, P. (1992). Growth promoters in the EC. *Feed Int.*, May 1992, pp. 8-16.
- Bjerrum, L.; Pedersen, K.; Engberg, R. (2005). The influence of whole wheat feeding on Salmonella infection and gut flora composition in broilers. *Avian Dis.*, 49(1):9-15.
- Brufau, J.; Francesch, M.; Pérez-Vendrell, A.M.(2002). Exogenous enzymes in poultry feeding. Recent developments. Proc. 11<sup>th</sup> Eur. Poultry Conf., Bremen, CD-Rom.
- Choct, M. (2004). Enzymes for the feed industry: Past, present and future. Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom.
- Choct, M., Hughes, R.J., Wang, J., Bedford, M.R., Morgan, A.J. and Annison, G. (1996). Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *Brit. Poultry. Sci.* 37: 609-621.
- Dibner, J.J.; Richards, J.D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poultry Sci.*, 84:634-643.
- Ducatelle, R.V.A., Van Immerseel, F., Cauwerts, K., Janssens, G., De Smet, I., De Buck J.; Haesebrouck, F. (2001). Nutritional strategies to reduce food-borne pathogens. Proc. 13th Eur. Symp. on Poultry Nutrition, pp. 90-97, Blankenberge, Bélgica.
- Engberg, R.M.; Petersen, J.S. (2001). Poultry production with and without questionable feed additives and ingredients. Proc. 13th Eur. Symp. Poultry Nutrition, pp. 118- 124, Blankenberge, Bélgica.
- Francesch, M., Pérez-Moya, S., Badiola, I., Brufau, J. (1999). Effects of cereal and feed enzyme on digesta viscosity and bacterial counts in broiler chickens. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Veldhoven, Holanda, pp. 242-245.
- Francesch, M.; Brufau, J.; Badiola, I. (2002). Efectos de la dieta sobre la integridad intestinal. XXXIX Symposium Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 43-51.
- Gustafson, R.H.; Bowen, R.E. (1997). Antibiotic use in animal agriculture. *J. Appl. Microb.*, 83:531-541.
- Hillman, K. (2001). Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 107-134.
- Hoerr, F. (2001). Intestinal integrity and the impact of loosing it. Proc. Elanco Poultry Health Conf., 17/1/01, Atlanta, USA, pp. 19-27.
- Hughes, P.; Heritage, J. (2001). Antibiotic growth-promoters in food animals. [http://www.fao.org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/555\\_EN.HTM](http://www.fao.org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/555_EN.HTM).
- Knarreborg, A.; Simon, M.A.; Engberg, R.M.; Jensen, B.B.; Tannock, G.W. (2002). Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. *Appl Environm. Microb.*, 68:918-924.
- Ktulu, H.R.; Karazoak, E. (1999). Effects of whole grain feeding and its application methods on broiler chicks. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, pp. 264- 265, Veldhoven, Holanda.
- Langhout, D.J. (1999). The role of intestinal flora as affected by NSP in broilers. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, pp. 203-212, Veldhoven, Holanda.
- López Coello, C.; Reyes, J.; Bouda, J. (2003). Efecto de los microingredientes y del equilibrio iónico sobre la mejora de las camas húmedas. XL Symposium Sec. Esp. WPSA, Girona, 1-3/10/03, pp. 69-93.
- Matthews, K.H. (2001). Antimicrobial drug use and veterinary costs in US livestock production. *USDA Agric. Inf. Bull.* 766.
- Mead, G.C. (2000). Microbial ecology of the digestive tract. Proc. XXI World's Poultry Congress, Montreal, Canada, CD-Rom.
- Muramatsu, T., Nakajima, S.; Okumura, J. (1994). Modification of energy metabolism by the presence of the gut microflora in the chicken. *Br. J. Nutr.* 71: 709-717.
- National Research Council. Nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of poultry. 8<sup>th</sup> edition. 1984. Natl.Acad.Sci. Washington, DC.
- National Research Council (1999). The use of drugs in food animals: Benefits and risks. CABI Pub., Wallingford, UK.
- Ortiz, A. (2004). Salud intestinal en pollos de carne. Ajuste de dietas. *Selec. Avic.*, 46 (8):489-498.
- Owens, B.; Tucker, L.; Collins, M.A.; McCracken, K.J. (2004). The effects of different growth promoters alone or in combination on the performance and gut microflora of broiler chickens. Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom.
- Ranilla, M.J.; Carro, M.D. (2000). Antibióticos como aditivos en nutrición animal. *Mundo Ganadero*, Oct. 2000, pp. 32-38.
- Taylor, D.J. (2001). Effects of antimicrobials and their alternatives. *Brit. Poultry Sci.*, 42 (Suppl.1): S-67-S68.
- Teeter, R.G., McKinney, L.; Becker, A. (2003). Valor calórico efectivo y energía-valores nutricionales en broilers comerciales. XL Symposium Sec. Esp. WPSA, Girona, 1-3/10/03, pp. 95-104.

- Viaene, J.; De Craene, A. (1993). Performance enhancers: their impact on farmers and consumers. *World Poultry*, 9(11):45-46.
- Waldroup, P. (2002). The future of poultry nutrition. *Poultry Int.*, June 2002, pp. 12-19.
- Walton, J.R. (1988). The modes of action and safety aspects of growth promoting agents. *Proc. Maryland Nutr. Conf.*, pp. 92-97.
- Walton, J.R. (1996). Benefits of antibiotics in animal feed. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 19-46.
- Wu, Y.B.; Ravindran, V.; Thomas, D.G.; Birtles, M.J.; Hendriks, W.H. (2004). Influence of method of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. *Brit. Poultry Sci.*, 45(3):385-394.
- Animal Health Institute (2002). European Union experience withdrawing antibiotic growth promoters use. <http://www.ahi.org/mediaCenter/mediaKit/EUExperienceWithdraw.asp>.
- Balloy, D. (2003). Les pathologies digestives en pleine recrudescence. *Filières Avicoles*, Juin 2003, 59-61.
- Blanca, R.M.; López, M.C. (1999). Problemática de la Unión Europea sobre la utilización de antibióticos en la alimentación ganadera. *Eurocarne*, nº 82, pp. 55-71.
- Brewer, P.S.; Prestat, C.J. (2002). Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety*, 22:67-83.
- Brynstad, S., Granum, P.E. (2002). *Clostridium perfringens* and foodborne infections. *Int. J. Food Microbiol.*, 74:195-202.
