

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS, SIMBIÓTICOS Y SU USO EN
LA PRODUCCIÓN ANIMAL**

POR:

Gabriel Martínez Mayor

MONOGRAFIA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**



**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS, SIMBIÓTICOS Y SU USO EN
LA PRODUCCIÓN ANIMAL**

POR:

Gabriel Martínez Mayor

MONOGRAFIA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2010

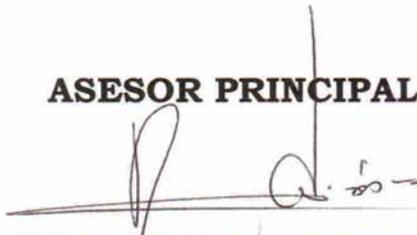
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**

MONOGRAFIA

**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS, SIMBIÓTICOS Y SU USO EN
LA PRODUCCIÓN ANIMAL**

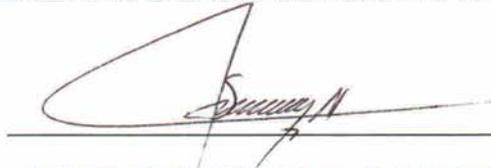
APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

ASESOR PRINCIPAL



MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



MVZ. RODRIGO I. SIMON ALONSO

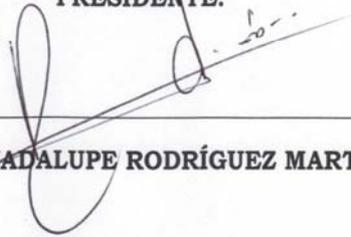
Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal ▶

**PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS, SIMBIÓTICOS Y SU USO EN
LA PRODUCCION ANIMAL**

MONOGRAFIA ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL
COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA Y APROBADA COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

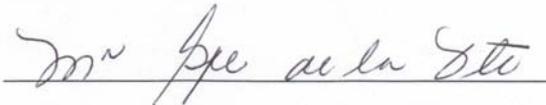
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE:



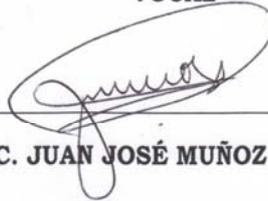
MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



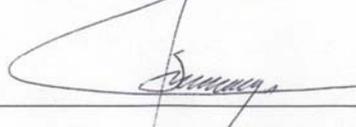
MC. Ma. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL



MC. JUAN JOSÉ MUÑOZ VARELA

VOCAL SUPLENTE



MVZ. RODRIGO I. SIMON ALONSO

AGRADECIMIENTOS

LE AGRADESCO A LA VIDA POR DARMEN LA OPORTUNIDAD DE SER ALGUIEN TAMBIEN LE AGRADESCO A TODOS MIS FAMILIARES QUE ME AYUDARON A CUMPLIR MI SUEÑO SER UN MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA EN ESPECIAL AL DR.JAVIER MAYOR SIMON QUIEN FUERA MI INSPIRACION Y SOBRE TODO MI AMIGO INCONDICIONAL A MIS PADRES EL SR.HILARIO TREJO JUAREZ Y LA SRA.ANGELINA MAYOR SIMON QUE CON SU SACRIFICIO Y ESFUERZO UNA VEZ MAS TRIUNFE EN LA VIDA.

DEDICATORIAS

A MIS ABUELOS POR TODO EL ESFUERZO HECHO DURANTE MI ESTANCIA EN LA UAAAN-UL . A MIS HIJAS FERNANDA Y MAYTE QUE SON MI INSPIRACION PARA SEGUIR ADELANTE A MI COMPAÑERA INCONDICIONAL YAJAHIRA Y MUY EN ESPECIAL A LA SR.CECILIA BAUTISTA RAMIREZ Y AL DR.JAVIER MAYOR SIMON QUIENES FUERON MI INSPIRACION Y A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON EN MI DESARROLLO .AL MVZ JOSE GUADALUPE RODRIGEZ POR EL APOYO BRINDADO A MI Y A MI TRABAJO.

INDICE

DEDICATORIAS	-i-
AGRADECIMIENTOS	-i-
INDICE	li
RESUMEN	-iii-
I. INTRODUCCION	1
II.- HISTORIA	2
III.- DEFINICION	4
3. 1.-Probioticos	5
3. 2.-Prebióticos	6
3. 2.-Simbióticos	8
IV.- CARACTERISTICAS PARA SER CONSIDERADO COMO PROBIÓTICO	8
V.- LA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL	10
VI.- EFECTOS BENÉFICOS QUE PROVEN LOS PROBIÓTICOS	13
6.1.- Mecanismos de Acción	13
6.1.1.- Refuerzo de la Barrera Gastrointestinal	13
6.1.2.- Supresión de la Inflamación Intestinal	14
6.1.4.- Exclusión Competitiva	15
6.1.5.- Producción de Bacteriocinas	17
6.1.6.- Adyuvantes del Metabolismo	20
6.1.7.- Efectos sobre el Sistema Inmunitario	21
VII.- RESPUESTA DEL SISTEMA INMUNE	24
7.1.- Mecanismos por los cuales los alimentos influyen en las funciones inmunes	26
7.2.- Propiedades deseables de un suplemento dietético usado como Probiótico	29
7.3.- Eficiencia en la prevención y tratamiento de las enfermedades	29
VIII.- BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS	31
8.1.- Genero <i>Lactobacillus</i>	32
8.2.- El yogurt y su contenido de BAL	32
8.3.- Componentes bacteriales de las BAL encontradas en el yogurt	33
8.4.- Componentes NO bacteriales de las BAL encontradas en yogurt	34
IX.- USO DE PROBIÓTICOS EN PRODUCCION ANIMAL	35
X.- BIBLIOGRAFIA	40

RESUMEN

El uso de los probióticos, prebióticos y simbióticos está ampliamente documentado, el uso de estos en la producción animal muestra resultados en algunas veces contradictorios, sin embargo en la mayor parte de las investigaciones tiene resultados beneficiosos, Los probióticos han demostrado tener efectos beneficiosos sobre la salud del huésped, estos microorganismos, como bacterias o levaduras que pueden añadirse a los alimentos con el propósito de regular la flora intestinal del huésped. Una preparación microbiana que contiene células vivas o muertas, incluidos sus metabolitos, los cuales tienen la intención de proveer el balance microbiano y enzimático de la superficie mediante mecanismos que estimulan el sistema inmune. El ecosistema microbiano del aparato digestivo actúa sobre numerosas propiedades fisiológicas, sobre todo, en lo que se refiere al proceso de absorción a nivel intestinal. La microflora interviene aumentando el volumen de los compartimientos digestivos, la superficie intestinal de absorción, las dimensiones de las microvellosidades y su renovación celular, y el tránsito digestivo y la motilidad intestinal. Los beneficios de la población microbiana en el intestino de los animales se debe en gran parte a la fermentación de los sustratos alimenticios para producir ácidos grasos volátiles (AGV) y vitaminas del complejo B que son absorbidas por el animal hospedador, pero la población intestinal microbiana nativa también estimula el sistema inmune que puede volver a producir la colonización de patógenos y enfermedades posteriores.

Palabras clave: probióticos, prebióticos, simbióticos, producción, salud animal

I.- INTRODUCCIÓN

La utilidad de los probióticos fue registrada 6.000 años atrás en las tablas Sumerias desde la propia transformación de la leche en queso por medio de la acción de bacterias **(Mennickent and Green, 2009)**. En efecto, en la versión Persa del Antiguo Testamento (Génesis 18:8) refiere que "Abraham debía su longevidad al consumo de leche agria", refiriéndose a las propiedades saludables relativas a microorganismos andvivos en los alimentos, las bacterias del ácido láctico en particular. En el 76 a. c. el historiador romano Plinio recomienda la administración de productos lácteos fermentados para el tratamiento de gastroenteritis **(Schrezemmeir and Devrese, 2001)**. Los probióticos han demostrado tener efectos beneficiosos sobre la salud del huésped, estos microorganismos, como bacterias o levaduras que pueden añadirse a los alimentos con el propósito de regular la flora intestinal del huésped. terapéuticamente se han usado en el tratamiento de la diarrea, como profiácico en humanos y animales para reducir al mínimo el daño en la microflora intestinal asociada con antibioterapia o gastroenteritis del viajero. Los mecanismos no se conocen, pero podrían deberse a la capacidad de los probióticos para actuar como reguladores de la microflora intestinal como fuente de enzimas digestivas y/o factores estimulantes del sistema inmune. Este es el razonamiento detrás del uso de los probióticos en la alimentación de los animales de granja, es decir, para mejorar su rendimiento por causa de estrés (concentración altas de animales, destete precoz o rápido crecimiento) asociado a la cría moderna **(Bioarge et al; 1998)**. La importancia de los probióticos en la

alimentación de los animales de granja se basa en las propiedades que se le atribuyen para mejorar la eficiencia en la conversión alimenticia y como promotores de crecimiento. El resultado del estrés que sufren a temprana edad es debido a la contaminación ambiental de bacterias patógenas y no patógenas. De esta forma se crea una exclusión competitiva que determina el establecimiento de microorganismos y estos, una vez instalados, generan un ambiente mediante la producción de metabolitos que resultan tóxicos para el organismo competente. Esta situación afecta directamente al rendimiento de los animales de granja **(Rosmin; et al., 2004)**.

II.- HISTORIA

Hace un siglo, Elie Metchnikoff (científico ruso, premio Nobel en 1908, y profesor del Instituto Pasteur en Paris) postuló que las bacterias ácido lácticas (BAL) ofrecían beneficios a la salud que llevaban a la longevidad. Él observó que los lactobacilos transformaban la lactosa en ácido láctico, y que dicha acidez confería un ambiente hostil para las bacterias patógenas. Sugirió que la “autointoxicación intestinal” y el envejecimiento resultante podrían suprimirse modificando la microbiota intestinal y utilizando microbios productores de sustancias tóxicas que surgen de la digestión de proteínas, entre las que se encuentran fenoles, indoles, y amoníaco. Desarrolló entonces una dieta con leche fermentada por la bacteria, a la que denominó “bacilo búlgaro” **(Mennickent and Green, 2009; Guarner et al., 2008)**.

