

UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS EN AVES Y CERDOS

LUÍS ALFONSO SOLARTE PORTILLA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
VICERECTORÍA DE INVESTIGACIONES POSTGRADOS Y RELACIONES
INTERNACIONALES
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PASTO - COLOMBIA
2008

UTILIZACIÓN DE PROBIÓTICOS EN AVES Y CERDOS

LUÍS ALFONSO SOLARTE PORTILLA

Monografía presentada como requisito parcial para optar al título de especialista
en Producción de Recursos Alimentarios para Especies Pecuarias

Asesora:
AYDA PAULINA DÁVILA SOLARTE
Zoot., M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
VICERECTORÍA DE INVESTIGACIONES POSTGRADOS Y RELACIONES
INTERNACIONALES
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PASTO - COLOMBIA
2008

Nota de aceptación

AYDA PAULINA DÁVILA SOLARTE Zoot., M. Sc
Asesora

ÁLVARO JAVIER BURGOS ARCOS Zoot., M. Sc
Jurado delegado

PATRICIA LÓPEZ GUARNIZO MVZ Esp.
Jurado

Pasto, Noviembre de 2008.

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Dedico a:

ROSAURINA, MI MADRE

GABBY, MI ESPOSA

SARA VANESSA, JOSÉ LUÍS, JAIRO DAVID Y GABRIEL, MIS
HIJOS

MIS HERMANOS

LUÍS ALFONSO SOLARTE PORTILLA

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

AYDA PAULINA DÁVILA SOLARTE	Zoot., M. Sc
ALVARO JAVIER BURGOS ARCOS	Zoot., M. Sc
PATRICIA LÓPEZ GUARNIZO	M.V.Z., Esp.
YOLANDA ROCIO YEPEZ ARAÚJO	Secretaría VIPRI

Al personal adscrito a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	13
1. OBJETIVOS	14
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo general	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE	15
RESEÑA HISTÓRICA Y DEFINICIÓN DE LOS PROBIÓTICOS	15
3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS	17
3.2.1 Bacterias Ácido Lácticas (BAL)	18
3.2.1.1 Tipos de Bacterias Lácticas	
3.2.1.2 Producción de sustancias antimicrobianas	18
3.2.2 Bifidobacterias	20
3.2.3 Levaduras	21
3.3 CARACTERISTICAS Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS	23
3.3.1 Inmuno estimulación.	23
3.3.2. Estimulación del crecimiento.	24
3.3.3. Efecto de los probióticos. Sobre la conversión alimenticia.	24
3.3.4. Diversidad de probióticos	27
3.3.5 Criterios de selección.	29
3.4 INVESTIGACIONES DEL USO DE PROBIÓTICOS APLICADOS EN CERDOS.	31
3.5. INVESTIGACIONES DEL USO DE PROBIÓTICOS APLICADOS EN AVES.	41
4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
4.1 CONCLUSIONES	44
4.2 RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFIA	46

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Actividad antimicrobiana de diferentes cepas de <i>Lactobacillus</i>	19
Figura 2. Bifidobacterias	20
Figura 3. Fotografía de microscopía electrónica de barrido de <i>S. cerevisiae</i>	21
Figura 4. Mecanismos utilizados por las levaduras bioterapéuticas para controlar patógenos	22
Figura 5. Levadura <i>Saccharomyces</i> spp	23

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro. 1 Principales probióticos	28

GLOSARIO

PROBIÓTICO: microorganismos vivos, principalmente bacterias, usados en forma de suplementos nutricionales que, tras ser ingeridos en cantidad suficiente, mejoran el equilibrio microbiano en el intestino de las personas o animales que los ingieren.

BACTERIAS ÁCIDO LACTICAS: grupo grande de bacterias con la característica común de producir ácido láctico como el principal producto final del metabolismo.

BÍFIDOBACTERIAS: son bastones Gram positivos y anaerobios estrictos, que frecuentemente tienen necesidades nutricionales especiales y crecen lentamente en la leche.

LEVADURAS: masa constituida por microorganismos del grupo de hongos, capaces de producir fermentación en algunas sustancias orgánicas.

BACTERIOCINAS: proteínas producidas por ciertas especies de bacterias que son tóxicas para cepas emparentadas con esas bacterias. También llamadas antibióticos proteínicos.

MICROBIOTA: conjunto de microorganismos (bacterias y hongos) de un determinado tejido de un hospedador que han desarrollado una relación íntima con éste y que desempeñan normalmente una función beneficiosa.

HOSPEDERO: Organismo que alberga a un parásito

RESUMEN

Actualmente, en las empresas porcícolas y avícolas, la producción se desarrolla en sistemas intensivos y semi intensivos, donde los requerimientos nutricionales son satisfechos con base en balanceados. Debido a las condiciones de manejo, como el confinamiento y las altas densidades, los individuos se encuentran sujetos a estrés constante que se traduce en bajas tasas de crecimiento y eficiencia alimenticia, así como presencia de enfermedades oportunistas.

Para solucionar estos problemas se ha estudiado el uso de aditivos alimenticios que eviten la incidencia de enfermedades y actúen como promotores de crecimiento, tales como las hormonas, los antibióticos, los iónoferos y algunas sales, entre otros. Sin embargo, su uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal, ya sea por alteraciones hormonales, intoxicación o predisposición a enfermedades. Además, los residuos afectan directamente la salud del consumidor final.

Para mitigar o evitar las dificultades antes mencionadas, la investigación animal se ha dirigido hacia la evaluación de prácticas de manejo nutricional como la adición de los microorganismos denominados probióticos.

Los resultados de este trabajo de revisión indican que a pesar que muchos autores reportan resultados positivos, no existe claridad científica sobre el efecto de los probióticos utilizados en la producción avícola y porcícola, se concluye por tanto que es necesario realizar investigaciones sobre el uso de probióticos de diferentes tipos, géneros o cepas de microorganismo, bajo un estricto rigor científico, que incluya diseños estadísticos bajo el mismo tenor y con protocolos experimentales claramente definidos.

Palabras clave: Lactobacilos, probióticos

ABSTRACT

Currently, companies in pig and poultry production takes place in semi-intensive and intensive systems, where the nutritional requirements are satisfied, based on balanced. Due to the driving conditions, such as confinement and high densities, individuals are subject to constant stress that results in low growth rates and feed efficiency, as well as the presence of opportunistic diseases.

To solve these problems has been studied the use of food additives that prevent the incidence of diseases and to act as growth promoters, such as hormones, antibiotics, iónoferos and some salts, among others. However, their indiscriminate use can cause adverse effects to the animal, either by hormonal disorders, poisoning or predisposition to disease. Besides, the waste directly affect the health of the consumer.

To mitigate or avoid the above-mentioned difficulties, animal research has been directed toward the evaluation of nutritional management practices such as the addition of microorganisms known as probiotics.

The results of this review indicate that although many authors reported positive results, there is no scientific clarity on the effect of probiotics used in pig and poultry production is therefore concluded that it is necessary to conduct research on the use of probiotics of different types, or strains of micro-genres under strict scientific rigor, which includes design, under the same tenor and experimental protocols with clearly defined.

Key words: Lactobacillus, Probiotics,

INTRODUCCIÓN

Bajo los actuales esquemas de producción animal, para obtener buen rendimiento, es indispensable el uso de antibióticos, los cuales proporcionan al animal una protección frente a ciertas enfermedades, y al mismo tiempo actúan como precursores de crecimiento, al eliminar microorganismos no deseados que se encuentran en el tubo digestivo. Sin embargo, el problema central de incluir antibióticos en dietas para animales, radica en que queda un residuo en los productos animales, que en el consumidor final producen resistencia de algunos microorganismos con consecuencias negativas para la salud humana.