- Bywater, R.J. (2005). Identification and surveillance of antimicrobial resistance dissemination in animal production. *Poultry Sci.*, 84:644-648.
- Casewell, M.; Friis, C.; Marco, E.; McMullin, P.; Phillips, I. (2004). The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J. Antimicrob. Chem.*, 53:159-161.
- Cowan, C. (1998). Irish and European consumer views on food safety. *J. Food Safety*, 18:275-295.
- DANMAP (2005). DANMAP 2004-Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. <http://www.vetinst.dk>.
- De Gussem, K. (2004). Some common and emerging poultry diseases in the EU: can the pharmaceutical industry bridge all the gaps? *Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom*
- Edqvist, L.-E.; Pedersen, J.S. (2001). Antibiotic growth promoters in food animals: Resistance to common sense. En: *Late lessons and early warnings: The precautionary principle. Report 22-2001 European Environmental Agency*. [http://reports/eea.eu.int/environmental\\_issue\\_report\\_2001\\_22\\_part09.pdf](http://reports/eea.eu.int/environmental_issue_report_2001_22_part09.pdf).
- Emborg, H-D.; Kjaer, A.; Eske, O.; Wegener, H.C. (2001). The effect of discontinuing the use of antimicrobial growth promoters on the productivity in the Danish broiler production. *Prev. Vet. Med.*, 50:53-70.
- Grave, K.; Kaldhusdal, M.; Kruse, H.; Harr, L.M.F.; Flatlandsmo, K. (2004). What has happened in Norway after the ban of avoparcin?. Consumption of antimicrobials by poultry. *Prev. Vet. Med.*, 62:59-72.
- Hafez, H.M. (2002). Emerging bacterial diseases in poultry. *Proc. 11<sup>th</sup> Eur. Poultry Conf., Bremen, CD-Rom*.
- Hugoson, G.; Wallen, C., eds. (2000). *Proc. of the Symposium on antibiotic resistance with emphasis on animal-human transfer, Falkenberg, Sweden, 13-14/9/1999. Acta Vet. Scand., suppl. 93*.
- Hurd, H.S.; Doores, S.; Hayes, D.; Mathew, A.; Maurer, J.; Silley, P.; Singer, R.S.; Jones, R.N. (2004). Public health consequences of macrolide use in food animals: A deterministic risk assessment. *J. Food Prot.*, 67(5):980-992.
- Inbarr, J. (2001). Swedish poultry production without in-feed antibiotics – an opportunity for Clostridia?. *Brit. Poultry Sci.*, 42 (Suppl.1): S-64-S67.
- Le Boucher, G. (2002). Europe: L'invasion des volailles brésiliennes et thaïlandaises. *FIL. Avic.*, Fev 2002, pp. 7-11.
- Lederberger, U.; Regula, G.; Stephan, R.; Danuser, J.; Bissig, B.; Stark, K.D.C. (2003). Risk factors for antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from raw poultry in Switzerland. *BMC Public Health*, 3:39.
- Mateos, G.G.; Lázaro, R. (2001). Implicaciones y consecuencias generales de la prohibición de productos animales y restricción de aditivos: Nuevas tendencias en producción avícola. *Memoria XXXVIII Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Córdoba, pp. 63-76*.
- Palermo Neto, J. (2004). Residues of food additives and veterinary medicines: barriers to product availability and trade. *Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom*.
- Pattison, D. (1998). Resistance to antibiotics in human and veterinary medicine – a growing concern. *Proc. Elanco Poultry Health Conf., Atlanta, USA, pp. 75-79*.
- Penz, A.M.; Roppa, L. (2003). Globalization of animal production: Implications for the UK livestock industry.
- Phillips, I.; Casewell, M.; Cox, T.; De Groot, B.; Friis, C.; Jones, R.; Nightingale, C.; Preston, R.; Waddell, J. (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chem.*, 53:28-52.
- Schwarz, S.; Kehrenberg, C.; Chaslus-Dancla, E. (2002). Antimicrobial resistance in bacteria from poultry: Resistance genes and their ways of spreading. *Proc. 11<sup>th</sup> Eur. Poultry Conf., Bremen, CD-Rom*.
- Shane, S. (2003). Evaluating consumer-acceptance performance enhancers. *World Poultry*, 19(7): 32-33.
- Shane, S.M. (2002). The antibiotic dilemma: issues and costs. *World Poultry*, 18(8):41-42.
- Sorum, M.; Holstad, G.; Lillehaug, A.; Kruse, H. (2004). Prevalence of Vancomycin resistant enterococci on poultry farms established after the ban of Avoparcin. *Avian Dis.*, 48:823-828.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2005). SWARM report 2004. <http://www.sva.se/dokument>
- Thomas, P.C. (2001). Meeting regulatory requirements and consumer demands. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), J. Nottingham University Press, UK, pp. 1-23.
- Threlfall, E.J.; Frost, J.A.; Rowe, B. (1996). Public health problems associated with the use of antibiotics. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 47-53.
- Turnidge, J. (2004). Antibiotic use in animals – prejudices, perceptions and realities. *J. Antimicrob. Chem.*, 53:26-27.

- Viénet, E. (2000). Sans additifs antibiotiques, que font les pays voisins? *Fil. Avic.*, Fev. 2000. pp. 73-74.
- Wierup, M. (1998). Preventive methods replace antibiotic growth promoters: ten years of experience from Sweden. *APUA Newsletter*, 16(2):1-2, 4.
- Wierup, M. (2001). The Swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. *Mic. Drug Resist.*, 7(2):183-190.
- Witte, W. (1998). Antibiotic use in animal husbandry and resistance development in human infections. *APUA Newsletter*, 16(3):1, 4-6.
- World Health Organisation (1997). The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. Report of a WHO meeting, Berlin, Germany, 13-17 October 1997, WHO/EMC/ZOO/97.4.
- World Health Organisation (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. WHO/CDS/CSR/2001.2.
- Ziggers, D.; van der Sluis, W. (1998). To promote or not to promote growth. *World Poultry*, 14(9): 50-52.
- Anónimo (1998). Necrotic enteritis and associated conditions in broiler chickens. *Ross Tech* 98/36.
- Branton, S.L.; Lott, B.D.; Deaton, J.W.; Maslin, W.R.; Austin, F.W.; Pote, L.M.; Keirs, R.W.; Latour, M.A.; Day, E.J. (1997). The effect of added complex carbohydrates or added dietary fiber on necrotic enteritis lesions in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 76:24-48.