En 1965, Lilly y Stilwell utilizaron por primera vez el término

“probiótico” para representar a “sustancias secretadas por un organismo y capaces de estimular el crecimiento de otro” **(Mennickent and Green, 2009)**, en contraposición al término “antibiótico”, entendido como cualquier compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos **(Amores et al., 2004)**.

En 1974, Parker describió los probióticos como “organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal” **(Mennickent and Green, 2009; Amores et al., 2004)**. Quince años después, Fuller postuló que los probióticos eran “suplementos microbianos que influyen beneficiosamente en el huésped animal mejorando su balance”. Tiempo después, Salminen definió los probióticos como “alimentos que contienen bacterias vivas las cuales son beneficiosas para la salud” **(Mennickent and Green, 2009)**. Sin embargo, el concepto, que parecía adecuado, no era totalmente correcto, ya que probióticos son todas las sustancias de carácter nutritivo y no sólo determinados microorganismos. Henry Tissier (del Instituto Pasteur) aisló por primera vez una *Bifidobacteria* de un lactante alimentado a pecho, a la que denominó *Bacillus bifidus communis*. Tissier postulaba que las bifidobacterias desplazarían a las bacterias proteolíticas que provocan la diarrea y recomendó la administración de bifidobacteria a lactantes que padecían de este síntoma **(Guarner et al., 2008)**.

En 1917, antes del descubrimiento de Alexander Fleming de la penicilina, el profesor alemán Alfred Nissle aisló una cepa no patógena de *Escherichia coli* de las heces de un soldado de la Primera Guerra Mundial

que no había desarrollado enterocolitis durante un brote grave de shigellosis. Los trastornos del tracto intestinal frecuentemente eran tratados con bacterias no patógenas viables, para cambiar o reemplazar la microflora intestinal. La cepa de *Escherichia coli* de Nissle 1917 es uno de los pocos ejemplos de un probiótico no BAL (**Guarner et al., 2008**). Por otra parte, la introducción del término “prebiótico” para referirse a los ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped por una estimulación selectiva del crecimiento o de la actividad de una o un limitado grupo de bacterias en el colon. Demostrada para *Bifidobacterium*, que puede ser promovido por la ingestión de sustancias tales como fructooligosacáridos. Igual que con los probióticos, el consumo regular de prebióticos es determinante para lograr un efecto beneficioso. Es posible que muchas sustancias que muestran esta actividad puedan ser incorporadas en una amplia gama de alimentos procesados, generando con esto el desarrollo de productos que combinan bacterias probióticas y sustratos prebióticos, los cuales han sido denominados productos “simbióticos” (**Amores et al., 2004**).

III.- DEFINICIÓN

A medida que la investigación en probióticos fue avanzando y confirmando la validez de los postulados descritos, la United Nations Food and Agricultura Organization y la World Health Organization (Organización mundial de la Salud) (FAO/WHO) en el 2001, formaron un Comité de Expertos en la materia y se llegó a un consenso en relación a la

definición de probióticos:

3.1.-PROBIÓTICOS

El término “probiótico” fue introducido por primera vez en 1965 por Lilly y Stillwell; a diferencia de los antibióticos, se definió al probiótico como aquel factor de origen microbiológico que estimula el crecimiento de otros organismos. En 1989, Roy Fuller enfatizó el requisito de viabilidad para los probióticos e introdujo la idea de que tienen un efecto beneficioso para el huésped **(Guarner et al., 2008)**. Probiótico es una palabra de origen griego que significa "a favor de la vida". De acuerdo a la definición adoptada por la FAO/WHO, mencionada anteriormente, los probióticos son “microorganismos vivos los cuales, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren efectos benéficos en la salud del huésped”. Considerados como reguladores biológicos **(Mennickent and Green, 2009)**, si bien la definición de los límites antes mencionados el uso del probiótico término a productos que contengan organismos vivos, el concepto de probiótico ha en los últimos tiempos, y quizá indebidamente, se ha ampliado para incluir el uso de organismos muertos o incluso ADN bacteriano **(Quigley., 2007)**. Una preparación microbial que contiene células vivas o muertas, incluidos sus metabolitos, los cuales tienen la intención de proveer el balance microbial y enzimático de la superficie mediante mecanismos que estimulan el sistema inmune **(Jones,2002)**. Los probióticos son microorganismos vivos que, al administrarse en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud al huésped **(Guarner et al., 2008)**. Bacterias exógenas que colonizan y modulan la

composición de el ecosistema natural **(Choudhar; et al., 2008)**. El término “probiótico” no debe confundirse con “prebiótico”, que es un compuesto que estimula la acción de microorganismos comensales, o con el término “**simbiótico**”, que se refiere a una asociación de probióticos y prebióticos **(Mennickent and Green, 2009)**. Ejemplos: yogurt, vegetales fermentables, leche acida, bioyogurt, yakult **(Jones, 2002)**. La mayoría de los estudios clínicos sobre probióticos ha sido realizado con objetivo de prevención o tratamiento de disturbios de la microflora gastrointestinal. Sin embargo, el incremento del desconocimiento de la importancia de la microflora ha resultado en un en la estimación de los efectos benéficos de los probióticos en nuevas áreas, tales como la prevención de otitis aguda y secretoria media, y faringotonsilitis estreptococal en niños **(022)**.

3.2.-PREBIÓTICOS

El efecto de los probióticos puede ser potenciado mediante la inclusión adicional de ingredientes no digeribles de los alimentos, denominados prebióticos **(Castro and Rodríguez, 2005)**, que son sustancias no digeribles que brindan un efecto fisiológico beneficioso al huésped, estimulando selectivamente el crecimiento favorable o la actividad de un número limitado de bacterias autóctonas **(Guarner et al., 2008; Jones, 2002)**. Estos afectan benéficamente al huésped mediante una estimulación selectiva del crecimiento y/o la actividad de una o un limitado grupo de bacterias en el colon **(Choudhar; et al., 2008)**. Los prebióticos estimulan el crecimiento preferencial de un número limitado de la microbiota comensal que reside en el colon, en especial, aunque no

exclusivamente, los lactobacilos y las bifidobacterias. La potencia de este estímulo, en parte, depende tanto de la densidad como de la línea base de las poblaciones de bifidobacterias y/o lactobacilos y el pH luminal. Los oligosacáridos de la leche materna se consideran los proteotipos de prebióticos ya que facilitan el crecimiento preferencial de bifidobacterias y lactobacilos en el colon en los recién nacidos amamantados exclusivamente **(Quigley., 2007)**. Los carbohidratos de cadena corta como los manano-oligosacáridos (MOS) y los fructo-oligosacáridos (FOS) son componentes de cultivos de levaduras y de plantas, respectivamente. Los prebióticos sirven como alimento (substrato) para que los organismos probióticos estimulen su crecimiento, proliferación y exclusión competitiva de patógenos. Los MOS pueden ligar lectinas a sitios receptores de las bacterias patógenas bloqueando de este modo su implantación sobre las membranas de la célula. Estudios en cerdos y pavos han mostrado que la IgG y la IgA se incrementan significativamente después de consumir oligosacáridos, lo cual mejora la respuesta inmune. La inclusión de MOS y FOS en la dieta tiene como objetivo mantener una microbiota intestinal benéfica dominada por las bacterias que promueven la salud, como por ejemplo, las bifidobacterias. Éstas son importantes en periodos de estrés como el postdestete en mamíferos **(Castro and Rodríguez, 2005)** **(Choudhar; et al., 2008)**. Al igual que los probióticos, los prebióticos se encuentran en diferentes presentaciones y marcas comerciales, conocidas en la Comunidad Económica Europea, como Elix'or® (galatooligosacáridos en polvo), Frutafit® HD (inulina en polvo), Lactulosa (lactulosa en polvo), Raftilosa® P95 (fructooligosacáridos en polvo), Solufiber® (goma guar

hidrolizada en polvo), además de **(Castro and Rodríguez, 2005)**, inulina, polisacáridos de soya, isomaltosa-oligosacáridos, galacto-oligosacáridos, lactulosa, rafinosa, sorbitol, xilitol, lactosucrosa **(Jones, 2002)**. En general los prebióticos deben cumplir tres condiciones para que tengan una acción efectiva: 1. Deben permanecer estables bajo las condiciones ácidas del estómago y las secreciones del intestino delgado. 2. Deben transferirse intactos al colon. 3. Deben tener un metabolismo selectivo **(Castro and Rodríguez, 2005)**.

3.3.-SIMBIÓTICOS

Productos que contienen tanto probióticos como prebióticos **(Guarner et al., 2008)**. Una combinación de probióticos y prebióticos uno se denomina simbiótico **(Quigley., 2007)**.

IV.-CARACTERÍSTICAS PARA SER CONSIDERADO COMO PROBIÓTICO:

1. Ser habitante normal del tracto gastrointestinal humano.
2. No ser patógeno, ni tóxico.
3. Tener un tiempo corto de reproducción
4. Ser estables al contacto con bilis, ácido, enzimas y oxígeno.
5. Tener habilidad para adherirse a la mucosa intestinal.
6. Mostrar potencial de colonización en el tracto gastrointestinal humano.
7. Producir sustancias antimicrobianas **(Figueroa; et al., 2008)**.

Además de:

Sinergismo entre los cultivos de microorganismos y los iniciadores de la fermentación (fermentos, cultivos iniciadores), para obtener un producto fermentado con óptimas características sensoriales.