En la actualidad se ha planteado como opción para contrarrestar los inconvenientes que ocasionan los antibióticos, el uso de productos que regulan la flora bacteriana intestinal a través de diversos microorganismos y compuestos naturales y sintéticos, permitiendo una reducción parcial o total del uso de antibióticos y un beneficio para el rendimiento de los animales.

El uso de probióticos, denominados así por su acción opuesta a la de los antibióticos, se convierte en opción viable para la producción animal, al contribuir en la solución de uno de los inconvenientes de mayor impacto negativo en la producción de alimentos de origen animal; la utilización de antibióticos.

Como se puede observar, este tema es cada vez más relevante en la producción pecuaria y reviste una especial importancia en la alimentación y nutrición animal, por lo tanto en esta monografía, se revisará, recopilará y analizará la bibliografía científica, que permita a los interesados en esta temática consultar sistemáticamente un documento que permitirá a los lectores, acopiar conocimientos para estructurar posibles investigaciones en el ámbito local, regional y nacional, específicamente en avicultura y porcicultura.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar un compendio bibliográfico referente a la utilización de probióticos en la producción porcícola y avícola.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar, clasificar y sistematizar la información general sobre la importancia del uso de los probióticos en la producción pecuaria.
- Revisar, sistematizar y resumir la información bibliográfica referente a la identificación de los mecanismos de acción de los probióticos utilizados en aves y cerdos.
- Analizar los resultados reportados en literatura científica sobre los probióticos y su uso en avicultura y porcicultura.
- Identificar las áreas temáticas para desarrollar posibles investigaciones sobre el uso de probióticos y otros aditivos en aves y cerdos.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 RESEÑA HISTÓRICA Y DEFINICIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

El interés científico por las bacterias como agentes protectores frente a diferentes enfermedades surge de la observación de Louis Pasteur con sus estudios sobre estos suplementos alimenticios beneficiosos.

Figueroa¹ et al, reportan que, Metchnikoff, a principios del siglo XX remarcó la longevidad y buena salud de los campesinos búlgaros, que consumían grandes cantidades de yogur.

Suponía que el consumo de grandes cantidades de alimentos ricos en bacterias lácticas eliminaba las bacterias formadoras de toxinas, mientras que elevaba la proporción de bacterias lácticas y la flora intestinal mejoraba la salud, incrementando las expectativas de vida. Desde entonces, y a lo largo de casi cien años de estudio, diversos autores se han esforzado en conocer las distintas funciones de los microorganismos beneficiosos para la salud que pueblan el tracto digestivo, y más concretamente de los productos lácteos fermentados.

Según Quiles y Hevia² el término “probiótico” surge en el año 1965, cuando Lilly y Stilwell lo utilizaron para describir aquellas sustancias secretadas por un microorganismo que estimula el crecimiento de otro, en contraposición al término “antibiótico”, entendido como cualquier compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos. 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.

Amores, Calvo Maestre y Martínez-Hernández, citan que “Parker fue el primero en usar “probiótico” de acuerdo con el sentido que hoy conocemos, es decir, organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio intestinal”³.

En 1989, Fuller intentó mejorar la definición hecha por Parker, y definió “probiótico” como cualquier suplemento alimenticio vivo que beneficia al huésped mediante la mejora de su equilibrio microbiano intestinal.

¹ FIGUEROA et al. Alimentos Funcionales para cerdos. México. Universidad Autónoma de México, 2005.p 118

² QUILES y HEVIA. Características de la flora intestinal del lechón: efecto de los probióticos. Campus de Espinardo. Universidad de Murcia,2006., p 119

³ R. AMORES, A. CALVO, J.R. MAESTRE Y D. MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ. Probióticos, Rev. Esp. Quimioterap, Junio 2004; Vol.17 (Nº 2): 131-139, Prous Science, Sociedad Española de Quimioterapia.2004.

Desde entonces, la definición de probiótico ha evolucionado notablemente, de forma que hoy se define como microorganismos vivos, principalmente bacterias, usados en forma de suplementos nutricionales que, tras ser ingeridos en cantidad suficiente, mejoran el equilibrio microbiano en el intestino de las personas o animales que los ingieren, provocando efectos beneficiosos sobre su salud, más allá de los efectos nutricionales tradicionales.

Martínez⁴, sostiene que Gibson y Roberfroid introdujeron el 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. Esta selectividad fue demostrada para *Bifidobacterium*, que puede ser promovido por la ingestión de sustancias tales como fructooligosacáridos.

Am, Clin Nutr⁵ comenta que la palabra probiótico, significa “para la vida,” y se deriva del idioma griego. Citando a Parker (1974) afirma que fue el primero en definirlo en el sentido con que se conoce actualmente así: “organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal.” Sin embargo, la definición de sustancia era tan amplia que podía incluir a los antibióticos, menciona además que Fuller (1989), intentado mejorar esta definición de los probióticos como “un aditivo alimentario microbiano vivo que afecta beneficiosamente al animal hospedero mejorando su equilibrio microbiano intestinal.” Esta definición enfatiza el requerimiento de viabilidad para los probióticos e introduce el aspecto de un efecto beneficioso en el hospedero, el cual era según su definición, un animal.

Havenaar y Huist in’t Veld⁶ ampliaron esta definición de probióticos con respecto al hospedero y al hábitat de la microbiota como sigue “cultivo viable puro ó mixto de microorganismos que aplicado al animal o al hombre, afecta beneficiosamente al hospedero mejorando las propiedades de la microbiota intestinal indígena”.

⁴ MARTÍNEZ, Benjamín Martín. Alimentos Funcionales: Prebióticos, Probióticos. Terrassa, Barcelona: *Hospital de Terrassa*, 2005.p.5

⁵ AM, CLIN NUTR. Probióticos, Prebióticos y Simbióticos Aproximación a una Definición. 2001; 73 (Suppl) 361S-4S

⁶ HAVENAAR, R., HUIS IN'T VELD, J.H.J., 1992. Probiotics. a general view. In: Wood, B.J.B. (Ed.), *The Lactic Acid Bacteria*, vol. 1, *The Lactic Acid Bacteria In Health And Disease*, Elsevier Applied Science, London, pp. 151–171.

Gunther⁷, clasifica los probióticos como aditivos alimentarios y en una acepción amplia plantea como probióticos “a organismos microbianos vivos o muertos de las especies de Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus, Bacillus y Saccharomyces, así como productos de la fermentación microbiana, nucleótidos, metabolitos de las proteínas, oligosacáridos, ácidos orgánicos tales como láctico, cítrico, acético entre otros”.

Lyons⁸ expresa que los probióticos usados en la alimentación de cerdos pueden ser definidos como “productos naturales, los cuales se utilizan como promotores del crecimiento en los animales de forma tal que su empleo permite obtener mayores rendimientos, elevada resistencia inmunológica, reducción o eliminación de patógenos en el tracto gastrointestinal y menores residuos de antibióticos u otras sustancias de usos análogos en los productos finales”.

Vadillo; Piriz y Mateos⁹, comenta que entre los alimentos funcionales se encuentran los probióticos, cuya definición más exacta hoy en día es la de “suplemento alimenticio de microorganismos vivos que produce un efecto beneficioso en la salud del consumidor”, sobre todo en el tubo digestivo.