- Branton, S.L.; Reece, F.N.; Hagler, W.M. (1987). Influence of a wheat diet on mortality of broiler chickens associated with necrotic enteritis. *Poultry Sci.*, 66:1326-1330.
- Brennan, J.; Bagg, R.; Barnum, D.; Wislon, J.; Dick, P. (2001). Efficacy of narasin in the prevention of necrotic enteritis in broiler chicks. *Avian Dis.*, 45:210-214.
- Brennan, J.; Moore, G.; Poe, S.E.; Zimmermann, A.; Vessie, G.; Barnum, D.A.; Wilson, J. (2001). Efficacy of in-feed tylosin phosphate for the treatment of necrotic enteritis in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 80:1451-1454.
- Craven, S.E.; Cox, N.A.; Buhr, J.; Wilson, J.L.; Stern, N.J.; Bailey, J.S. (2001). Occurrence of *Clostridium perfringens* in the intestinal and reproductive tract of broiler breeders. *Proc. 13th Eur. Symp. Poultry Nutrition*, pp. 125-126, Blankenberge, Bélgica.
- Drew, M.D.; Syed, N.A.; Goldade, B.G.; Laarveld, B.; Van Kessel, A.G. (2004). Effects of dietary protein source and level on intestinal populations of *Clostridium perfringens* in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 83:414-420.
- Drouin, P. (1999). Retour en force de l'entérite nécrotique. *Fil. Avic.*, 1999 78-79.
- Dudley-Cash, W. (2001). Sin los APC, se deberán considerar otras medidas para el tratamiento de la enteritis necrótica. *Avic. Prof.*, 19(5):10-12.
- Choct, M. (2000). Effects of organic acids, prebiotics and enzymes on control of necrotic enteritis and performance of broiler chickens. *Proc. XXI World's Poultry Congress, Montreal, Canada, CD-Rom*.
- Elwinger, K.; Teglöf, B. (1991). Performance of broiler chickens as influenced by a dietary enzyme complex with and without antibiotic supplementation. *Arc. Geflügelk.*, 55:69-73.
- Elwinger, K.; Engström, B.; Berndtson, E.; Fossum, O.; Teglöf, B. (1992). The effects of narasin on *Clostridium perfringens* in caeca and the occurrence of necrotic enteritis in broiler chickens. *Proc. XIX World's Poultry Congress, Amsterdam, vol. 3*, pp. 580-584.
- Elwinger, K.; Berndtson, E.; Engstrom, B.; Fossum, O.; Waldenstedt, L. (1998). Effect of antibiotic growth promoters and anticoccidials on growth of *Clostridium perfringens* in the caeca and on performance of broiler chickens. *Acta Vet. Scand.*, 39:433-441.
- Ficken, M.D.; Wages, D.P. (1997). Necrotic enteritis. In : Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C.W.; McDougald, L.R.; Sayf, Y.M. (Eds.) *Diseases of Poultry*, 10<sup>th</sup> ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 261-264.
- Hermans, P-G.; Morgan, K.L. (2003). The epidemiology of necrotic enteritis in broiler chickens. *Res. in Vet. Sci.*, 74 (Suppl. A), 19.
- Hofacre, C.L.; Froyman, R.; Gautrias, B.; George, B.; Goodwin, M.A.; Brown, J. (1998). Use of Aviguard and other intestinal bioproducts in experimental *Clostridium perfringens*-associated necrotizing enteritis in broiler chickens. *Avian Dis.*, 42:579-584.
- Hofacre, C.L.; Beacorn, T.; Collet, S.; Mathis, G. (2003). Using competitive exclusion, mannan-oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. *J. Appl. Poultry Res.*, 12:60-64.
- Kaldhusdal, M.; Skjerve, E. (1996). Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in Norway. *Prev. Vet. Med.*, 28:1-16.
- Kaldhusdal, M.I. (1999). Necrotic enteritis as affected by dietary ingredients. *Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Veldhoven, Holanda*, pp. 301-310.
- Kaldhusdal, M.I. (2000). Necrotic enteritis as affected by dietary ingredients. *World Poultry*, 16(6):42-43.
- Köhler, B. (2000). *Clostridium perfringens* intoxication affects bird performance. *World Poultry*, 16(5):57-58.
- Lovland, A.; Kaldhusdal, M. (2001). Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. *Avian Pathol.*, 30:73-81.
- Martel, A.; Devriese, A.; Cauwerts, k.; De Gussem, K.; Decostere, A.; Haesebrouck, F. (2004). Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian Pathol.*, 33(1):3-7.
- Morrow, C. (2001). Solving the problems of necrotic enteritis. *Brit. Poultry Sci.*, 42 (Suppl. 1), S65-S67.
- Ordóñez, G. (2003). Factores desencadenantes de patógenos oportunistas: *E.Coli* y *Clostridium spp*. *Memoria Jornadas Profesionales de Producción de carne de pollo, Valencia 14-16/5/2003*, pp. 16.1-16.0
- Pasmans, F.; Martel, A.; De Vriese, L.A.; Cauwerts, K.; De Gussen, K.; Decostere, A.; Haesebrouck, F. (2004). Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, Turquía, CD-Rom*.

- Schaller, D. (1998). Necrotic enteritis infection in poultry production – the Norwegian experience. Proc. Bayer Eur. Poultry Symposium, Cascais, Portugal, pp. 37-42.
- Tice, G. (2001). Clostridial proliferation and intestinal instability. Proc. Elanco Poultry Health Conf., 17/1/01, Atlanta, USA, pp. 19-27.
- Van der Sluis, W. (2000a). Clostridial enteritis – a syndrome emerging worldwide. World Poultry, 16(5):56-57.
- Van der Sluis, W. (2000b). Clostridial enteritis is an often under-estimated problem. World Poultry, 16(7):42-43.
- Van der Stroom, J. (2002). Coccidiosis y enteritis necrótica. Memoria XXXIX Symp. Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 39-41.
- Van Immerseel, F.; De Buck, J.; Pasmans, F.; Huyghebaert, G.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. Avian Pathol., 33(6):537-549.
- Williams, R.B. (2005). Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. Avian Pathol., 34(3):159-180.

## ALTERNATIVAS

- Allen, P.C.; Fetterer, R.H. (2002). Interaction of dietary vitamin E with *Eimeria maxima* infections in chickens. Poultry Sci. 79: 41-48.