Los microorganismos probióticos deben permanecer viables y activos en el alimento y durante el tránsito gastrointestinal, para garantizar su potencial efecto benéfico en el huésped. En este aspecto, son importantes el pH derivado del proceso de fermentación, el oxígeno disuelto (especialmente para las bifidobacterias), el antagonismo entre especies, la composición química del medio de cultivo, la concentración de azúcares, las prácticas de inoculación del cultivo prebiótico, la temperatura y duración de la fermentación, y las condiciones de almacenamiento del producto **(Mennickent and Green, 2009)**. Existen resultados contradictorios, sin embargo, esto depende de la cepa del microorganismo seleccionado, la dosis, el método de preparación y la condición de el animal son los responsables de dichas discrepancias. El número de microorganismos viables en los probióticos han sido considerados como un factor crítico que afecta a los probióticos. Teóricamente, los probióticos deben de estar vivos para tener efectos benéficos, tales como producción de sustancias antimicrobiales que compitan por los sitios de colonización y los nutrientes. Además, los probióticos inactivados han mostrado una buena respuesta inmune e incrementa la resistencia a los patógenos. Los probióticos no viables tienen una prolongado periodo de vida, reducen el costo de transporte y la diferencia entre prebióticos viables y no viables. Sin embargo, el desempeño de los prebióticos no viables pueden afectarse por diferentes

métodos de inactivación, incluidos el calor, la γ -radiación, la luz ultravioleta y la influencia dependiente de las especies. Por ejemplo, la adhesión de *Propionibacterium freudenreichii* incrementa por el calor pero inhiben la adhesión de las especies de *Lactobacillus*. Por lo tanto, la selección óptima de la cepa y el método de inactivación es importante en la preparación de probióticos inactivados que proporcionen efectos benéficos **(Huang, 2004)**. En términos generales, un grupo de requisitos han sido identificados como importantes propiedades de los lactobacilos para ser eficaz organismos probióticos. Estos incluyen la capacidad de (i) se adhieren a las células, (ii) excluir o reducir la adherencia patógena, (iii) persisten y se multiplican, (iv) producen ácidos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas antagonistas al crecimiento de patógenos, (v) microbicidas vaginales resistentes, incluyendo los espermicidas; (vi) seguro y por lo tanto no invasivo, no cancerígeno, y no patógeno y (vii) formar una flora normal y equilibrada **(Reid, 1999)**.

V.- LA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL

El ecosistema microbiano del aparato digestivo actúa sobre numerosas propiedades fisiológicas, sobre todo, en lo que se refiere al proceso de absorción a nivel intestinal. La microflora interviene aumentando el volumen de los compartimentos digestivos, la superficie intestinal de absorción, las dimensiones de las microvellosidades y su renovación celular, y el tránsito digestivo y la motilidad intestinal **(Cabrera and Fadruga, 2005)**.

La microflora intestinal en un animal es la primera barrera de

defensa en un hospedero, el desbalance de esta puede ocasionar enfermedades por la colonización de patógenos gastrointestinales **(Huang, 2004)**.

El tracto gastrointestinal de los vertebrados, incluidos el de los humanos, es la casa de una vasta colección de microbios, en su mayoría bacterias, las cuales se refieren como la microbiota intestinal. Es claro que la microbiota del tracto gastrointestinal tiene efectos de influencia considerable en el hospedero bioquímica, fisiológica e inmunológicamente y de baja resistencia a las infecciones. Existen variaciones físicas y químicas en el tracto TGI en los diferentes compartimientos, específicamente las comunidades microbiota se encuentran en estomago, ID e IG. En animales monogástricos, el número de bacterias que residen en el IG (colon), tienen una densidad de alrededor de 10^{11} microbios por gramo de contenido luminal. La población microbiana en estomago es limitada dado el pH (es menor a pH 2). La población y diversidad incrementan la toxicidad por las sales biliares y es relativamente menor la digestión. La densidad de población y la diversidad incrementa en el ID (10^3 microbios por ml de contenido luminal en el duodeno), en el ileon (arriba de 10^8). En contraste a los humanos, sin embargo, algunas especies de animales tienen relativamente un gran número de bacterias (principalmente lactobacillus) en el ID **(Walter, 2008)**. Las cantidades de bacterias ácido lácticas en el intestino pueden suprimir el crecimiento de bacterias patógenas, las cuales contribuyen a reducir las infecciones y los efectos cancerígenos **(Nikbolin and Kyu, 2000)**.

Algunas de las mejores características de los probióticos se han

observado al adherirse fuertemente al epitelio intestinal en estudios *in vivo* e *in vitro*. Muchos de estos son resistentes a la digestión por el ácido gástrico y las sales biliares y se encuentran en el intestino intactos y se muestran como no patógenos. Muchos de los probióticos son cepas de *Bifidobacterium* o especies de *Lactobacillus*. Algunos son derivados de la microbiota intestinal saludable humana y otros son cepas no humanas usadas en la fermentación de productos lácteos. Los géneros de bacterias tales como *Streptococcus*, *Bacillus*, y *Enterococcus* también son usados como probióticos, pero se debe considerar que algunos de ellos pueden ser consideradas como especies patógenas, particularmente *Enterococcus*. **(Boyle et al., 2006)**. El intestino grueso es la porción más fuertemente colonizada en el tracto digestivo, con una cantidad de bacterias por arriba de 10^{12} por cada gramo de contenido. A través del proceso de fermentación, la colonia bacteriana está disponible y produce un rango enorme de componentes que tienen efectos positivos y negativos en la fisiología y tienen influencia en otros sistemas. En esta instancia, la colonia bacteriana produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), para el complejo metabolismo de carbohidratos y proteínas. Es por lo tanto, de mucho interés en la manipulación de la composición de la flora intestinal. Debido a un incremento en el número y actividad de los grupos bacterianos (tales como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*) que pueden tener propiedades promotorias de salud deseables. **(Gibson and Roberfrod, 1994)**.

TABLE 3. *Lactobacillus* species commonly detected in human feces, saliva, and food

Species	Feces ^a	Oral cavity	Food
<i>L. acidophilus</i>	+	+	
<i>L. crispatus</i>	+(P)	+	
<i>L. gasseri</i>	+(P)	+	
<i>L. johnsonii</i>	+		+
<i>L. salivarius</i>	+(P)	+	
<i>L. ruminis</i>	+(P)		
<i>L. casei</i>	+	+	+
<i>L. paracasei</i>	+	+	+
<i>L. rhamnosus</i>	+	+	+
<i>L. plantarum</i>	+	+	+
<i>L. reuteri</i>	+(P)		(+) ^b
<i>L. fermentum</i>	+	+	+
<i>L. brevis</i>	+	+	+
<i>L. delbrueckii</i>	+		+
<i>L. sakei</i>	+		+
<i>L. vaginalis</i>	+	+	
<i>L. curvatus</i>	+		+

^a P indicates species that were reported to persist in some human subjects (62, 72, 96).

^b *L. reuteri* can be found regularly only in sourdough and in other fermented cereals such as fermented oatmeal. Fecal isolates of these species are therefore unlikely to originate from food.

Figura 1.- Donde se observan las diversas especies de lactobacillus detectadas en humanos en las heces saliva y alimento, tomado de **(Walter, 2008)**.

VI.-EFECTOS BENEFICOS QUE PROVEN LOS PROBIOTICOS:

1. Estimulación de la microflora en el tracto digestivo por producción de algunos antibióticos tales como acidopilina, lactonina, acidilina etc.
2. Supresión de microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal por competencia del medio de vida y nutrientes disponibles aumentando la absorción de nutrientes en el intestino.
3. Estimulación del sistema debido a producción de inmunoglobulinas (α - globulinas), detoxificación, contribución a digestión por medio de la secreción de enzimas **(Gorgulu et al., 2003)**.

6.1.-MECANISMOS DE ACCION

6.1.1.-REFUERZO DE LA BARRERA GASTROINTESTINAL

Las bacterias intestinales contribuyen a la correcta permeabilidad de la mucosa intestinal. Determinados microorganismos perjudiciales

incrementan la permeabilidad y favorecen el paso de bacterias y macromoléculas de la dieta a través de la mucosa. Diferentes probióticos pueden prevenir y reparar dicho daño, lo cual ha sido constatado *in vitro* en cultivos celulares e *in vivo* utilizando animales de experimentación **(López-Brea and Domingo, 2007)**. Un reciente estudio *in vitro* ha demostrado que algunos probióticos producen metabolitos que modifican directamente la permeabilidad epitelial y refuerzan la integridad de la barrera. Otros estudios, tanto *in vitro* como *in vivo* han mostrado este mecanismo y refuerzan la hipótesis de que los probióticos pueden restaurar una permeabilidad epitelial perturbada y fortalece la barrera intestinal **(Huang, 2004)**.

6.1.2.-SUPRESIÓN DE LA INFLAMACIÓN INTESTINAL

Las enfermedades inflamatorias graves que afectan al tracto gastrointestinal se caracterizan por su fluctuación entre periodos de enfermedad activa y latente. La etiología de este tipo de enfermedades se desconoce en gran medida, y aunque los factores genéticos desempeñan un papel significativo, la composición de la microbiota tiene gran importancia. Por ejemplo, la composición de la flora intestinal durante la colitis ulcerosa activa muestra menor número de lactobacilos que en la fase de remisión. En este sentido, ciertas cepas de lactobacilos y bifidobacterias atenúan la colitis en modelos animales y reducen la producción de citocinas proinflamatorias **(López-Brea and Domingo, 2007)**.