Figuroa Velasco et al ¹⁰ señalan que los probióticos pueden ser no necesariamente sólo organismos vivos, sino que pueden incluir también productos de su metabolismo, células muertas, partículas o porciones de microbios inactivados que tienen efectos positivos. Por otro lado, la propuesta ha generado una importante polémica, ya que, de acuerdo con ella, cualquier compuesto químico que genere beneficios y que no necesariamente sea de origen microbiano, podría considerarse como probiótico. A pesar de ello, las formas no vivas de prebióticos, pero derivadas de bacterias probióticas, han demostrado tener efectos benéficos sobre la salud.

3.2. CLASIFICACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

⁷ GUNTHER, K. “The role of probiotics as feed additives in animal nutrition”. Department of animal physiology and animal nutrition. Gottingen, Germany. 1995.p.52.

⁸ LYONS, P. “Opinan los hombres de negocio”. *Avicultura profesional*, 15(7), 1997.p22.

⁹ VADILLO, S.; PIRIZ, S; MATEOS, E. *Manual de Microbiología Veterinaria*. 2002.p120.

¹⁰ FIGUEROA VELASCO et al. *Functional foods for weanling pigs* (Alimentos funcionales para cerdos al destete) José Luis, Edgar Eduardo Chi Moreno, Miguel Cervantes Ramírez, Ignacio Arturo Domínguez Vara. *Vet. Méx.*, 37(1) 2006).

Los principales microorganismos probióticos son: las bacterias ácido lácticas, las bifidobacterias y las levaduras.

3.1.1 Bacterias Ácido Lácticas (BAL). grupo grande de bacterias con la característica común de producir ácido láctico como el principal producto final del metabolismo; se encuentran en la leche y en otros ambientes naturales.

De acuerdo con Fil¹¹, las bacterias ácido lácticas han sido utilizadas por mucho tiempo (desde hace 4000 años) para preservar y transformar alimentos de fácil descomposición en productos más estables con diferentes características de textura y olor. Así por ejemplo, en el siglo pasado, los avances logrados en la microbiología permitieron seleccionar cepas con características especiales para la obtención de productos fermentados y preparados probióticos de mayor calidad, así como, el perfeccionamiento y estandarización de métodos adecuados para el cultivo y producción a gran escala de estos microorganismos.

3.2.1.1 Tipos de Bacterias Lácticas. Para Salminen; Von Wright, y Ouwehand¹² Pueden ser:

- Homofermentativas: producen de un 70-90% de ácido láctico. Por ejemplo: *Lb. bulgaricus*, *St. thermophilus*, *Lb. acidophilus*.
- Heterofermentativas: producen al menos un 50% de ácido láctico más otros compuestos tales como el ácido acético, CO₂ y etanol. Por ejemplo: *Lb. casei*.
- Mesófilas: crecen mejor en un rango de temperatura de 25-30°C. Por ejemplo: *Lb. casei*
- Termófilas: prefieren un rango de 40-44°C. Por ejemplo: *Lb. delbrueckii sp bulgaricus*, *St. salivarius sp thermophilus*.
- Anaerobias prefieren condiciones facultativas: Anaerobias para su metabolismo pero son aero-tolerantes (la mayoría de las BAL encajan dentro de esta categoría).
- Anaerobias sobreviven sólo en estrictas: condiciones anaerobias.

3.2.1.2 Producción de sustancias antimicrobianas. Schillinger¹³ menciona que Las bacterias lácticas tienen una actividad antimicrobiana sobre otros microorganismos especialmente patógenos debido a la producción de sustancias inhibitorias tales como: ácidos orgánicos (ácido láctico), peróxido de hidrógeno y las bacteriocinas (característico del metabolismo de las bacterias lácticas, y es un mecanismo mediante el cual realizan su acción preservativa y probiótica.

¹¹ FIL, I. "New technologies for fermented milks". Bul Int Dairy Fed, 277, 1992. 40 p.

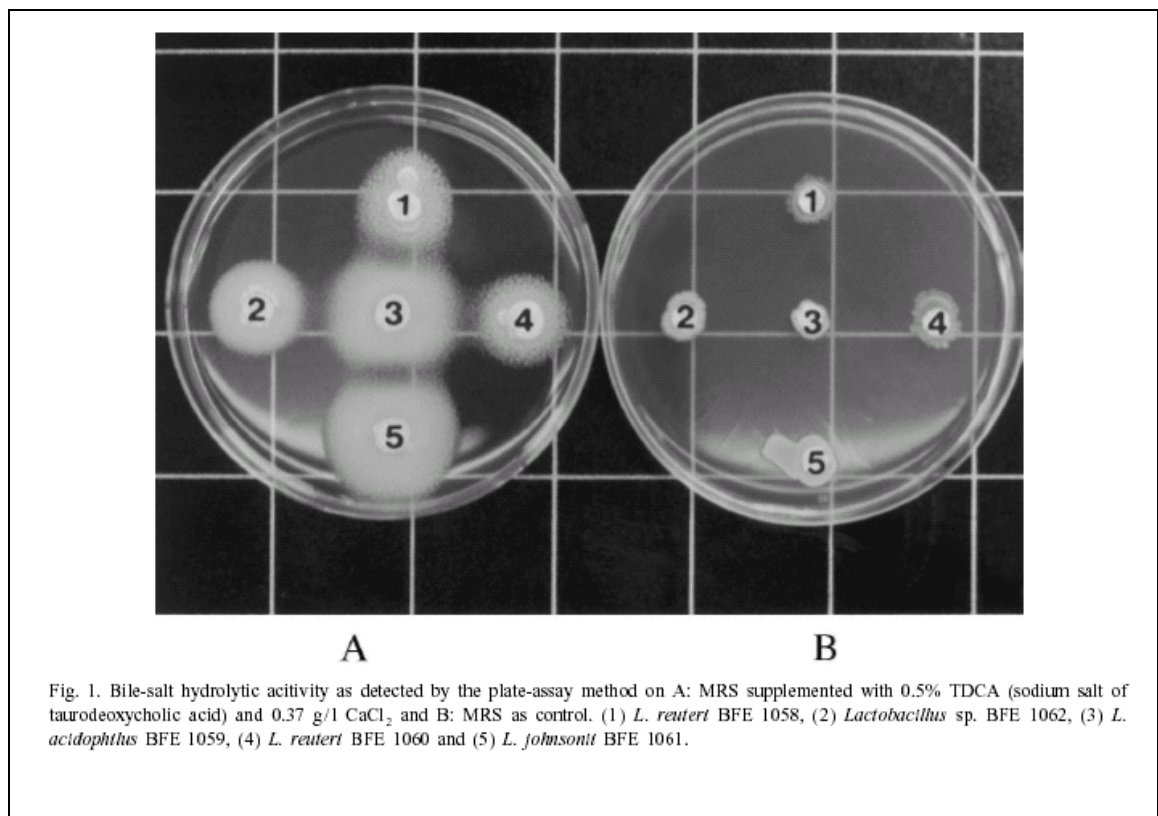
¹² SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A; AND OUWEHAND, AC (eds.). (2004). Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3rd ed., New York: Marcel Dekker, Inc.. ISBN 0-8247-5332-1.

¹³ SCHILLINGER, U. "Bacteriocins of lactic acid bacteria." Biotechnology, Food Quality, 1990. p 55-74

El precitado autor, adiciona que Estas bacteriocinas son pequeñas proteínas simples o complejas, o de origen proteico, con amplio espectro de acción antimicrobiano, pesos moleculares, origen genético y propiedades bioquímicas Su actividad inhibitoria es sobre bacterias Gram-positivas.