- Allen, V.M., Fernandez, F.; Hinton, M.H. (1997). Evaluation of the influence of supplementing the diet with mannose or palm kernel meal on *Salmonella* colonisation in poultry. Br. Poult. Sci. 38: 485-488.
- Andrýs, R., Klecker, D., Lichovniková, M., Marecek, E., Havlíček, Z.; Zeman, L. (2001). Effect of change pH of feed in isophosphoric diets on broiler performance. In: 13th Eur. Symp. Poultry Nutrition, pp. 118-124. Blankenberge, Bélgica.
- Ao, Z.; Kocher, S.; Tucker, L.A.; ChocT, M. (2004). The use of oligosaccharides to improve broiler performance. Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom.
- Apajalahti, J. ; Bedford, M.R. (1999). Improve bird performance by feeding its microflora . World Poultry 15: 20-23.
- Aye, P.; Morishita, T.Y.; Saif, Y.M.; Jonas, M. (2000). The effect of hypovitaminosis A on the pathogenesis of *Pasteurella multocida* in turkeys. Avian Dis. 44: 818-826.
- Bailey, J.S., Blankenship, L.C.; Cox, N.A. (1991). Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonization of the chicken intestine. Poult. Sci. 70: 2433-2438.
- Bailey, J.S., Cason, J.A.; Cox, N.A. (1998). Effect of *Salmonella* in young chicks on competitive exclusion treatment. Poult. Sci. 77 : 394-399.
- Barragán, J.I.; Cepero, R.; Zalduendo, D.; Sanz, J.L.; Losa, R. (2004). Evaluación de la eficacia zootécnica en cebo de broilers de un aditivo basado en aceites esenciales. Memoria XLI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 171-179.
- Barroeta, A.C.; Baucells, M.D.; Castro, A. (2002). Nutrición vitamínica óptima en ponedoras. En: Óptima Nutrición Vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad. Varios autores, Ed. Pulso, Barcelona, pp. 133-167.
- Berghman, L.R.; Abi-Ghanem, D.; Waghela, S.D.; Ricke, S.C. (2005). Antibodies: An alternative to antibiotics?. Poultry Sci., 84:660-666.
- Bird, N. (1999). Vitamin E and immunity in commercial broiler production. World Poultry 15, nº 7: 20-21.
- Blankenship, L.C., Bailey, J.S., Cox, N.A., Stern, N.J., Brewer; R.Williams, O. (1993). Two-step mucosal competitive exclusion flora treatment to diminish *salmonellae* in commercial broiler chickens. Poult. Sci. 72: 1667-1672.
- Blecha, F. (2001). Immunomodulators for prevention and treatment of infectious diseases in food-producing animals. Vet. Clin. Of North America: Food Anim. Prac., 17(3):621-633.
- Brufau, J. (2002). Los enzimas en la alimentación avícola, un cambio remarcable. Selec. Avic., 44 (8):545-548.
- Buggeman, G.; Deschepper, K.; Molly, K. (2004). Uso de los ácidos grasos de cadena media frente a las infecciones alimentarias. Memoria XLI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 81-84.
- Byrd, J.A.; Anderson, R.C.; Callaway, T.R.; Moore, R.W.; Knape, K.D.; Kubena, L.F.; Ziprin, R.L.; Nisbet, D.J. (2003). Effect of experimental chlorate product administration in the drinking water on *Salmonella typhimurium* contamination of broilers. Poultry Sci., 82:1403-1406.
- Calvo, M.A.; Costa-Batllo, P.; Marzo, I. (2001). Sinergismo entre extractos naturales y ácidos orgánicos en nutrición aviar. Memoria XXXVIII Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Córdoba, pp. 161-169.
- Cepero, R. (2002). Avances en la nutrición vitamínica de broilers y pavos. En: Óptima Nutrición Vitamínica de los animales para la producción de alimentos de calidad. Varios autores, Ed. Pulso, Barcelona, pp. 77-131.
- Coelho, M.; McKnight, W.; Cousins, B. (2001). Impact of a targeted B-vitamin regimen on rate and efficiency of fast growing broilers from 0 to 49 days. Proc. PSA Symp. , pp. 201
- Coelho, M.B; McNaughton, J.L. (1995) Effect of composite vitamin supplementation on broilers. J. Appl. Poultry Res. 4:219-229.
- Colnago, G.L.; Jensen, L.S.; Long, P.L. (1984). Effects of selenium and vitamin E on the development of immunity to coccidiosis in chickens. Poultry Sci., 63:1136-1143.
- Cook, M.E., Miller, C.C., Park, Y. ; Pariza, M. (1993). Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. Poult. Sci. 72: 1301-1305.
- Cook, M.E; Springer, W.T; Hebert, J.A. (1984a). Enhanced incidence of leg abnormalities in reovirus wvu 2937-infected chickens fed various dietary levels of selected vitamins. Avian Dis. 28 (3): 548-561.
- Cook, M.E; Springer, W.T; Kerr, K.M; Hebert, J.A. (1984b). Severity of tendosynovitis in reovirus-infected chickens fed various dietary levels of choline, folic acid, manganese, biotin or niacin. Avian Dis. 28, nº 3: 562-573.
- Core, J. (2004). Probiotics protect poultry from pathogens. Agric. Res., Jan. 2004, pp. 20-22.
- Costa-Batllo, P.; Salado, S.; Medel, P. y Asensio, J.J. (1999). Productos naturales de origen vegetal: una alternativa a los aditivos antimicrobianos en alimentación animal.
- Crevieu-Gabriel, I.; Naciri, M. (2001). Effet de l'alimentation sur les coccidiosis chez le poulet. INRA Prod. Anim., 14 (4):231-246.

- Chang, W-P; Marsh, J.A.; Dietert, R.R.; Combs, G.F. (1990). The effect of dietary vitamin E and selenium deficiencies on chicken lymphocyte surface marker expression and proliferation. *Poultry Sci.*, 69 (suppl. 1):32 (abst.).
- Chen, M., Stern, N.J., Bailey, J.S.; Cox, N.A. (1998). Administering mucosal competitive exclusion flora for control of *Salmonellae*. *J. Appl. Poult. Res.* 7: 384-391.