6.1.3.-EXCLUSION COMPETITIVA

Esta actividad antipatogena ha sido descrita como “antagonismo bacteriano”, “interferencia bacteriana” o “exclusión competitiva –EC–” . La EC incluye la adición de cultivos bacterianos no patógenos con cepas simples o múltiples, en el tracto intestinal en alimentos animales, lo que reduce la colonización y el decremento de la población de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal –TGI- lo que sugiere que existen varios modos de acción que eliminan las bacterias patógenas, las que incluyen: (1) competición directa o indirecta de nutrientes, (2) competición por sitios físicos de unión, (3) producción de compuestos antimicrobiales (incluidos los AGVs), (4) elevación de la actividad del sistema inmunitario y (5) una interacción sinérgica entre dos o mas actividades **(Callaway et al., 2008)**.

La exclusión competitiva de los probióticos sobre patógenos tales como los *Bacillus* resulta de uno o mas modos de acción, en las que se incluyen la exclusión inmune, la competencia por sitios de acción y la producción de agentes antimicrobiales, tales como las bacteriocinas. El uso de agentes de exclusión competitiva en la industria avícola ha sido ampliamente descrita en la prevención de varias enfermedades causadas por diferentes patógenos aviares, incluidos bacterias zoonóticas **(Barbosa et al., 2005)**. Los preparados probióticos para uso en animales son típicamente compuesto de distintas especies o mezclas de bacterias ácido lácticas (BAL) levaduras, o de sus productos finales y no son propias de cada especie, e incluso no necesariamente debieron haber sido aisladas a partir de animales. Los probióticos a menudo caen en las categorías de: (1)

cultivos vivos de bacterias o levaduras, (2) tratamiento térmico (o de otro tipo de inactivación) sobre cultivos de bacterias o levaduras, o (3) productos finales de fermentación de bacterias o levaduras **(Callaway et al., 2008)**.

Los probióticos previenen la desorganización del citoesqueleto celular, mejorando así la función de barrera de la mucosa y previniendo el fallo en la secreción de electrolitos. Especial mención merecen los estudios llevados a cabo en la infección por *Helicobacter pylori*, en los que se han encontrado resultados positivos que están en investigación. Un posible mecanismo de acción podría ser la inhibición de la actividad ureásica del microorganismo **(López-Brea and Domingo, 2007)**. Los microorganismos probióticos compiten con los patógenos no solo por los nutrientes sino también por el espacio físico. Algunas bacterias pueden inhibir la adherencia de los agentes patógenos a los sitios receptores por un mecanismo de obstrucción estérica o de bloqueo específico del receptor, con lo que se produce una prevención de la colonización de microorganismos patógenos por inhibición competitiva en los lugares de adhesión. Por otro lado los probióticos producen numerosas sustancias antimicrobianas específicas como las bacteriocinas, ácidos grasos volátiles de cadena corta, peróxido de hidrógeno y ácidos lácticos (*bifidobacterium*, *lactobacillus*, *streptococcus*), por lo que se reducen el pH luminal; esta reducción se considera el principal mecanismo por el cual las bacterias lácticas inhiben el crecimiento de diferentes bacterias patógenas como *E.coli*, *streptococcus* y *salmonela* **(Huang, 2004)**.

6.1.4.-PRODUCCION DE BACTERIOCINAS

Las bacterias probióticas pueden incrementar la resistencia contra los patógenos intestinales mediante mecanismos antimicrobianos. Estos incluyen la colonización competitiva y la producción de ácidos orgánicos, como los ácidos láctico y acético, bacteriocinas y otros metabolitos primarios como el peróxido de hidrógeno y el dióxido de carbono. La producción de ácidos orgánicos por las bacterias probióticas disminuye el pH intestinal y por lo tanto se inhibe el crecimiento de patógenos. Estos ácidos orgánicos incrementan los movimientos peristálticos, lo que de manera indirecta remueve los patógenos acelerando la velocidad con la que atraviesan el intestino. El peróxido de hidrógeno producido puede funcionar a través del sistema lactoperoxidasa-tiocianato, en el cual el peróxido de hidrógeno oxida el tiocianato para convertirlo en ácido hidrocianico que es perjudicial para los patógenos. El dióxido de carbono y el diacetil sintetizado por las bacterias ácido lácticas inhiben el crecimiento de patógenos. Numerosas bacteriocinas, como acidofilina, lactobacilina, acidolina, lactocidina y lactolina muestran acción antagónica contra los patógenos **(Figueroa; et al., 2008)**. La producción de bacteriocinas por los probióticos, generan sustancias antimicrobianas de carácter fundamentalmente peptídico, producidas por los microorganismos, capaces de inhibir el crecimiento de otros individuos de la misma familia. En un principio esta inhibición afectaba sólo a especies estrechamente relacionadas con la cepa productora, pero en fecha reciente este concepto se ha modificado al encontrar también acción bactericida frente a cepas distanciadas filogenéticamente de la productora. El conocimiento de este tipo de sustancias data ya de hace muchos años,

pero la necesidad de la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos hace que hoy sean un importante campo de investigación. Tradicionalmente, las bacteriocinas producidas por los grampositivos son de pequeño tamaño y estables al calor, y su actividad antimicrobiana está dirigida frente a un espectro bacteriano mayor que el de aquellas bacteriocinas producidas por bacterias gram-negativas. Para su estudio se acepta la clasificación propuesta por en 1996, basada en las características bioquímicas y genéticas. Según este agrupamiento, se pueden dividir en dos grupos:

- Bacteriocinas de clase I o lantibióticos: péptidos pequeños, activos sobre la membrana, que contienen algunos aminoácidos poco comunes, como lantionina, β -metillantionina y dihidroalanina. Estos aminoácidos se generan por la deshidratación de la serina y la treonina con la posterior unión de los átomos de azufre de la cisteína a los dobles enlaces formados por la deshidrogenación. Un ejemplo de lantibiótico es la nisina. Los lantibióticos se subdividen en dos tipos, A y B, de acuerdo con caracteres estructurales; el grupo A son moléculas alargadas con una estructura flexible en solución y el grupo B adopta una estructura más rígida.

- Bacteriocinas de clase II o no lantibióticos: sustancias de peso molecular variable que contienen aminoácidos comunes y se pueden diferenciar en cuatro grupos. Las de clase IIa son péptidos activos frente a *Listeria*; las de clase IIb, formadoras de porinas, están constituidas por dos péptidos necesarios para la actividad antimicrobiana; las de clase IIc, péptidos pequeños, termoestables, necesitan un péptido transportador; y por último, las incluidas en la clase IId se definen como bacteriocinas

circulares. Se ha sugerido una tercera clase de bacteriocinas que incluye enzimas termolábiles que degradan la pared celular, pero está en discusión. El tema de las bacteriocinas producidas por BAL contenidas en la comida fermentada ha sido objeto de estudio durante los últimos 20 años. Se han caracterizado numerosos péptidos y ambos campos (probióticos y bacteriocinas) han atraído la atención de la comunidad científica para hacer frente al problema de las resistencias bacterianas. De hecho, dos lantibióticos (la nisina y la lacticina 3147) se han utilizado para la prevención de la mastitis. El mecanismo de acción de las bacteriocinas es complejo. La mayoría son activas sobre las membranas celulares, destruyendo la integridad de la membrana citoplasmática mediante la formación de poros, lo que aumenta la permeabilidad y provoca la salida al exterior de compuestos intracelulares pequeños, y altera los mecanismos necesarios en la producción de energía y en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, llevando de esta manera a la muerte celular (**López-Brea and Domingo, 2007**).

Bacteriocina	Microorganismo productor	Clase	Nº de aminoácidos
Nisina	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	I	34
Sakacina G	<i>Lactobacillus sakei</i> 2512	IIa	37
Sakacina P	<i>Lactobacillus sakei</i> LTH1673	IIa	43
Curvacina A	<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH1174	IIa	41
Plantaricina E/F/J/K	<i>Lactobacillus plantarum</i> C11	IIb	25-34
Enterocina A	<i>Enterococcus faecium</i>	IIa	47
Enterocina P	<i>Enterococcus faecium</i>	IIa	44
Enterocina Q	<i>Enterococcus faecalis</i>	IIc	34
AS-48	<i>Enterococcus faecalis</i>	IId	70
Citolisina L y S	<i>Enterococcus faecalis</i>	I	38/21

Figura 2.- Donde se observan las diferentes clases de bacteriocinas, así como el microorganismo productor, tomado de (**López-Brea and Domingo, 2007**)

6.1.6.-ADYUVANTES DEL METABOLISMO

El efecto de los probióticos en la digestión de la comida se ha documentado principalmente en animales de granja; sin embargo, en los humanos el dato más significativo es su compensación en aquellos individuos con problemas en el metabolismo de la lactosa. Numerosos estudios han demostrado que estos pacientes digieren mejor dicho azúcar cuando incluyen en su dieta yogur en lugar de leche. Existen dos teorías para explicar este hecho: en primer lugar por el lento vaciamiento gástrico del yogur (en comparación con la leche), lo cual facilitaría la actuación de la actividad lactásica residual en el intestino delgado, y en segundo lugar por la contribución de la flora colónica (estimulada por las bacterias ácido lácticas) en la digestión de la lactosa. Por otro lado, se ha sugerido que los probióticos también estimulan la absorción de agua y electrolitos, de lo que se deduce su utilidad en el tratamiento de las diarreas **(López-Brea and Domingo, 2007)**.

Tabla 1. Probióticos más comúnmente utilizados.				
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. boulardii</i>
<i>B. breve</i>	<i>L. acidophilus</i> Lat 11/83		<i>E. faecium</i>	
<i>B. lactis</i>	<i>L. bulgaricus</i>			
<i>B. longum</i>	<i>L. casei</i>			
	<i>L. casei</i> Shirota			
	<i>L. johnsonii</i> La1			
	<i>L. plantarum</i>			
	<i>L. reuteri</i>			
	<i>L. rhamnosus</i> GG			
	<i>L. salivarius</i>			

Figura 3.- Se muestra los probióticos mas comúnmente utilizados en las diversas preparaciones comerciales, tomado de **(López-Brea and Domingo, 2007)**.