El mismo autor citando a Abbe et al. (1995), plantean que este comportamiento se explica por la presencia en las bacterias Gram-negativas de una capa adicional, llamada “membrana exterior”, compuesta por fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos que es impermeable a las bacteriocinas, mientras que Stevens et al.¹⁴, demostraron que algunas especies de *Salmonella* y otras bacterias Gram-negativas pueden tornarse susceptibles a algunas bacteriocinas como la nisina, después de someterlas a un tratamiento que cambie la permeabilidad de dicha membrana externa (Fig. 1).

Figura 1. Actividad antimicrobiana de diferentes cepas de *Lactobacillus*



FUENTE: M. du Toit et al. (1998).

¹⁴ Stevens, KA, et al, TR . “Nisin treatment for the inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria”. Appl Environ Microbiol, 1991. p.p.57, 3613-3615.

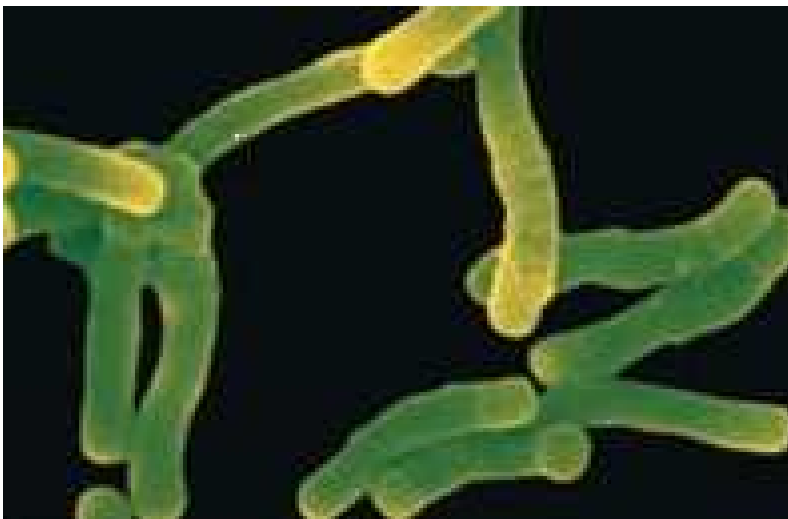
3.2.2. Bífidobacterias. Para Klaver y Van Der Meer ¹⁵ las bífidobacterias constituyen una especie importante de la microflora humana del colon, están presentes durante toda nuestra vida, y se asocian a un estado saludable en humanos.

Cuando se utilizan para fermentar la leche, proporcionan diferentes perfiles de sabor en comparación con aquellos productos que contienen solamente bacterias ácido lácticas.

Holzappel; Wood, ¹⁶ aduce que a medida que los retos tecnológicos relacionados con su viabilidad y su enumeración están siendo superados, las leches fermentadas por estos microorganismos (solos o en combinación con bacterias ácido lácticas) tienen la capacidad de proporcionar productos consistentemente satisfactorios que contienen un gran número de microorganismos viables.

En general, son bastones Gram. positivos y anaerobios estrictos, que frecuentemente tienen necesidades nutricionales especiales y crecen lentamente en la leche. (Figura 2)

Figura 2. Bífidobacterias



Fuente: Leila Kiani, 2006.

¹⁵ KLAVER, F.A.M., VAN DER MEER, R. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile-salt deconjugating activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993. 59, 1120–1124.

¹⁶ HOLZAPFEL, WH; WOOD, BJB (eds.). *The genera of lactic acid bacteria*, 1st ed., London Blackie Academic & Professional. ISBN 0-7514-0215-X.

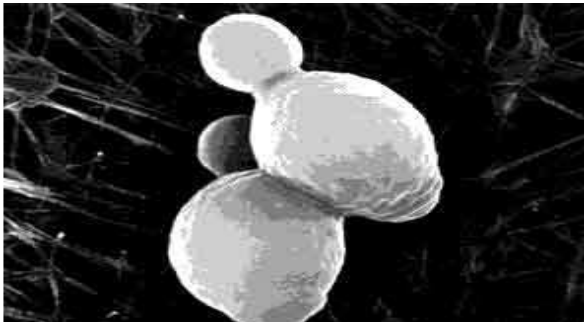
Bouhnik et al¹⁷ afirman que muy pocas cepas se han adaptado lo suficientemente bien a la leche y pueden crecer en número suficiente como para sobrevivir durante la vida de anaquel de las leches fermentadas.

Según Charteris, et al¹⁸ las bifidobacterias difieren de las bacterias ácido lácticas en que no solamente producen ácido láctico sino también ácido acético, como uno de sus principales productos de fermentación, constituyen una de las pocas especies de bacterias predominantes en la microflora del colon a lo largo del ciclo de vida. De hecho, con frecuencia es uno de los grupos de bacterias más numerosos en los bebés alimentados con leche materna.

Para los mismos autores, las funciones de las bifidobacterias endógenas en el colon no se han dilucidado en su totalidad. Sin embargo, se sabe que bebés alimentados exclusivamente con leche materna han tenido una reducción en el riesgo de contraer enfermedades diarreicas en comparación con los bebés alimentados con fórmulas

3.2.3. Levaduras. García Sedano¹⁹, define a las levaduras como hongos microscópicos, que suelen medir de 5 a 10 micras, se consideran como organismos facultativos anaeróbicos, lo cual significa que pueden sobrevivir y crecer con o sin oxígeno. La propagación de las levaduras es un proceso mediante el cual la levadura convierte al oxígeno y al azúcar, mediante un proceso denominado metabolismo oxidativo.(Figura 3)

Figura 3. Fotografía de microscopía electrónica de barrido de *S. cerevisiae*



¹⁷ BOUHNİK, et al. Fecal recovery in humans of viable Bifidobacterium sp. ingested in fermented milk. Gastroenterology.1998. p.p.102, 875– 878.

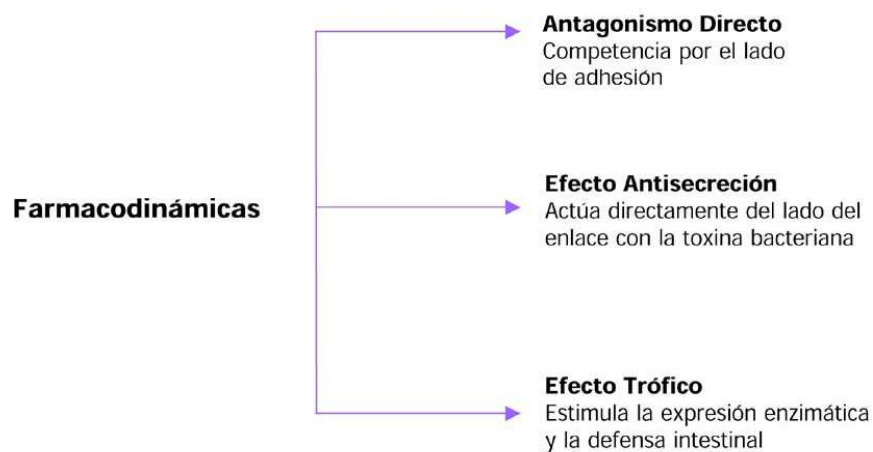
¹⁸ CHARTERIS, W.P., et al. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract. J. Appl. Microbiol. 1998.p.p.84, 759–768.