- Dalloul, R.A.; Lillehoj, H.S.; Doerr, J.A. (2000). Effect of vitamin A deficiency on local and systemic immune responses of broiler chickens. *Poultry Sci.* 79 (suppl 1): 98-99 (abst.).
- Davelaar, F.G.; van den Bos, J. (1992). Ascorbic acid and infectious bronchitis infections in broilers. *Avian Pathol.* vol. 21: 581-589.
- Davis, C.Y.; Sell, J.L. (1989). Immunoglobulin concentrations in serum and tissues of vitamin A-deficient broiler chicks after Newcastle disease virus vaccination. *Poultry Sci.*, 68:136-144.
- Deyhim, F.; Teeter, R.G. (1996). Vitamin withdrawal effects on performance, carcass composition, and tissue vitamin concentration of broilers exposed to various stress types. *Poultry Sci.*, 75 (Suppl. 1):113 (abst.).
- Dickens, J.A., Berrang, M.E.; Cox, N.A. (2000). Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcasses during a simulated chill. *Poultry. Sci.* 79: 1200-1203.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.*, 88:308-316.
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.*, 88:308-316.
- Erf, G.F.; Bottje, W.G.; Bersi, T.K.; Headrick, M.D.; Fritts, C.A. (1998). Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. *Poultry Sci.* 77: 529-537.
- Ewing, W.N.; Cole, D.J.A. (1994). The living gut. *Context*, Dungannon, N. Ireland.
- Ferket, P.R.; Qureshi, M.A. (1992). Performance and immunity of heat-stressed broilers fed vitamin- and electrolyte-supplemented drinking water. *Poultry Sci.* 71: 88-97.
- Ferket, P.R.; Qureshi, M.A. (1999). The turkey immune system and nutritional immunomodulators. 12th Eur. Symp. on Poultry Nutrition, pp. 17-29.
- Fernández, J.I. (2001). Fructooligosacáridos: Acción sobre la flora intestinal. IV Jornada Internacional Avicultura Carne Trouw Nutrition, Madrid..
- Francesch, M; Brufau, J.; Badiola, I.; Llauradó, L.I. and Llach, J.R. (1999). Effects of the essential oil blend Crina HC in feed on broiler performance and digesta viscosity. *Proc. XII Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, Veldhoven, The Netherlands, p. 128.
- Friedman, A.; Bartov, I.; Sklan, D. (1998). Humoral immune response impairment following excess vitamin E nutrition in the chick and turkey. *Poultry Sci.* 77: 956-962.
- Friedman, A.; Meidovsky, J.; Leitner, G.; Sklan, D. (1991). Decreased resistance and immune response to *E. coli* infection in chickens with low and high intakes of vitamin A. *J. Nutr.*, 121:395-400.
- Fukata, T., Sasai, K., Miyamoto, T.; Baba, E. (1999). Inhibitory effects of competitive exclusion and fructooligosaccharide, singly and in combination, on *Salmonella* colonization of chicks. *J. Food Prot.* 62: 229-233.
- Fulton, R.M., Nersessian, B.N. and Reed, W.M. 2002. Prevention of *Salmonella enteritidis* infection in commercial ducklings by oral chicken egg-derived antibody alone or in combination with probiotics. *Poult. Sci.* 81: 34-40.
- García, V.; Catalá, P.; Hernández, F.; Madrid, J.; Orengo, J.; Megías, M.D. (2004). Effect of formic acid on ileal apparent digestibility and carcass yield in broilers at level of farm. *Proc. XXII World's Poultry Congress*, Istanbul, CD-Rom.
- Gedek, B.R. (1999). Mode of actions of probiotics in chickens. *Proc. XII Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, Veldhoven, The Netherlands., pp. 83-90.
- Gil de los Santos, J.R.; Gil-Turnes, C. (2005). Probióticos em avicultura. *Ciencia Rural*, 35(3):741-747.
- Gutiérrez del Álamo, A.; Santomá, G.; Schuring, M. (2005). The effect of natural alternatives for anti-microbial growth promoters in broiler diets. *Feed Mix Int.*, en prensa.
- Gross, W.B. (1988). Effect of ascorbic acid on antibody response of stressed and unstressed chickens. *Avian Dis.*, 32: 483-485.
- Gross, W.B.; Jones, D.; Cherry, J. (1988). Effect of ascorbic acid on the disease caused by *Escherichia coli* challenge infection. *Avian Dis.* ol. 32: 407-409.
- Guillot, J.F. (2000). The pros and cons of probiotics – Make probiotics work for poultry. *World Poultry*, 16(7):18-21.
- Guo, F.C.; Williams, B.A.; Kwakkel, R.P.; Li, H.S.; Li, X.P.; Luo, J.Y.; Li, W.K.; Verstegen, W.A. (2004). Effects of mushroom and herb polysaccharides, as alternatives for an antibiotic, on the cecal microbial ecosystem in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 83:175-182.
- Hartog, L.A.; Gutiérrez del Álamo, A.; Doorenbos, J.; Flores, A. (2005) he effect of natural alternatives for anti-microbial growth promoters in broiler diets. *Proc. Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, Budapest.
- Hernández, F., Madrid, J.; García, V.; Orengo, J.J.; Megías, M.D. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry Sci.*, 83:169-174.
- Hofacre, C.L.; Mathis, G.F.; Quiroz, M.A. (2005). Natural alternatives to prevent necrotic enteritis. *Int. Poultry Prod.*, 13 (4): 7-9.
- Hooge, D.M. (1995). Poultry feeds, feeding: ways to improve profits. *Poultry Digest* 54: 12- 19.
- Hooge, D.M.; Sefton, A.E. (2004). Performance evaluation of dietary manann oligosaccharide for broiler chickens: Ten years of field trials analysed. *Proc. XXII World's Poultry Congress*, Istanbul, CD-Rom.
- Huff, W.E.; Huff, G.R.; Rath, N.C.; Balog, J.M.; Donoghue, A.M. (2005). Alternatives to antibiotics: Utilization of bacteriophage to treat and ptevent foodborne pathogens. *Poultry Sci.*, 84:655-659.
- Humphrey, B., Huang, N.; Klasing, K. (2001). Genetically modified rice containing lactoferrin and lysozyme as an antibiotic substitute in broiler diets. In: 54th Annual Rec. Meat Conf. pp. 50.
- Huurne, A.A.H.M.; Smits, C.H.M. (1999). Malabsorption syndrome: a model to evaluate intestinal health. *Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition*, Veldhoven, Holanda, pp. 285-300.