6.1.7.-EFECTOS SOBRE EL SISTEMA INMUNITARIO

La manipulación de la microbiota intestinal vía la administración de probióticos influye en el desarrollo de la respuesta inmune. El mecanismo

exacto de los probióticos sobre la actividad inmunomoduladora no está clara. Sin embargo, se ha observado que al estimular al sistema inmune se logra la producción de citocinas, las cuales juegan un rol importante en la inducción y regulación de la respuesta. La estimulación de células mononucleares sanguíneas humanas con cepas de *Lactobacillus rhamnosus* resultan en la producción de interleucinas 4 (IL-4), IL-6, IL-10, factor de necrosis tumoral alfa y gamma interferón. Otros estudios proveen la evidencia de que se producen citocinas tales como IL-4 y IL-10, que son inducidas también por *Lactobacillus*. Los probióticos, especialmente *Lactobacillus*, ayudan a modular anticuerpos sistémicos. Por lo que la administración de probióticos resulta en la secreción de citocinas y cambios en las células linfáticas en los intestinos de pollos, los cuales pueden aumentar la inmunidad contra **(Haghighi; et al., 2005)**.

Los macrófagos presentan una de las primeras líneas de defensa no específicas contra bacterias y tumores. Los macrófagos matan a las bacterias y las células tumorales a través de varios mecanismos efectores, incluidos la producción de factores solubles tales como el óxido nítrico, peróxido de hidrógeno, y superóxido, los macrófagos pueden también usar un mecanismo de atracción de células tumorales muertas a través de contacto célula-célula. Durante la activación, los macrófagos adquieren la capacidad de unirse a células tumorales. Responden a bacterias y productos bacteriales y son procesados por mecanismos similares a la actividad tumoral. Esto sugiere que el efecto antitumoral de las BAL es debido a el aumento de la actividad de macrófagos **(Nikbolin and Kyu, 2000)**. También se ha demostrado que los probióticos son capaces de

regular la proliferación anticuerpos específicos y no específicos, tanto en humanos como en ratones. Los probióticos también fortalecen la producción de citocina. Aunque todavía no se sabe con exactitud el mecanismo antitumoral de los probióticos, algunos estudios han demostrado la capacidad de cepas probióticas de producir una disminución en las actividades enzimáticas de la β -glucoronidasa y la β -glucosidasa, asociada con la síntesis de procarcinógeno **(Huang, 2004)**.

La modulación del sistema inmunitario es uno de los efectos beneficiosos más comunes del consumo de probióticos. Este efecto puede ser el resultado de factores solubles que alteran la permeabilidad epitelial, inhiben la cascada inflamatoria o bien condicionan la activación-maduración-supervivencia de las células dendríticas. Diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* así lo demuestran. Estos hallazgos abren la puerta a una posible regulación de los probióticos en las respuestas inmunitarias y apuntan a una compleja relación entre el sistema inmunitario del huésped y diferentes compuestos bacterianos, incluyendo DNA cromosómico, componentes de la pared celular y metabolitos bacterianos **(López-Brea and Domingo, 2007)**. Las investigaciones realizadas muestran un aumento de la capacidad fagocítica de las células inmunitarias, además de un incremento en la producción de citocinas tanto *in vivo* como *in vitro*. En su mayoría estas mejoras fueron mediadas por *Lactobacillus spp* **(Martínez et al., 2007)**.

Aunque el yogurt refuerza los mecanismos de defensa en contra de los patógenos, los componentes responsables de estos efectos no han sido bien definidos. El efecto estimulador del yogurt se basa en los

componentes de este. Sin embargo, el mecanismo o mecanismos no están bien determinados. Después de entrar al intestino las BAL pueden activar la respuesta inmune de forma específica y no específica asociada al tejido linfático del intestino y la respuesta del sistema inmune. La inmunogenicidad intestinal bacteriana depende del grado de contacto con el tejido linfático en el lumen intestinal. Por lo tanto, las bacterias muertas son generalmente menos eficientes que las bacterias vivas porque las bacterias muertas son rápidamente eliminadas de la mucosa. Algunos estudios, sin embargo, no muestran diferencias en la inmunogenicidad entre bacterias viables y no viables **(Nikbolin and Kyu, 2000)**.

En el ámbito de la inmunidad humoral se ha descrito un incremento genérico en su actividad, que se constata en los experimentos realizados con *Lactobacillus spp* y con *Bifidobacterium spp*. Sin embargo, respecto de la inmunidad celular, las conclusiones finales difieren enormemente, ya que mientras algunos autores aseguran que su capacidad disminuye, otros afirman que aumenta, y algunos incluso aseveran que no existe ninguna variación significativa en esta área **(Martínez et al., 2007)**. La microflora intestinal puede afectar a las funciones inmunológicas del tracto gastrointestinal. Existen evidencias de que las bacterias intestinales normales e incluso microorganismos administrados directamente vía oral estimulan el sistema inmunitario comparado con animales libres de gérmenes. El *Lactobacilli* apatógeno adherido a enterocitos disminuye la producción de citoquinas inflamatorias. Se ha mostrado que ciertos probióticos de bacterias ácido lácticas pueden estimular a las células asociadas al tejido linfoide intestinal y potenciar la inmunidad sistémica.

También se ha mostrado que las BAL pueden potenciar la respuesta proliferativa celular de las placas de Peyer, estas pueden estimular las células NK (natural killer) e inducir una mayor producción de IFN. Se ha reportado que en aves tratadas con *L.reuteri* exhibieron villi ileales más largos y criptas más profundas, respuesta asociada a un aumento de la función de células T y a un aumento de la producción de anticuerpos Ig M anti-*Salmonella*. Además, se ha indicado que algunos microorganismos probióticos ajenos a la flora intestinal (e.g. *Bacillus*) pueden actuar como antígenos y desencadenar cierta reacción inmunitaria que se traduce en una mayor producción de Ig M e Ig A a nivel intestinal **(099)**. El efecto inmunoestimulador de las BAL también dependen del grado de contacto con los tejidos linfoides. Las BAL pueden sobrevivir en el TGI adhiriéndose a las células epiteliales en las paredes del TGI y pueden unirse a la superficie luminal de las células M. En estudios animales se ha observado que la asociación del tejido linfoides es estimulado por la sobrevivencia de las BAL, resultando en la producción de anticuerpos y citocinas y el incremento de la actividad mitogénica de las placas de peyer y los esplenocitos **(Nikbolin and Kyu, 2000)**.

VII.- RESPUESTA INMUNE

Cuando un antígeno externo penetra en el cuerpo, la interacción celular del sistema inmune es producida. Esta interacción nos puede inducir una respuesta inmune específica o inespecífica, o ambas. La primera respuesta del antígeno tiene una respuesta inmune a través de una respuesta inflamatoria en la cual las células fagocíticas activadas

participan.

La respuesta inflamatoria es caracterizada por una gran infiltración celular, la cual libera mediadores inflamatorios. Este aumento, en la respuesta puede dañar los tejidos. El primer paso en la respuesta inflamatoria es caracterizada por la aparición de neutrófilos en el sitio de lesión que aumenta la fagocitosis y se liberan sustancias quimiotácticas que atraen a los macrófagos que participan en la segundo paso. Los macrófagos tienen función similar a los neutrófilos, pero, también degrada los antígenos, algunos péptidos de este antígenos pueden ser expresados sobre la membrana de los macrófagos. Por esta razón, los macrófagos pueden participar en la respuesta específica inmune. Esta presentación es realizada a través de la asociación de el antígeno con moléculas especiales que están presentes en la superficie: antígenos de histocompatibilidad. Existen dos clases de antígenos leucocitos (HLA): HLA de clase I son expresados en todas las células del cuerpo, y las HLA de calase II son expresadas en las células inmunes y algunas no inmunes, tales como las células epiteliales. La respuesta inmune específica puede producir inmunidad celular mediada por células específica del sistema inmune y producción de anticuerpos. La inmunidad celular tiene gran importancia en el la defensa del hospedero contra tumores. La inducción de una respuesta inmune responde a una necesidad no solamente de una interacción celular, también las citocinas y de moléculas de adhesión. Las citocinas son sustancias producidas por una respuesta inmune o células no inmunes y son activadas por la estimulación del antígeno. Entre las citocinas están las interleucinas (**IL**). Mas de una IL es conocida; esta **IL**

es producida por diferentes precursores entre ellos los linfocitos, los macrófagos, las células endoteliales, epiteliales y células fibroblásticas. Otras citocinas son de factores de crecimiento celular, tales como los factores de crecimiento de granulocitos, factores estimuladores de la colonia de macrófagos, factores de crecimiento de fibroblastos, sustancias que promueven la diferenciación celular de los factores de crecimiento; interferón, o factores de necrosis tumoral; y metabolitos del ácido araquidónico, tales como los leucotrienos y prostaglandinas. Todas las citocinas tienen actividad múltiple, y todas las células inmunes expresan selectividad específica de membrana sobre los receptores, algunos de estos, precisan y tienen una interacción íntima de varios tipos de células en un proceso de nueva reorganización de las citocinas. La adhesión entre moléculas son la segunda señal en la obtención de la respuesta inmune. El término integrinas o selectinas, se refiere a moléculas de adhesión intracelular, la función asociada a los leucocitos y antígenos (LAF1 y LAF2), y después (VLA1 y VLA2)(Pordigon et al., 1994).