¹⁹ GARCÍA SEDANO, Roberto. Las Levaduras para la Alimentación de los porcinos (Saccharomyces Cerevisiae).Mexico: Biotecap,2006.p.126.

Agrega el mismo autor²⁰ que el género *Saccharomyces* tiene 16 especies, incluyendo *S. cerevisiae* y *S. boulardii*; de las cuales dos, *S. cerevisiae* y *S. boulardii*, se describen en la literatura como agentes bioterapéuticos. Se ha reportado que estas cepas son eficaces para prevenir la recurrencia de diferentes tipos de diarrea y colitis en humanos. Se ha reportado también que *S. cerevisiae* y *S. boulardii*, son efectivas en el tratamiento de diarrea en niños y en pacientes con enfermedad crítica del intestino. *S. cerevisiae* y *S. boulardii* liberan poliaminas las cuales ayuda a reparar las membranas de la mucosa. Estas poliaminas aumentan la actividad de los ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y de enzimas disacáridos (lactasa, maltasa, sucrasa). Las poliaminas estimulan la reparación de las células intestinales y el crecimiento de la mucosa colónica (Figura 4)

Figura 4. Mecanismos utilizados por las levaduras bioterapéuticas para controlar patógenos

Farmacocinética: resistencia a la acidez gástrica, proteólisis, capaz de alcanzar alta densidad de población en el tracto gastrointestinal



Fuente: INFOALIMETARIA, 2006.

Dixit, Kalpana y Gandhi²¹, reportan que las propiedades benéficas de las cepas de *Saccharomyces spp* están bien documentadas, estos autores manifiestan que Además de su valor nutritivo (ej., provisión de vitaminas del grupo B), las levaduras prebióticas son generalmente resistentes dentro del tracto

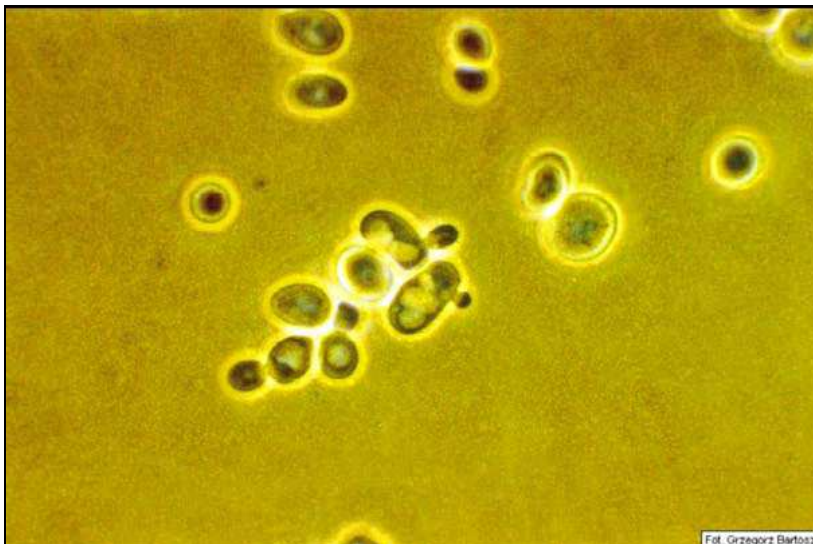
²⁰ Ibid., 127

²¹ DIXIT, KALPANA and GANDHI, D.N. Biotherapeutic properties of probiotic yeast *Saccharomyces* species in fermented dairy foods. INDIA: Microbiology Division, National Dairy Research Institute, Karnal-132001, 2006.p.6.

gastrointestinal y a la mayoría de los antibióticos. Las preparaciones de levadura también se han aplicado exitosamente en combinación con antibióticos, para tratar *Clostridium difficile* – diarrea relacionada, generalmente conocida como diarrea asociada al uso de antibióticos. La cepa *Saccharomyces spp* también puede ayudar a reestablecer la función intestinal normal después de una terapia larga con antibióticos. (Figura 5).

Dixit, Kalpana y Gandhi²², concluyen que las levaduras del tipo *Saccharomyces spp* surgen como microorganismos potencialmente probióticos. Ya existe un aumento marcado en la venta de varias levaduras para productos probióticos. Sin embargo se necesitan aislar más cepas probióticas de *Saccharomyces* y desarrollar nuevos productos con levaduras probióticas

Figura 5. Levadura *Saccharomyces spp*



Fuente: Dixit, Kalpana and Gandhi, D.N. (2006).

3.3 CARACTERÍSTICAS Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

Ahmad²³, identifica los siguientes mecanismos de acción:

3.3.1 Inmuno estimulación. Existe una interacción entre el sistema inmunológico y el epitelio intestinal. El estrés afecta negativamente el sistema inmunológico y produce disminución de las placas linfoides en el mismo.

²² Ibid., p.12

²³ AHMAD, Irshad. International Journal of Poultry Science 5 (6): 593-597, 2006 Asian Network for Scientific Information, 2006. ISSN 1682-8356 ©.

El sistema neuroendocrino está íntimamente relacionado a las respuestas de los sistemas inmunológicos y epiteliales frente al estrés.

Havenar, R. y Huis in't Veld, J.²⁴ han reportado que los probióticos estimulan la inmunidad de los pollos en dos maneras:

- a. La flora probiótica migra a través de la pared intestinal y se multiplica extensivamente (tras locación bacteriana)
- b. Los antígenos que son producidos por la muerte de organismos bacterianos se comportan como opsoninas que estimulan el sistema inmunológico:
 - Estimulación de la actividad de los macrófagos y estimulación de la habilidad fagocítica de microorganismos o moléculas orgánicas
 - Incremento en la producción de anticuerpos usualmente en IgG, IgM e interferón (es un agente antiviral no específico)
 - Incremento localizado de anticuerpos en la superficie de la mucosa tal como en la pared intestinal usualmente IgA

3.3.2 Estimulación del crecimiento. Sobre el tema los mismos autores, comentan que anteriormente se pensaba que la inclusión de antibióticos en las dietas no influye en la estimulación del crecimiento de las aves. Posteriormente se demostró que la adición de probióticos en la dieta produce efectos positivos como promotores de crecimiento. Actualmente se ha demostrado que el crecimiento de los pollos es promovido con el incremento de las dosis de probióticos de 0.5 a 1.5 gramos por 10 kg de alimento.

3.3.3 Efecto de los probióticos sobre la conversión alimenticia. El efecto de los probióticos sobre la conversión alimenticia es controvertido. Algunos estudios han demostrado que la suplementación con probióticos en el alimento de pollos mejora la conversión alimenticia mientras que otros sugieren que no existe tal efecto. Ahamad, no pudo detectar ninguna diferencia en la conversión alimenticia de pollos cuando fueron comparados con el control.

Según Fuller (1989) e Impey y Mead (1989) estos pueden agruparse de la siguiente forma según los mecanismos de acción:

²⁴ HAVENAR, R. & HUIS IN'T VELD, J.. The lactic acid bacteria: Vol. 1. The lactic acid bacteria in health and disease. d. B. J. Wood. 1994 p. 151

- Supresión de microorganismos patógenos: Por producción de sustancias antimicrobianas, competencia por nutrientes y competencia por los sitios de adhesión. Muy importantes en la alimentación de lechones destetos.
- Alteración del metabolismo microbiano y del hospedero: Por producción de enzimas que intervienen en la digestión, disminución de la producción de sustancias tóxicas y por el mejoramiento de la función de la pared intestinal.
- Mejoramiento de la respuesta inmune del hospedero: Por aumento de los niveles de anticuerpos y por incremento de la actividad de los macrófagos.
- Competencia con el hospedero por nutrientes: Consumo de glucosa y consumo de aminoácidos.