- Iji, P.A.; Tivey, D.R. (1998). Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. *World's Poultry Sci. J.* 54: 129-143.

- Iji, P.A.; Tivey, D.R. (1999). The use of oligosaccharides in broiler diets. Iji, P.A.; Tivey, D.R. (1999). The use of oligosaccharide in broiler diets. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Veldhoven, Holanda, pp. 193-201.
- Jin, L. Z.; Ho, Y.W.; Abdullah, N.; Jalaludin, S. (1997). Probiotics in poultry: Modes of action. WPSA J., 53(4):351-368.
- Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N.; Jalaludin, S. (2000). Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplemented with *Lactobacillus* cultures. Poult. Sci. 79: 886-891.
- Jindal, N., Mahipal, S.K.; Mahajan, N.K. (1994). Toxicity of aflatoxin B<sub>1</sub> in broiler chicks and its reduction by activated charcoal. Res. Vet. Sci. 56: 37-40.
- Joerger, R.D. (2003). Alternatives to antibiotics: Bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. Poultry Sci., 82:640-647.
- Kamel, C. (2000). A novel look at a classic approach of plant extracts. Feed Mix Special 2000: 19-21.
- Kamel, C. (2001). Tracing models of actino and the roles of plant extracts in non-ruminants. . En: Recent advances in animal nutrition, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), J. Nottingham University Pres, UK, pp. 135-150.
- Kennedy, D.G.; Rice, D.A.; Bruce, D.W.; Goodall, E.A.; Mclroy, S.G. (1992). Economic effects of increase vitamin E supplementation of broiler diets on commercial broiler production. Brit. Poultry Sci., 36: 848-849.
- Kim, K.S., Jenkins, M.C.; Lillehoj, H.S. (1989). Immunization of chickens with live *Escherichia coli* expressing *Eimeria acervulina* merozoite recombinant antigen induces partial protection against coccidiosis. Infection and immunity 57(8): 2434- 2440.
- Koenen, M.E.; Kramer, J.; van der Hulst, R.; Heres, L.; Jeurissen, S.H.M.; Boersma, W.J.A. (2004). Immunomodulation by probiotic lactobacilli in layer- and meat-type chickens. Brir. Poultry Sci., 45(3):355-366.
- Konjufca, V.H.; Bersi, T.K.; Bottje, W.G.; Erf, G.F. (1999). Influence of dietary vitamin E on phagocytic function of macrophages in broilers. Poultry Sci. 78 (suppl. 1):47-48 (abst.).
- Lee, K.-W.; Everts, H.; Kappert, H.J.; Frehner, M., Losa, R. and Beynen, C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Poultry Sci., 44 (3):450-457.
- Leeson, S.; Summers, J.D. (1997). Commercial Poultry Nutrition, 2nd edition. Ed. University books. Ontario, Canadá, 350 pp.
- Leshchinsky, T. V.; Klasing, K. C. (2001). Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. Poultry Sci. 80: 1590-1599.
- Line, J.E., Bailey, J.S., Cox, N.A., Stern, N.J.; Tompkins, T. (1998). Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. Poult. Sci. 77: 405-410.
- Line, J.E., Bailey, J.S., Cox, N.A.; Stern, N.J. (1997). Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* populations associated with broiler chickens subjected to transport stress. Poult. Sci. 76:1227-1231.
- Losa, R. and Köhler, B. (2001). Prevention of colonisation of *Clostridium perfringens* in broilers intestine by essential oils. Proc. XIII Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Blankenberge (Belgium), pp. 133-134.
- Manfreda, G.; Cerchiarì, E. (2000). A new approach in feeding acids to laying hens. Proc. XXI World's Poultry Congress, Montreal, Canada, CD-Rom.
- Manzanilla, E.G.; Anguita, M.; Mesía, J.; Pérez, J.F.; Gasa, J. (2001). La inclusión de butirato sódico en dietas de broilers modifica el perfil cecal de ácidos grasos volátiles y el grosor de la mucosa intestinal. Memoria XXXVIII Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Córdoba, pp. 149-152.
- Marquardt, R.R., Brenes, A., Zhang, Z.; Boros, D. (1996). Use of enzymes to improve nutrient availability in poultry feedstuffs. Anim. Feed Sci. Technol. 60: 321-330.
- Mateos, G.G. (2001). Alternativas de origen natural al uso de antibióticos en alimentación animal. Jornadas Técnicas Biocitro, Zaragoza-Madrid.
- Mateos, G.G.; Rey, P.; Santos, S., Lázaro, R. (1999). Ácidos orgánicos en alimentación animal. Modo de acción y utilización práctica. Cuadernos Técnicos FEDNA-Universidad Politécnica de Madrid, 29 pp.
- Maurice, D.V.; Lightsey, S.F.; Gaylord, T.C. (1993). Immunoenhancement in chickens fed excess dietary vitamin E is dependent on genotype and concentration. Poultry Sci., 72 (Suppl. 1):55 (abst.).
- McCartney, E. (2005). Countdown to 2006. EU considers AGP alternatives. Poultry Int., 26(4): 6-10.
- McKee, J.S.; Harrison, P.C. (1995). Effects of supplemental ascorbic acid on the performance of broiler chickens exposed to multiple concurrent stressors. Poultry Sci., 74:1722-1785.
- McKnight, W.F.; Coelho, M.B.; McNaughton, J.L. (1995). Turkey vitamin fortification. I. Commercial U.S. turkey vitamin survey. Poultry Sci., 74 (Suppl. 1):185 (abst.).
- Mead, G.C. (2004). Manipulación de la biota intestinal para evitar patógenos alimentarios en productos avícolas. Memoria XLI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 41-52.
- Miazzo, R., Rosa, C.A., Queiroz Carvalho, E.C., Magnoli, C., Chiacchiera, S.M., Palacio, G., Saenz, M., Kikot, A., Basaldella, E.; Dalcero, A. (2000). Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. Poult. Sci. 79: 1-6.
- Miles, R.D. (1995). The avian digestive tract: its integrity and inhabitants. In: Proc. Maryland Nutr. Conf. for Feed Manufacturers. pp. 113- 118. University of Maryland, USA.
- Mireles, A. (1997). The impact of using 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on performance and the immune system of broilers. Memoria Jornada Int. Avicultura de Carne 1997, Trouw Nutrition, pp. 30-38.