7.1.-MECANISMOS POR LOS CUALES LOS ALIMENTOS INFLUYEN EN LAS FUNCIONES INMUNES

Se ha propuesto que los derivados alimenticios pueden influir sobre la función inmune en individuos sanos. Las vitaminas, minerales, y ácidos grasos aumentan el DTH, las vitaminas y minerales refuerzan la producción de anticuerpos específicos y los oligosacáridos incrementan las células T y aumentan la respuesta proliferativa. La ingestión de estos alimentos no solamente normaliza la función inmune, además también

reduce la incidencia de infecciones patógenas (**Kaminogawa and Nano, 2004**). Los villis intestinales, que juegan un papel crucial en la digestión y la absorción de los nutrientes no están totalmente desarrollados en el momento de nacer, consiguiéndose la máxima capacidad de absorción a los diez días de edad en animales monogástricos (**Téllez et al., 2008**). La ingestión de los probióticos estabilizan la microflora intestinal y la modulación del sistema. Además, probióticos tales como las BAL son reconocidas por los receptores de las células fagocíticas de superficie. Un grupo de alimentos representados por las BAL estimulan la inmunidad innata (actividad fagocítica, actividad de la células NK), junto con otros alimentos, en los que se incluyen vitaminas y minerales, que activan la inmunidad adquirida (respuesta de las células T, producción de anticuerpos). Sin embargo, la inmunidad adquirida o innata esta estrechamente ligada a los grupos de alimentos que pueden regular al sistema inmune. Ha sido reportado que varios nutrientes hallados en los alimentos muestran funciones antiinfecciosas. La ingesta de probióticos puede parcialmente digerirse en el intestino e incorporarse dentro de la células M presentes en la células FAE, y son capturados por las células dendríticas o macrófagos en la área interfolicular del área de las PPs. Existen células fagocíticas profesionales con varios receptores en sus superficie capaces de unirse a estructuras comunes de los microbios, conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) (**Kaminogawa and Nano, 2004**). Una deficiencia de vitaminas y minerales induce una atenuación de la función inmune que incluye la actividad fagocítica, actividad fagocíticas de las células NK, producción de

anticuerpos antígenos específicos, y la proliferación de células T. Además, la actividad de las células NK y la respuesta de las células T disminuye con pacientes con síndrome de fatiga crónica. El deterioro de la función inmune posiblemente causa pérdida de la salud. Un elevado riesgo de infección esta estrechamente ligada a la baja en la actividad celular de las NK, e incrementa el riesgo de mortalidad. Estos hallazgos demuestran claramente que la función inmune en individuos sanos se ve afectada por varios factores, y este deterioro esta estrechamente conectado con la desregularización de la función inmune (**Kaminogawa and Nano, 2004**).

Ejemplos de cepas de probióticos en productos.

Cepa (designaciones alternativas)	Nombre de marca	Fabricante
<i>Bifidobacterium animalis</i> DN 173 010	Activia	Danone/Dannon
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12		Chr. Hansen
<i>Bifidobacterium breve</i> Yakult	Bifienc	Yakult
<i>Bifidobacterium infantis</i> 35624	Align	Procter y Gamble
<i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 (DR10)	Howaru™ Bifido	Danisco
<i>Bifidobacterium longum</i> BB536		Morinaga Milk Industry
<i>Enterococcus</i> LAB SF 68	Bioflorin	Cerbios-Pharma
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	Mutaflor	Ardeypharm
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5		Chr. Hansen
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM		Danisco
<i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001	Actimel, DanActive	Danone/Dannon
<i>Lactobacillus casei</i> CRL431		Chr. Hansen
<i>Lactobacillus casei</i> F19	Cultura	Arla Foods
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Yakult	Yakult
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (Lj1)	LC1	Nestlé
<i>Lactococcus lactis</i> L1A	Norrmeyerier	
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299V	GoodBelly, ProViva	NextFoods Probi
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATTC 55730	Reuteri	BioGaia Biologics
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 53013 (LGG)	Vifit y otros	Valio
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21	Verum	Norrmeyerier
<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>bouardii</i>) lio	DiarSafe, Ultralevure y otros	Wren Laboratories, Biocodex, y otros
Analizado como mezcla: <i>Lactobacillus acidophilus</i> CL1285 y <i>Lactobacillus casei</i> Lbc80r	Bio K+	Bio K+ International
Analizado como mezcla: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1 y <i>Lactobacillus reuteri</i> RC-14	FemDophilus	Chr. Hansen
Analizado como mezcla: VSL#3 (mezcla de 1 cepa de <i>Streptococcus thermophilus</i> , cuatro <i>Lactobacillus</i> spp y tres cepas de <i>Bifidobacterium</i> spp)	VSL#3	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
Analizado como mezcla: <i>Lactobacillus acidophilus</i> CUL60 y <i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL 20		
Analizado como mezcla: <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011	A'Biotica y otros	Institut Rosell
Analizado como mezcla: <i>Bacillus clausii</i> cepas O/C, NR, SIN, y T	Enterogermina	Sanofi-Aventis

Figura 4.- Donde se muestra la cepa de probiótico, así como su designación alternativa, el nombre comercial y su fabricante

7.2.-PROPIEDADES DESEABLES DE UN SUPLEMENTO DIÉTETICO

USADO COMO PROBIÓTICO

1. Debe ser de origen humano y debe ser capaz de habitar el intestino grueso y delgado.

2. Ejercer un efecto beneficioso en el huésped ayudándolo a una digestión apropiada, a la asimilación de nutrientes y a la síntesis de nutrientes como complejos vitamínicos B y vitamina K para el huésped (ser humano). Además de:

- Ser no patógeno y no tóxico.
- Contener un gran número de células viables.
- Ser capaz de sobrevivir (no ser eliminadas por el jugo gástrico ni los ácidos biliares) y metabolizarse en el intestino.
- Permanecer viable durante su almacenamiento y uso.
- Ser antagonistas a los patógenos (**Soriano, 2004**).

7.3.-EFICIENCIA EN LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES.

Recientemente, los probióticos han demostrado tener efectos beneficiosos sobre la salud del huésped. Los mecanismos no se conocen, pero podrían deberse a la capacidad de los probióticos para actuar como reguladores de la microflora intestinal como fuente de enzimas digestivas y/o factores estimulantes del sistema inmune. Este es el razonamiento detrás del uso de los probióticos en la alimentación de los animales de granja, es decir, para mejorar su rendimiento de cría a pesar de todas las tensiones (concentración de animales de alto, el destete precoz o rápida de

crecimiento) asociado a la cría moderna (**Bioarge et al; 1998**).

Han sido abocados para la prevención y tratamiento de diversos rangos de desordenes de gastroenteritis hasta neoplasias intestinales. La evidencia de esta eficacia es en muchos desordenes no es fuerte, pero esta bien establecido que tienen efectos benéficos en condiciones pequeñas. Las evidencias fuertes del uso de los probióticos esta en el manejo de las enfermedades diarreicas. Por ejemplo, al realizarse un metanálisis de pruebas controladas muchos de los probióticos son efectivos en la prevención de diarreas asociadas a antibióticos, incluyendo a *Saccharomyces boulardii* y *Lactobacillus acidophilus* en combinación con *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus cepa GG*, y *Enterococcus faecium cepa SF68*. Un metanálisis por separado donde se observaron una variedad de probióticos (incluidos *Lactobacillus* species, *Enterococcus* especies, y *S. boulardii*) fue efectiva en el tratamiento de diarreas infectivas en adultos y niños. En este análisis los probióticos mostraron que reducen la media en la duración de la diarrea por 30 h. Esto también es observado cuando en pruebas controladas se observa la eficacia de la mezcla de probióticos (10^{11} UFC *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, y *S. thermophilus*), en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales. La terapia con probióticos ha sido explorada en enfermedades no gastrointestinales, incluyendo el tratamiento y la prevención de eczema atópica. A pesar de la evidencia los datos sugieren que los mayores efectos clínicos de los probióticos se observan en los desordenes gastrointestinales (**Boyle et al., 2006**).

Los antimicrobiales han sido usados por mas de 50 años para el desempeño y prevención de enfermedades del ganado. El crecimiento asociado al potencial de los antimicrobiales en la alimentación contribuyen al crecimiento de patógenos humanos resistentes a los antibióticos. A pesar del uso de antimicrobiales usados como promotores de crecimiento en dietas en los animales en los Estados Unidos, varios países de Europa han implementado estrictas normas de regulación de estos en las dietas. Debido a la restricción se ha buscado alternativas naturales que suplan a los agentes quimioterapéuticos convencionales **(Turner et al., 2001)**.

VIII.-BACTERIAS ACIDO LACTICAS (BAL)

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) se ubican en la familia ***Lactobacillaceae***, la cual se caracteriza porque sus miembros pueden ser bacilos largos o cortos, aunque también cocos que se dividen como los bacilos, solamente en un plano, produciendo cadenas o tétradas de forma ocasional y filamentos, falsamente llamados ramificados. Estas bacterias son normalmente no mótils, aunque también pueden serlo. Las especies mótils presentan flagelación períttrica. Son Gram positivas, con rara producción de pigmentos, aunque unas pocas especies los producen de color amarillo, naranja, rojo o pardo **(Samaniego; et al., 2004)**. Las BAL contienen componentes en su pared celular tales como peptidoglicanos, polisacáridos y ácidos teoicos, los cuales han demostrado tener propiedades inmunoestimulantes. Además de los componentes de la pared celular, se han observado efectos inmunoestimulantes antígenos

originados del citoplasma de algunas cepas de LAB. Los componentes no bacterianos de la leche y componentes producidos por la fermentación de leche también puede contribuir a la actividad inmunoestimuladora de yogurt. Péptidos y ácidos grasos libres generados por la fermentación han demostrado mejoran la respuesta inmune **(Nikbolin and Kyu, 2000)**.

8.1.-GENERO LACTOBACILLUS

El género *Lactobacillus* (**lactis-leche; Bacillus-pequeños bacilos**) se caracteriza por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos corineformes; lo cual hace que se puedan confundir con géneros aislados habitualmente de materiales clínicos. Estos bacilos se presentan comúnmente formando cadenas y en general son no móviles, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación peritrica. Son Gram positivos y sólo las células muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram. Además, no esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato. Los grandes bacilos hemofermentativos presentan gránulos internos revelados por tinción de Gram o por tinción con azul de metileno **(Samaniego; et al., 2004)**.