Zalashko²⁵ afirma que las bacterias ácido lácticas con características probióticas producen metabolitos que afectan a los microorganismos especialmente los patógenos. El ácido láctico producido por estas bacterias reduce el pH en el contenido luminal lo cual se observa perfectamente en el estómago de cerdos neonatales el ácido acético y el peróxido de hidrógeno producido por cepas heterolácticas son tóxicos para algunas bacterias (comprobado en experimentos “*in vitro*” con *Salmonella* y *Clostridium*, mas los resultados de las pruebas “*in vivo*” son aún discutibles

Spencer y Chesson²⁶ afirman que los probióticos asociados a la superficie de la mucosa podían competir con otros microorganismos por ocupar los nuevos sitios de unión disponibles. La exclusión de patógenos requiere que las bacterias probióticas tengan la habilidad de reconocer y unirse al mismo epítipo de éste o posiblemente a un lugar muy cercano a él, lo cual requiere de una gran especificidad.

De igual manera, indican que entre los mecanismos de acción de los probióticos, se destacan: a) reducción del pH intestinal debido a los ácidos excretados por los microorganismos probióticos, lo que evita la proliferación de los patógenos; b) efecto competitivo de los probióticos que puede deberse a la ocupación de los lugares de colonización; c) capacidad de secreción de los antibióticos naturales por los lactobacilos y bacterias bifidogénicas, que pueden tener un amplio espectro de actividad, entre ellos: lactocinas, helveticinas, lactacinas, curvacinas, nicinas y bifidocinas. Se ha observado que la administración oral de bacterias

²⁵ ZALASHKO M.V; ANISIMOVA HI and BORTKEVICH L.G. Antimicrobial and immunomodulatory activities of *L. acidophilus* Ke-10. Prikl biokhim Mikrobiol 1997.p.p.33:305-309

²⁶ SPENCER, R.J., CHESSON, A., The effect of *Lactobacillus* spp. on the attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to isolated porcine enterocytes. J. Appl. Bacteriol. 1994 77, p.p.215–220.

probióticas tiene un efecto sobre el sistema inmunológico del intestino, lo que aumenta las posibilidades para mayor competencia por los receptores y por sitios de adhesión de la mucosa intestinal, mayor inhibición del crecimiento de algunas especies de enteropatógenos, aumento de la competencia por nutrientes con otra flora intestinal, mayor prevención de transposición bacteriana, y aumento de la secreción de mucina protectora del intestino.

Para Marquinad²⁷, los efectos anteriormente mencionados se han observado sobre en estudios con microorganismos específicos. Por ejemplo, la cepa RC14 de *Lactobacillus reuteri* produce una sustancia surfactante que reduce la capacidad de adhesión a la mucosa intestinal de *Clostridium difficile*, patógeno oportunista intestinal. Así mismo, la cepa CRL-431 de *Lactobacillus casei* ha reducido microorganismos patógenos del intestino, como cepas Enterotoxigénicas de *E.coli*, *Lysteria monocitogenes*, *Shigella sunnei* y *Salmonella typhimurium*, tanto en estudios *in vitro* como en animales *in vivo*. La producción de sustancias antimicrobianas, como las bacteriocinas por parte de los probióticos, ha mostrado también tener efecto positivo frente a la gastroenteritis producida por cepas de *E. coli* y *Campylobacter*; reduciendo considerablemente la incidencia. Específicamente, las bifidobacterias tienen el potencial para inhibir el crecimiento de patógenos, reducir el amonio en la sangre, ayudar en la disminución del colesterol sanguíneo, estimular el sistema inmune, producir vitaminas del complejo B y restaurar la flora intestinal después del empleo de antibióticos.

Cagigas Reig²⁸ indica que los probióticos estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo. Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprofilácticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. Para que un microorganismo pueda realizar esta función de protección tiene que cumplir los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino. Es importante que estos microorganismos puedan ser capaces de atravesar la barrera gástrica para poder multiplicarse y colonizar el intestino.

Para el mismo autor, El efecto protector de estos microorganismos se realiza mediante 2 mecanismos: el antagonismo que impide la multiplicación de los patógenos y la producción de toxinas que imposibilitan su acción patogénica. Este antagonismo está dado por la competencia por los nutrientes o los sitios de

²⁷ MARQUINAD., SANTOS, A. Probióticos, Prebióticos y Salud. Sociedad Española de Microbiología. Actualidad 2001; p.p. 32: 24-26

²⁸ CAGIGAS REIG, Ada Lydia. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa, En Revista Cubana Aliment Nutr 2002;16(1):63-8. Recibido: 9 de noviembre del 2001. Aprobado: 10 de diciembre del 2001 Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Infanta No. 1158, municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba).

adhesión. Mediante la inmuno-modulación protegen al huésped de las infecciones, induciendo a un aumento de la producción de inmunoglobulinas, aumento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos.

Mejía Rodríguez et al²⁹ menciona que, Las bacterias ácido lácticas utilizan varios azúcares como la glucosa y la lactosa para la producción de ácido acético mediante la fermentación. Algunas bacterias conocidas como anaerobias facultativas y otras como anaeróbicas obligadas, pueden colonizar transitoriamente el intestino y sobrevivir durante el tránsito intestinal; además por su adhesión al epitelio, modifican la respuesta inmune local del hospedero.

De la misma manera el autor asevera que estas bacterias presentes en el yogur y otras leches fermentadas se caracterizan por transformar mediante la fermentación algunos azúcares, principalmente la lactosa transformándose en ácidos orgánicos como el láctico y el acético. La ingesta regular de leches fermentadas puede resultar beneficiosa para prevenir enfermedades infecciosas comunes por ingestión de patógenos.

sobre los síntomas de intolerancia a la lactosa, afirma que se ha comprobado que algunos probióticos la mejoran. En un estudio en niños suplementados con *Lactobacillus casei* se observó un aumento de la IgA con una menor duración de la diarrea inducida por rotavirus. Con el consumo de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* se obtiene un aumento de la actividad fagocítica de los granulocitos circulantes, por su parte la ingesta de yogur incrementa la producción de citoquinas. Otra función de los probióticos es la de disminuir la producción de enzimas como la b-glucuronidasa, la b-glucosidasa, la nitroreductasa y la ureasa. Estas enzimas participan en la activación metabólica de los mutágenos y carcinógenos.

3.3.4. Diversidad de probióticos. Fuertes, expresa que "en el sistema digestivo se ha estimado que habitan cientos de especies de bacterias. Algunas de estas son llamadas bacterias beneficiosas, mientras que otras menos deseables son bacterias patógenas, productoras de enfermedades, que a menudo invaden ciertas partes de nuestro organismo"³⁰.

Estas bacterias beneficiosas se clasifican y relacionan en el Cuadro 1.

²⁹ MEJÍA RODRÍGUEZ, José Andrés, Et al. Obtencion de cepas de Lactobacillus. Caracterizacion in-vitro como potenciales probioticas. En Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias. 2007. 57.

³⁰ FUERTES, A. Los probióticos. Bacterias beneficiosas y bacterias indeseables (en línea) 2000. disponible en: http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo_n_probioticos.htm --> [consultado : 20 de Enero del 2008.