- Mireles, A.; Kim, S.; Douglas, J.; Ghazikhanian, G.Y. (1999). Effect of 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>), breed, and low nutrient starter feeds on heavy turkey tom performance, meat yield, tibial dyschondroplasia (TD), and incidence of leg problems. Poultry Sci. 78 (suppl. 1): 50 (abst.).
- Mitchell, I.D.G.; Kenworthy, R. (1976). Investigations on a metabolite from *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pig. J. Appl. Bacteriol. 41: 163-174.
- Mitsch, P.; Zitter-Eglseer, K.; Köhler, B.; Gabler, C.; Losa, R.; Zimpernik, I. (2004). The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broiler chickens. Poultry Sci., 83:669-675.
- Mohanna, C. and Nys, Y. 1999. Effect of dietary zinc content and sources on the growth, body zinc deposition and retention, zinc excretion and immune response in chickens. Br. Poult. Sci. 40: 108-114.

- Mul, A.J.; Perry, F.G. (1994). The role of fructo-oligosaccharides in animal nutrition. In: P.C. Garnsworthy and D.J.A. Cole (Ed), Recent Advances in Animal Nutrition. pp. 57-79. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Muramatsu, T., Nakajima, S. and Okumura, J. 1994. Modification of energy metabolism by the presence of the gut microflora in the chicken. Br. J. Nutr. 71: 709-717.
- National Research Council (1987). Vitamin tolerance of animals. National Academy Press, Washington D.C., 96 pp.
- Nurit, S.; Rulf, Y.; Miller, N.; Schatz, A.; Hoyzman, A. (2001). Probiotics versus antibiotics as growth promoters in broiler chickens. Proc. XIII Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Blankenberge (Belgium), pp. 135.
- Nurmi, E.; Rantala, M. (1973). New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. Nature 241: 210-211.
- Nys, Y. (1999). Trace elements as related to health and environment in chickens. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Veldhoven, Holanda, pp. 91-105.
- O'Keefe, T. (2005). Digestive aids: a brave new world of nutrition. Poultry Int., 44 (7): 26-30.
- Oyofe, B.A., Droleskey, R.E., Norman, J.O., Mollenhauer, H.H., Ziprin, R.L., Corrier, D.E.; DeLoach, J.R. (1989). Inhibition by manose of in vitro colonization of chicken small intestine by *Salmonella typhimurium*. Poul. Sci. 68: 1351-1356.
- Pardue, S.L.; Thaxton, J.P. (1986). Ascorbic acid in poultry: a review. WPSA J. 42 (2): 107-123.
- Patterson, J. A.; Burkholder, K.M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry Sci., 82:627-631.
- Pimentel, J.L., Cook, M.E. and Greger, J.L. 1991. Immune responses of chicks fed various levels of zinc. Poul. Sci. 70: 947-954.
- Ricke, S.C. (2003). Perspectives and use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poultry Sci., 82:632-639.
- Ricke, S.C.; Kunderinger, M.M.; Miller, D.R.; Keeton, T. (2005). Alternatives to antibiotics: Chemical and physical antimicrobial interventions and foodborne pathogen response. Poultry Sci., 84:667-675.
- Rombout, J.H.W.M.; van Rens, B.T.T. M.; Sijtsma, S.R.; van der Weide, M.C.; West, C. E. (1992). Effects of vitamin A deficiency and Newcastle disease virus infection on lymphocyte subpopulations in chicken blood. Vet. Immunol. and Immunopathol. 31: 155-166.
- Roquet, J. (2002). Probióticos y prebióticos: Interés en avicultura. Selec. Avic., 44 (8):561-564.
- Rose, S.P. Walker, C.; Pemberton, J.N.; Blanchard, P. (2003). Effect of acidified water on the incidence of dirty eggs in laying hens. Brit. Poultry Sci., 44:S 13-14.
- Santin, E., Maiorka, A., Macari, M., Grecco, M., Sanchez, J.C., Okada, T.M.; Myasaka, A.M. (2001). Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. J. Appl. Poultry Sci. 10:236-244.
- Santomá, G. (1999). Aditivos alternativos a los antibióticos y promotores de crecimiento. Memoria XXXVI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Valladolid 20-22/10/99, pp. 95-132.
- Sapir, N., Rulf, Y., Miller, N., Schatz, A.; Hoyzman, A. (2001). Probiotics versus antibiotics as growth promoters in broiler chicks. In: 13th Eur. Symp. Poultry Nutrition. pp. 135. Blankenberge, Bélgica.
- Schneitz, C., Kiiskinen, T., Toivonen, V.; Nasi, M. (1998). Effect of BROILACT® on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. Poul. Sci. 77: 426-432.
- Schoeni, J.L.; Wong, A.C. (1994). Inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization in chicks by defined competitive exclusion bacteria. Appl. Environm. microb., 60: 1191-1197.
- Shane, S.M. (2001). Mannan oligosaccharides in poultry nutrition: mechanisms and benefits. In: T.P. Lyons and K.A. Jacques (Ed), Science and technology in the feed industry. pp. 65- 77. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Siegel, P.B.; Larsen, S.T.; Emmerson, D.A.; Geraert, P.A.; Picard, M. (2000). Feeding regimen, dietary vitamin E and genotype influences on immunological and production traits of broilers. J. Appl. Poultry Res., 9:269-278.
- Sijtsma, S.R.; Rombout, J.H.W.M.; Dohmen, M.J.W; West, C.E.; van der Zijpp, A.J. (1991). Effect of vitamin A deficiency on the activity of macrophages in Newcastle disease virus-infected chickens. Vet. Immunol. and Immunopathol., 27:17-27.
- Sijtsma, S.R.; Rombout, J.H.W.M.; West, C.E.; van der Zijpp, A.J. (1990). Vitamin A deficiency impairs cytotoxic T lymphocyte activity in Newcastle disease virus-infected chickens. Vet. Immunol. and Immunopathol., 26: 191-201.
- Simon, O.; Jadamus, A. (2002). Probiotics and prebiotics. Proc. 11<sup>th</sup> Eur. Poultry Conf., Bremen (Germany) July 2002, CD-Rom.
- Sissons, J.W. (1989). Potential of probiotic organisms to prevent diarrhea and promote digestion in farm animals: a review. J. Food Agr. Sci. 49: 1-13.
- Sklan, D.; Melamed, D.; Friedman, A. (1995). The effect of varying dietary concentrations of vitamin A on immune response in the turkey. Brit. Poultry Sci. 36: 385-392.