8.2.-EL YOGURT Y SU CONTENIDO DE BAL

Yogurt es definido por el *Codex Alimentarius* de 1992 como un producto de leche coagulada que resulta de la fermentación del ácido láctico por el *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. Las

bacterias ácido lácticas han sido usadas por cientos de años que producen productos lácteos fermentados **(Nikbolin and Kyu, 2000)**. Existen pocas diferencias, entre la leche y el yogurt ya que contienen cantidades similares de vitaminas y minerales. Durante la fermentación, la vitamina B-12 y C son consumidas y es producido ácido fólico. Las diferencias entre otras vitaminas entre la leche y el yogurt son pequeñas y dependen del tipo de bacterias usadas en la fermentación. A pesar de que el yogurt y la leche tiene composición similar en minerales, como el calcio, es más biodisponible en el yogurt que en la leche, también contiene menos lactosa y más ácido láctico, galactosa y péptidos, aminoácidos libres, y ácidos grasos no lácteos. Muchos estudios indican que los efectos potenciales terapéuticos de las bacteria ácido lácticas y el yogurt, incluidos los efectos inmunoestimulatorios, que son debido primeramente a los cambios inducidos por el yogurt en la microecología del tracto GI **(Nikbolin and Kyu, 2000)**.

8.3.-COMPONENTES BACTERIALES DE LAS BAL ENCONTRADAS EN YOGURT

Las BAL en su pared celular están compuestas por peptidoglicanos (30–70% de el total de la pared celular), polisacáridos, y ácido teicoico. Los peptidoglicanos y los glicopeptidos liberados por la pared celular de las bacterias por la acción de las enzimas bacteriolíticas, tales como lisozimas, las cuales son secretadas dentro de los intestinos, pueden liberar peptidoglicanos y dipéptido muramil (MDP), un producto de bajo peso molecular. Es bien conocido que los peptidoglicanos tienen efecto

adyuvante en la respuesta inmune. Los sitios de unión de los peptidoglicanos ha sido identificado en linfocitos y macrófago. Las BAL, las cuales son muy sensibles a la digestión lisosomal, pueden liberar peptidoglicanos en el intestino e inducir actividad en la superficie de la mucosa. El dipéptido muramil (MDP) es un medio que contiene peptidoglicanos en la pared celular de bacterias patógenas y no patógenas tales como las BAL. El MDP estimula la liberación de los macrófagos y libera IL-1, la cual es necesaria para la activación de linfocitos T e induce la producción de interferón. Se ha observado que el MDP estimula la producción de IL-1, IL-6, y TNF- por los monocitos y la IL-4 y IFN- γ por linfocitos. Otros componentes de la pared contribuyen a la actividad inmunoestimuladora de las BAL. Los ácidos teicoicos estimulan la producción de IL-1, TNF- α , y IL-6 por los monocitos *in vitro*. Los componentes citoplasmáticos de las BAL también muestran incremento en la respuesta proliferativa de las PP de manera dependiente de la cepa (Nikbolin and Kyu, 2000).

8.4.-COMPONETES NO BACTERIALES DE LAS BAL ENCONTRADAS EN YOGURT

En los niños que han sido alimentados con leche de la madre se observa que los microorganismos en las heces son bifidobacterium, lactobacilli y staphylococci mientras que en las de los bebés alimentados con leches preparadas, los microorganismos que predominan son coliformes, enterococos y bacteroides. Los mecanismos responsables de estas diferencias microbióticas entre los niños que reciben la leche

materna y los alimentados con biberón parecen estar relacionados con las propiedades acido-base de las leches preparadas, en la presencia de proteínas con la capacidad inmunológica (como lactoferrina), de oligosacáridos y de inmunoglobulinas A (IgA) **(Tellez et al., 2008)**.

Durante la fermentación de la leche por las BAL, el estado físico-químico de las proteínas de la leche cambia, así como de cantidades significantes de aminoácidos libres y péptidos. La proteólisis observada afecta la capacidad de los macrófagos para fagocitosis. El efecto proteolítico sobre la leche resulta en un incremento estimulador de fagocitosis por los macrófagos alveolares en el ratón. Por lo tanto, los péptidos producidos por la fermentación de la leche pueden contribuir a elevar el efecto del yogurt. La fermentación resulta en una completa solubilización de calcio, magnesio y fósforo y solubilización parcial de los minerales traza. El calcio y el fósforo tienen más efectos de biodisponibilidad mineral en el yogurt que en la leche. El calcio muestra un aumento en la función inmune, en la que se incluye la unión de la lecitina por los linfocitos, la producción de IL-2, y la citotoxicidad de linfocitos contra los tumores **(Nikbolin and Kyu, 2000)**

IX.-USO DE LOS PROBIOTICOS EN PRODUCCION ANIMAL

Diversas pruebas realizadas con animales y estudios *in vitro* han demostrado que las cepas probióticas ejercen una acción protectora contra la adherencia, la colonización, la reproducción y la acción patógena de agentes entero-patógenos específicos mediante distintos mecanismos de acción que aun no están completamente esclarecidos. No obstante,

entre los mecanismos mas significativos que se destaca la privación de nutrientes específicos a los agentes patógenos **(Huang, 2004)**, con resultados prometedores en una variedad de áreas de producción animal. Por ejemplo, preparados con múltiples especies de probióticos incrementó la ganancia de peso diario (GDP) y eficiencia alimenticia en corderos y en el ganado durante el período inicial de alimentación. Así por ejemplo, en lechones suplementados durante el destete con *Lactobacillus brevis* las tasas de crecimiento fueron mayores al finales del período de maternidad, en comparación con el grupo control. Así, al controlar y dirigir la suplementación microbiana también se aumentó la eficiencia del alimento durante el crecimiento y las etapas terminales, por lo que los probióticos también podrían afectar a las poblaciones microbianas fecales. Por ejemplo, la alimentación con bacterias probióticos en corderos disminuyo la excreción de *Escherichia coli* O157: H7, y en bovinos de carne suplementados también se redujo la cantidad de *Salmonella* excretada **(Whitley; et al., 2008)**.

Los beneficios de la población microbiana en el intestino de los animales se debe en gran parte a la fermentación de los sustratos alimenticios para producir ácidos grasos volátiles (AGV) y vitaminas del complejo B que son absorbidas por el animal hospedador, pero la población intestinal microbiana nativa también estimula el sistema inmune que puede volver a producir la colonización de patógenos y enfermedades posteriores **(Callaway; et al., 2008)**.

Además, estudios *in vitro* y en animales han demostrado los efectos inhibidores de las bacterias probióticas mediante interferencia con la

adhesión de patógenos gastrointestinales o con toxinas producidas por los microorganismos patógenos. Y como adyuvante como los efectos sobre la inmunidad intestinal y sistémica **(Sullivan and Nord, 2002)**.

Se ha demostrado que el destete puede causar cambios en la función gástrica que aceleran el crecimiento de *E. coli*, habitante normal del tracto digestivo que aumenta en número durante la diarrea. Varios investigadores han demostrado que los lactobacilos pueden suprimir a coliformes hemolíticos, que puede ser una parte integral para evitar el retraso posdestete comúnmente observado en granjas de producción porcina. La terapia con *Lactobacillus* ha demostrado que mejora la ganancia y eficiencia alimenticia de las aves de corral y cerdos. Otros investigadores no han observado la respuesta en cerdos, y el valor de los productos no se ha dilucidado por completo. Algunos autores sugieren que la eficacia del producto puede estar relacionado con la extensión de la viabilidad de concentrado o preparación de los lactobacilos, otros por su parte sugirieron que grandes cantidades de lactosa son necesarias para que los lactobacilos se establezcan en el intestino **(Pollmann et al; 1980)**.

Los probióticos, han sido administrados en animales de granja para aumentar la producción y la respuesta inmune. En la industria avícola, la suplementación con probióticos ha demostrado una adecuada conversión en ganancia de peso, rango en conversión de alimento y rango de mortalidad en pollos. Ha sido observado que los probióticos protegen a las aves contra la colonización de patógenos en el tracto gastrointestinal y estimulan la respuesta del sistema inmune **(Huang, 2004)**. Se ha observado que la inoculación de esporas *Bacillus subtilis* reduce la

colonización intestinal de *Escherichia coli* O78:K80 en pollos. Estos resultados fueron observados solamente cuando el cambio ocurre 24 horas después de la inoculación oral de *B. subtilis*. Algunos investigadores se han observado los efectos de los probióticos sobre la producción en aves. Se ha encontrado que en dietas suplementadas con *Lactobacillus* resultan en consumo elevado (g/gallina), masa de huevo (g/gallina por día), y peso del huevo (g/huevo). También se ha probado que el efecto de la alimentación de *Lactobacillus*, especialmente *L. acidophilus*. Se reporto que las gallinas que recibieron bacterias mostraron conversión significativa (kg de alimento: kg de huevo) y estas contienen menos colesterol que las gallinas que fueron alimentadas en el grupo control. Estos fueron significantes entre los niveles de bacterias recibidos; así las aves que recibieron mas bacterias tuvieron una mejor conversión alimenticia **(Griggs and Jacob, 2005)**. Se ha observado que el destete puede causar cambios en la función gástrica que acelera el crecimiento de la *E. coli*, una bacteria normal del tracto digestivo que incrementa en numero durante la diarrea. Varias investigaciones han mostrado que los lactobacilos suprimen los coliformes hemolíticos, los cuales tal vez son una parte integral de la presencia de la enfermedad durante el destete, comúnmente observada en enfermerías en la producción de cerdos. La terapia con lactobacillus ha mostrado que ayuda a una ganancia de peso y eficiencia alimenticia en las aves y cerdos **(Pollmann et al; 1980)**. En definitiva, la acción de los probióticos sobre la microflora del rumen contribuye a la mejora de las condiciones óptimas del funciona- miento de la misma reduciendo los trastornos digestivos, favoreciendo el aprovechamiento de