Cuadro. 1 Principales probióticos

Género <i>Lactobacillus</i>	Género <i>Saccharomyces</i>	Género <i>Leuconostoc</i>
<i>Lb. johnsonii</i> <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. kefirgranum</i> <i>Lb. helvetius</i> <i>Lb. delbrueckii sp. Bulgaricus</i> <i>Lb. kefiranofaciens</i>	<i>S. cerevisiae</i> <i>S. unisporus</i>	<i>Ln. latis</i> <i>Ln. mesentroides sp. Mesentroides</i> <i>Ln. mesentroides sp. Cremoris</i> <i>Ln. mesentroides sp. dextranicum</i>
<i>Lb. casei</i> <i>Lb. rhamnosus</i> <i>Lb. zeae</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. buchneri</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. parakefir</i>	Género <i>Kluyveromyces</i> <i>K. marxianus sp. Marxianus</i> <i>K. marxianus sp. lactis</i>	Otros géneros <i>Candida kefir</i> <i>Torulaspota delbrueckii</i> <i>Geotrichum candidum Link</i>
	Género <i>Lactococcus</i>	Otras bacterias
	<i>L. lactis sp. Lactis</i> <i>L. lactis sp. Cremoris</i> <i>L. lactis sp. Lactis biovar diacetyllactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>

Fuente: Pino Santos,

Según Taranto, Médici y Font de Valdez³¹, La utilización de los probióticos como microorganismos que estimulan las funciones protectoras del tracto digestivo, también conocido como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprofilácticos y valioso para prevenir y contrarrestar las infecciones entéricas. Para que un

³¹ TARANTO, María Pía, MÉDICI, Marta y Font de Valdez Graciela. Alimentos funcionales probióticos.

microorganismo pueda cumplir con esta función de protección tiene que poseer características tales como: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda estar vivo en el intestino.

3.3.5 Criterios de selección. Zabala³², asevera que la selección de probióticos se debe hacer con base a determinados parámetros generales y específicos. Los criterios generales de selección son aquellos que no pueden dejar de cumplir los microorganismos seleccionados para uso probiótico como son: Fácil producción; bioseguridad; supervivencia al procesamiento y almacenamiento del producto prebiótico; capacidad de colonizar sobre la superficie del cuerpo en la que debe ser activo; estabilidad genética sin transferencia de plásmidos; no patógenos, tóxicos, ni mutagénicos; provocar estimulación del sistema inmune, pero no inducir reacciones contra el propio probiótico.

De acuerdo con el anterior autor, Entre los criterios de selección específicos para cada probiótico están:

- a) Ser microorganismos GRAS. (Generalmente Reconocidos como Seguros) especies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococos*.
- b) Hacer buena selección de la cepa y su origen.
- c) Ser microorganismos viables.
- d) Tener alta velocidad de crecimiento (tiempo de duplicación menor de 1 hora).
- e) Ofrecer resistencia a la colonización por microorganismos patógenos.
- f) Tener alta producción de ácido láctico y sustancias antimicrobianas.
- g) Capacidad de adherirse a las mucosas y colonizarlas.
 - Resistencia a antibióticos (en caso de emplearse como promotores del crecimiento).
 - Actuar sobre el metabolismo.
 - Estimular la respuesta inmune.
 - Resistencia a enzimas bucales y estomacales.
 - Resistencia a bilis y jugos pancreáticos.
 - Resistencia a elevadas concentraciones de HCl del estómago

Los probióticos preparados de bacterias lácticas seleccionadas para su empleo comercial como aditivos alimentarios y como terapéuticos deben retener a través del tiempo las características por las cuales ellas fueron seleccionadas originalmente (Salminen et al., 1998). Esto incluye características para el crecimiento y supervivencia durante la producción y después del consumo, durante el tránsito a través del estómago y pequeño intestino.

³²ZABALA, Et al. Las bacterias lácticas como microorganismos probióticos (I). Perspectiva Histórica, criterios de selección y efectos probióticos. En: Alimentación, equipos y tecnología, ISSN 0212-1689, Año nº 21, Nº 170, 2002 , p-p. 58-66.

Por otro lado, Huis In't Veld y Shortt, citado por Am, Clin Nutr³³ mencionan que es importante evaluar la estabilidad de estas características durante su fabricación y almacenamiento

Según Nousiainen y Setälä³⁴ (1993) como criterios de selección se debe tener en cuenta primeramente que el microorganismo usado debe ser un representante de la biota intestinal normal, no patógeno y preferiblemente específico del hospedero, resistir el bajo pH y la alta concentración de sales biliares en el estómago, y mostrar resistencia contra las lisozimas y enzimas digestivas del hospedero.

Pluske, Pethick y Hampson³⁵ expresa que es por ello, que una buena cepa de bacterias lácticas probiótica debe crecer y metabolizar rápidamente y existir en alto número en el intestino de los cerdos. Una cepa ideal es aquella que pueda colonizar varias partes del tracto debido a lo cual, la adhesión a la superficie intestinal es deseable así como producir eficientemente ácidos orgánicos y tener propiedades antimicrobianas específicas contra bacterias dañinas, de fácil producción y reproducible a gran escala, retener su viabilidad bajo condiciones de almacenamiento y campo y ser costeable para ser usado como por ejemplo en lechones destetos.

Según Lee y Salminen, citado por Figueroa et al³⁶, El comportamiento ante la acidez del estómago y a la bilis en el intestino delgado proximal, son las primeras características del hospedero, que condicionan la selección de una cepa. La tolerancia a la acidez resulta también importante para la supervivencia de las bacterias probióticas en los alimentos y en las diferentes preparaciones probióticas (). Antes de alcanzar el tracto intestinal, las bacterias probióticas deben primero sobrevivir el tránsito a través del estómago. Allí, la secreción de ácido gástrico constituye un mecanismo de defensa primario contra la mayoría de los microorganismos.

Tuomola et al³⁷ expresa que la tolerancia a ácidos es una de las primeras propiedades evaluadas al seleccionar cepas probióticas. Pruebas “*in vitro*” pueden usarse para evaluar esta tolerancia. los resultados de estas pruebas pueden

³³ AM, CLIN NUTR. Op cit., 28

³⁴ NOUSIAINEN, J. & SETALA, J. (1993) Lactic acid bacteria. Marcel Dekker Inc. P 315 NRC (1979) Nutrient Requirements of Swine. 8th Rev. Edn. National Academy Press, Washington, DC.

³⁵ PLUSKE, PETHICK Y HAMPSON. El Impacto de la Nutrición sobre Desórdenes y Enfermedades Entéricas en Cerdos. *Australia: Murdoch University, 2007.p. 65.*

³⁶ FIGUEROA, Ivonne et al. El beneficio de los probióticos. Mexico: Alfa Editores Técnicos, 2006.p.26.

³⁷ TUOMOLA, E, et al, 2001, Quality assurance criteria for probiotic bacteria.: Am J Clin Nutr., v. 73 (supl), p. 393-398.

predecir la habilidad de las cepas para sobrevivir en condiciones drásticas de acidez. Sin embargo, la demostración “*in vivo*” de la supervivencia a través del estómago humano o animal es más difícil de obtener.

Muchos ensayos “*in vitro*” para evaluar el efecto inhibitorio de los ácidos biliares sobre las cepas probióticas son fáciles de realizar, sin embargo la extrapolación cuantitativa de los resultados obtenidos “*in vitro*” a la actuación del probiótico “*in vivo*” resulta difícil.