- Sklan, D.; Melamed, D.; Friedman, A.. (1994). The effect of varying levels of dietary vitamin A on immune response in the chick. Poultry Sci. 73: 843-847.
- Spring, P. (2000). Yeast's secret weapon aids animal production. Feed Mix Special 2000: 32 – 34.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K.A. and Newman, K.E. (2000). The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. Poul. Sci. 79: 209-211.
- Stavric, S.; D'Aoust, J.Y. (1993). Undefined and defined bacterial preparations for the competitive exclusion of *Salmonella* in poultry - A review. Journal of Food Protection 56: 173-180.
- Stern, N.J. (1995). Potentials for improved broiler production and enhanced food safety through direct-fed microbials. In: Proc. Maryland Nutr. Conf. for feed manufacturers. pp. 30-36. University of Maryland.
- Sun, X.; Novak, C.; McElroy, A.; Sefton, T. (2004). The use of a drug free feeding program to maintain performance of broiler chickens from 0 to 49 days of age. Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, CD-Rom.
- Taranu, I.; Criste, R.D.; Burlacu, R.; Olteanu, M.; Burlacu, G. (1995). Influence of vitamin and mineral nutrition and of low ambiental temperature on broiler performance and quality of body composition. XII Eur. Symp. on Poultry Meat Quality, Zaragoza, pp. 83-90.
- Tengerdy, R.P. (1975). Vitamin E or Vitamin A protects chickens against *E. coli* infection. Poultry Sci. 54: 1292-1296.
- Tengerdy, R.P.; Lanceterang, N.G.; Nockels, C.E. (1990). The effects of beta-carotene on disease protection and humoral immunity in the chicken. Avian Dis., 34:848.
- Tengerdy, R.P.; Nockels, C.F. (1975). Vitamin E or Vitamin A protects chickens against *E. coli* infection. Poultry Sci. 54: 1292-1296.

- Thompson, J.L.; Hinton, M. (1997). Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on *Salmonella* in the crop. Br. Poult. Sci. 38: 59-65.
- Van Campenhout, L.; Van Hemel, J.; Vanderkerckhove, J.; Mollen, K.; Sas, B. (2001). Performance of an alternative to antibiotics in broilers with high intestinal counts of *Clostridium perfringens*. Proc. 13<sup>th</sup> Eur. Symp. Poult. Nutr., Oct 2001, Blankenberge, Belgium, pp. 127-128.
- Van de Broek, G. (1999). Effect of antimicrobials versus organic acids on enterobacterial development in drinking water for broilers In: 12th Eur. Symp. on Poultry Nutrition, p. 135. Veldhoven, The Netherlands.
- Van Immerseel, F.; Foevez, V.; de Buck, J.; Pasmans, F.; Martel, A.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. ((2004). Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion after infection with *Salmonella Enteritidis* in young chickens. Poultry Sci., 83:69-74.
- Van Niekerk, T.; Garber, T.K.; Dunnington, E.A.; Gross, W.B.; Siegel, P.B. (1989). Response of White Leghorn chicks fed ascorbic acid and challenged with *Escherichia coli* or corticosterone. Poultry Sci., 68: 1631-1636.
- Vilá, B.; Fontgibell, A.; Picaud, T.; Peris, S.; Recoquillay, F.; Calafat, F. (2004). Efecto del uso de ácidos orgánicos y extractos de plantas, solos o en combinación, sobre las variables productivas en pollos broilers. Memoria XLI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Barcelona, pp. 145-149.
- Villaverde, C.; Cortinas, L.; Barroeta, A.C. (2001). Alternativas a los antibióticos en aves. Documento policopiado.
- Vukic, V. M.; Wenk, C. (1996). Influence of *Trichoderma viridae* enzyme complex on nutrient utilization and performance of laying hens in diets with and without antibiotic supplementation. Poult. Sci. 75: 551-555.
- Waldroup, A., Kaniawato, S.; Mauromoustakos, A. (1995). Performance characteristics and microbiological aspects of broiler fed diets supplemented with organic acids. J. Food Prot. 58: 482-489.
- Wenk, C. (2002). Herbs, botanicals and other related substances. Proc. 11<sup>th</sup> Eur. Poultry Conf., Bremen (Germany) Julyt 2002, CD-Rom.
- Wettstein, V.D., Mikhaylenko, G., Froseth, J.A.A.; Kannangara, C.G. (2000). Improved barley broiler feed with transgenic malt containing heat-stable (1,3-1,4)- $\beta$ -glucanase. Proc. Nat. Acad. Sci. 97: 13512- 13517.
- Whitehead, C.C. (1999). The impact of vitamins on health and performance in fowls. Proc. 12<sup>th</sup> Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Veldhoven, pp. 73-82.
- Williams, P. and Losa, R. (2001). The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. World Poultry, 17(4):14-15.
- Williams, P.G.; Mitsch, P.; Köhler, B.; Gabler, C. and Losa, R. (2003). Crina poultry blend reduces colonization and proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestine and faeces of broiler chickens. Poultry Sci., 82 (Suppl. 1):117-118.
- Yeo, J. and Kim, K.I. (1997). Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult. Sci. 76: 381-385.

## LEGISLACIÓN

- Directiva del Consejo 70/524/CEE sobre aditivos en piensos. D.O.C.E. L 270, 14/12/70, texto consolidado 1970L 0524 publicado en DOCE 31/3/2003.
- Directiva de la Comisión 2001/79/EC, que fija las guías para la evaluación de aditivos en nutrición animal. D.O.C.E. L 267/1, DOCE 6/10/2001
- Reglamento del Consejo y Parlamento Europeo EC/1831/2003, sobre aditivos de uso en producción animal. DOCE L 286/29, 18/10/2003.
- Reglamento del Consejo y Parlamento Europeo EC/378/2005, que establece normas detalladas de aplicación del Rgto. EC/1831/2003 para los laboratorios de referencia comunitarios. DOCE L 059, 5/3/2005.
- Recomendación de la Comisión 2005/187/CE, relativa al programa coordinado de controles en el ámbito de la alimentación animal. DOCE L 62/22, 9/3/2005.
- Lista de aditivos autorizados [http://www.europa.eu.int/comm/food/animalnutrition/feedadditives/list\\_additives.pdf](http://www.europa.eu.int/comm/food/animalnutrition/feedadditives/list_additives.pdf).