la dieta, así como una mejora general en los parámetros productivos y en el estado sanitario de los animales. En el caso de los rumiantes uno de los probióticos más utilizados han sido las levaduras, cuyos efectos más reconocidos en rumiantes se atribuyen al aumento de la celulólisis ruminal y del flujo de proteína microbiana al intestino. Aunque con una cierta variabilidad, se han observado mejoras en los parámetros productivos como GMD al incluir levaduras o hongos en dietas para vacuno en sustitutos y en engorde. Sin embargo, debe tenerse especial cuidado en relación a los tratamientos de fabricación de piensos a los que se les ha añadido hongos o levaduras, ya que éstos difícilmente soportan las temperaturas que se alcanzan en la granulación y que en ocasiones se producen contaminaciones con cepas naturales o entre tratamientos. Aunque el uso de probióticos del género *Bacillus* está, en general, más extendido en alimentación de ganado porcino, se observaron mejores resultados productivos de GMD e IC con especies de *Bacillus* que con levaduras en vacuno de engorde. En este sentido, el 8. *toyoi* es una bacteria no láctica esporulada con una alta estabilidad durante el proceso de fabricación del pienso, ya que puede soportar altas temperaturas de granulación **(Arantzamendi et al., 2005)**.

VI.-BIBLIOGRAFIA.

1. Amores, R., Calvo, A., Maestro, J.R. y Martínez-Hernández, D. (2004). Probióticos Revista Española de Quimioterapia. Vol 17. No. 2. Pág. 131-139.
2. Arantzamendi, L., Jiménez, G., and Blanch, A (2005). Efecto del probiótico *Bacillus Toyoi* sobre los parámetros productivos de vacuno de engorde.
3. Barbosa, T. M., Serra, R. C. LaRagione, R. M., Woodward, J. M., and Henriques, O. A (2005). Screenin for *Bacillus* Isolates in the Broiler Gastrointestinal Tract. *Applied and Enviromental Microbiology*. Vol. 71. No. 2. Pág. 968-978.
4. Bioarge, V., Vallet, C., Levesque, A., Serqheraert, R., Chevalier, S., and Rubertun, Jean-Luc. The use of Probiotics in the Dief of Dogs. *Nutrition and Disease*. American Society for Nutricional Science. Vol. 128. Pág. 2730S-2732S.
5. Boyle, R. J. Robins-Browne, R. M. and Tang, M. LK. (2006). Probiotic use in Clinical Practice: What are the risks? *The American Journal Of Clinical Nutrition*. Pág. 1256-1264.
6. Cabrera, C. Y., and Fadruga, F. A. (2005). Probióticos y salud: Una reflexion necesaria. *Rvista Cubana de Medicina General Integral*. Vol. 21. Pág. 3-4.
7. Callaway, T. R. Edrington, T. S., Anderson, R. C., Harvey, R. B., Genovese, K. J., Kennedy, C. N., Venn, D. W. And Nisbet, D. J. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusión for prophylaxis against bacterial disease. *Animal Health Research Review*. Vol. 9. No. 2. Pág. 217-225.
8. Callaway, T. R., Edrington, T. S., Anderson, R. C., Harvey, R. B., Genorese, K. D., Kennedy, C. W., Venn, D.W., and Nishet, P.J. (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusión for prophylaxis against baacterial disease. *Animal Health Research Reviews*, Vol. 9. No. 2. Pág. 217-225.
9. Castro, M., and Rodríguez, F. (2005). Levaduras, Probióticos y Prebióticos que mejoran la Producción Animal. *Revista Corpoica* Vol. 6. No. 1.

10. Choudhari, A., Shilphri, S. and Romteke, B. N. (2008). Prebiotics and Probiotics Health promoter. *Veterinary World*. Vol. 1. No. 2. Pág. 061-069.
11. Choudhari, A., Shilpshr. S. And Rumteke, B. N. (2008) Prebiotics and Probiotics as Health Promoter. *Veterinary World*. Vol. 1. No. 2.
12. De Vrese, M., and Marteau, P. R. (2007). Probiotics and Prebiotics: effects on Diarrhea. *Journal of Nutrition*. Vol. 137. Pág. 803S-811S.
13. Figueroa, I., Gomez-Ruiz, L., Garcia-Garibay, M., Cruz-Guerrero, Alma. (2006). El beneficio de los probióticos. *Industria Alimentaria*. Pág. 22-27.
14. Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. (1994). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *Journal of Nutrition*. Pag. 401-410.
15. Gorgulu, M., Siuta, A., Ongel, E., Yurtseven, S., Rustu-Kutl, H. (2003), Effect of probiotic on growing performance and Health of Calves, *Pakistan Journal of Biological Science*. Vol. 6. No. 7. Pág. 651-654.
16. Guarner, F., Khan, A. A., Garisch, J., Ediakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J., Mair, T.L. (2008), Probióticos y Prebióticos. *Organización Mundial de Gastroenterología*.
17. Griggs, J. P. And Jacob, J. P. (2005), Alternatives to antibiotics for organic Poultry Production. *Journal Applied Poultry*. Vol. 14. Pág. 750-756.
18. Haghghi, H. R., Gong, J., Gyles, C. L., Hayes, M. A., Sanei, B., Parvizi, P., Gisari, H., Chambers, J. R., and Sharif, S. (2005). Modulation of probiotics in Chickens. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. Vol. 12. No. 12. Pág. 1387-1392.
19. Huang, M. K., Choi, Y. J., Houde, R. T., Lee, J. W. Lee, T. B. and Zhao, X. (2004). Fungus on the Production Performance and Immune Response in Broiler Chickens. Pág. 788-795.
20. Jones, P. J. (2002). *Clinical Nutrition: Funcional Foods. More than Just Nutrition*. Canadian Medical Association. Vol. 12. Pág. 1555-1563.

21. Kaminoqawa, S., and Nanno, M. (2004). Review: Modulation of Immune Functions by Foods. Vol. I. No. 3. Pág. 241-250).
22. López-Brea, M. and Domingo, D. (2007). Antibioticoterapia con Probióticos. Revisión: Revista Española de Quimioterapia. Vol. 2. No. 2. Pág. 170-181.
23. Martínez, L. M., Pancho, J. S. and Vicario, G. S. (2007). Probioticos: Potencial para prevenir y curar. Revista Complutencu de Ciencias Veterinarias. Vol. 1 #2. Pág. 573- 583.
24. Mennickent, S. and Green, K. (2009). Los Probióticos y su utilidad terapéutica; Ciencia Ahora; Vol. 24, Año. 12, pag. 31-38.
25. Nikbin Meydani, S. and Kyu Ha, W. (2000). Immunologic effects of Yogurt, American Society for Clinical Nutrition. Pág. 861-872.
26. Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G., and Gobbato, N. (1994). Symposium: Probiotic bacteria for Humans: Clinical Systems Stimulation by Probiotics. Journal of Dairy Science. Vol. 78. Pág. 1597-1606.
27. Pollmann, D.S., Danielson, D. M., and Peo, E.R. (1980). Effect of lactobacillus Acidophilus on Starter Pigs Fed a Diet Supplemented with Lactose; The premier Journal and Leading source of New Knowledge and Perspective in Animal Science. Vol 51. No. 3. Pág. 638-644.
28. Quigley Eamon, M. M. (2007). Probiotic in Irritable Bowel Syndrome: An Immunomodulatory Strategy?. Journal of American College of Nutrition. Vol. 26. No. 6. Pág. 684S-690S.
29. Reid, G. (1999). The Scientific Basic for probiotic Strains of Lactobacillus. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 65. No. 9. Pág. 3763-3766.
30. Rosmini, M. R, Sequeira, A. S., Guerrero Legarreta, I., Martí, L. E., Dalla Santina, R., Frizzo, L., Bunazza, S. C. (2004). Producción de Probióticos para Animales de Abasto: Importancia del uso de la Microbiota Intestinal Indigena. Revista Mexicana de Ingenieria Quimica. Vol. 3. No. 2. Pág. 181-191.
31. Samaniego-Fernandez, L. M. and Sosa del Castillo, M. Importantes

Promotores de Actividad Probiótica, Antimicrobiana y Bioconservadores. Pág. 1-24.

32. Scherezemmer, J. and Devrese, M. (2001). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. Approaching a Definition. American Journal Clinical Nutrition. Vol: 73 pag 3615-3645.
33. Soriano-Alvarez, C. Prebióticos, Probióticos y Simbióticos. Topics Selectos de Medicina Interna. Gastroenterología. Pág 352-363.
34. Sullivan, A. and Nord, C.E: (2002). Probiotics in Human Infections. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 50. Pág. 625-627.
35. Tellez, G., Nava, G., Vicente, J., Bonave, A. M., Donabue, D. J., and Hargis, B. M. (2008). Prebióticos, Probióticos y Simbióticos: su papel en la Integridad intestinal. Avances en la Tecnología Porcina.
36. Turner, J.H. Dritz-Pas, S. S. and Mintoni, J.E. Review Alternatives to Conventional Antimicrobials in Swine Diets. The Professional Animals Scientist. Vo. 17. Pág. 217-226.
37. Walter, J. (2008). Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 74. No. 16. Pág. 4985-4996
38. Whitley, N.C., Cazac, D., Rude, B. J., Jackson-O'Brien, D. And Parveen, S. (2009). Use of a commercial probiotic supplement in meat goats. Journal of Animal Science. Vol. 87. Pág. 723-728.