3.4 INVESTIGACIONES DEL USO DE PROBIÓTICOS APLICADOS EN CERDOS

Barrow ³⁸ aduce que con respecto a las bacteriocinas, son importantes los estudios “*in vitro*” con *Lactobacillus* y *Streptococcus*. Sin embargo, existen escasos resultados acerca del efecto de tales sustancias en el intestino. A pesar de que los mecanismos antagonistas no están bien claros, existen pruebas de que estos ocurren, así por ejemplo: demostraron la disminución de *E. coli* en el estómago de cerdos alimentados con una combinación de *S. salivarius* y *L. fermentum*.

Guevara Rosania, Mateus Morales y Quintero Pinto, nos proporcionan el siguiente aporte: Un tratamiento con *L. bulgaricus* en cerdos demostró que este microorganismo producía una sustancia capaz de neutralizar el efecto de la enterotoxina liberada por coniformes. Una prueba adicional de las propiedades antienterotóxicas fue obtenida en un experimento con terneros realizado por Schwab et al. (1989). *L. plantarum* produce óxido nítrico de la degradación de la arginina, el cual es esencial para funciones del tracto gastrointestinal como son: bacteriostáticas, estimulación de las defensas inmunes, secreción de mucus, entre otras (Duncan et al., 1995). Las cantidades del óxido liberadas son más que suficientes para controlar *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*

Los probióticos asociados a la superficie de la mucosa podían competir con otros microorganismos por ocupar los nuevos sitios de unión disponibles. La exclusión de patógenos requiere que las bacterias probióticas tengan la habilidad de reconocer y unirse al mismo epítipo de éste o posiblemente a un lugar muy cercano a él, lo cual requiere de una gran especificidad (Chesson, 1991) (Fig. 3).

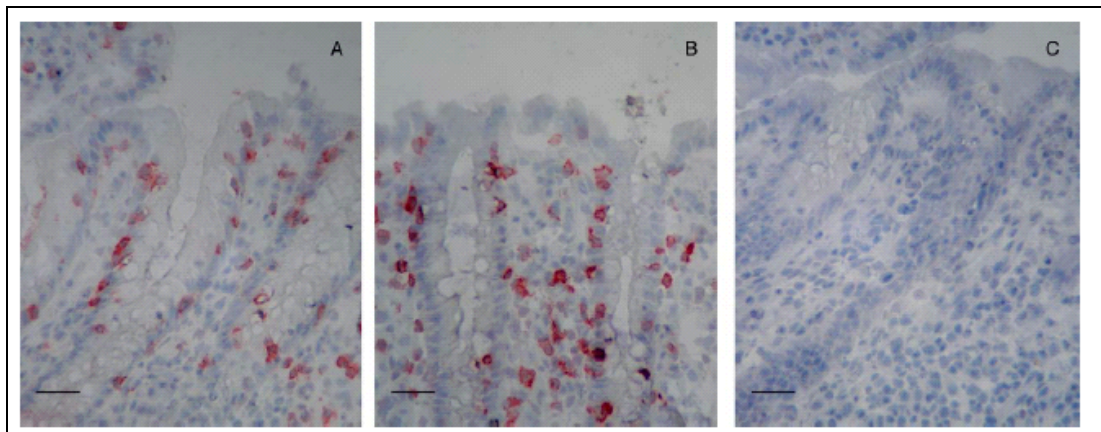
Los *Lactobacillus* que atacan la pared intestinal, pueden colonizar e inocular el contenido luminal. se ha comprobado en el estómago de cerdos por Barrow ³⁹ y en el buche y ciego de pollos por Stavric et al. (1987). Recientemente se ha

³⁸BARROW, P.A. 1992. Probiotics for chickens. In: FULLER, R. *Probiotics, the scientific basis*. London: Chapman & Hall. 1.ed. p.225-

³⁹ Ib id., 252.

demostrado que *L. plantarum* tiene la habilidad de adherirse y colonizar la mucosa intestinal

Figura 3. Acción de bacterias lácticas en el epitelio intestinal



Fuente: Swantje et al. (2006).

Chen et al. (1985) citados por Caja et al.⁴⁰ mencionan que Si las bacterias ácido lácticas (LAB) ocupan los receptores de adhesión en la superficie, se pueden eliminar los microorganismos patógenos que descansan en estos. Este principio es válido si los patógenos y las LAB tienen mecanismos de ataque paralelo. demostraron la adhesión de *E. coli* en células euroepiteliales en humanos usando lactobacilos o fragmentos de pared celular.

B. Ferrer Lorente y J. Dalmau Serra⁴¹ reportan que estos mecanismos de adhesión han sido discutidos ampliamente. Estos autores citan a Jones (1990), quien afirma que existen dos tipos de adhesión la específica y la no específica. La macromolécula superficial de una célula responsable de la unión específica recibe el nombre de adhesina y la especificidad de unión está dada por su composición química. Las adhesinas bacterianas son proteínas, principalmente para las bacterias Gram (+) y algunas Gram (-).

Estas proteínas de adhesión difieren unas de otras en cuanto a peso molecular, composición aminoacídica y estructura cuaternaria y son capaces de reconocer y

⁴⁰ CAJA ET AL. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. Madrid: Curso de actualización FEDNA.2003. p.191.

⁴¹ FERRER LORENTE, B. y DALMAU SERRA, J. Alimentos funcionales probióticos. Valencia: Acta Pediatr Esp 2001; 59: 150-155

unirse a los carbohidratos que constituyen receptores que se encuentran en el glicocalix de las células animales.

Otro mecanismo de adhesión específico resulta de la deposición de matrices de polisacáridos insolubles por algunas bacterias, como es el caso de *Streptococcus mutans* en la superficie de los dientes seguida por la unión del polisacárido extracelular al componente superficial de la bacteria. Se ha visto este tipo de unión también a través de ácidos lipoicos. El papel de estos ha sido discutido en detalle por Tannock ⁴².

Las bacterias Gram (-) como *E. coli* atacan a las células mediante los pili, pero en los *Lactobacillus* se ha visto que se adhieren a la pared intestinal mediante sustancias extracelulares conteniendo polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos lipoicos. Wadstrom et al⁴³. (1987), observaron un número de especies de cepas de *Lactobacillus* del intestino delgado de cerdos las cuales contenían cápsulas de polímeros de carbohidratos que poseían una alta hidrofobicidad. Ellos consideraron la formación de esta cápsula como determinante para la colonización intestinal de los *Lactobacillus* en cerdos.

Este aspecto de la adhesión está aún abierta a discusión, ya que se plantea que las bacterias lácticas con características probióticas tienen que adherirse a las células del borde de brocha intestinal. Esta propiedad permite al microorganismo proliferar *in situ*, pero experimentos actuales muestran que la adhesión no es una condición, ya que se han encontrado evidencias de la acción probiótica de algunos microorganismos que no presentan esa capacidad de adhesión (Vanbelle et al citado por Rasteiro et al)⁴⁴.

Los probióticos pueden afectar el metabolismo del colesterol del hospedero. Gilliland, Nelson and Maxwell ⁴⁵ et al. trataron cerdos alimentados con una dieta rica en colesterol con cepas de *L. acidophilus*, las cuales fueron seleccionadas por su capacidad para crecer en presencia de bilis y asimilar colesterol en experimentos "*in vitro*", y encontraron que el incremento del colesterol en suero fue inhibido.

⁴² TANNOCK G.W. Molecular assessment of intestinal microflora. Am J Elin Nutr. 2001. P 73

⁴³ WADSTROM Et al. *Lactobacillus acidophilus* autolysis inhibit *Helicobater pylori* in Vitro. Curr Microbiol.2001. p39-44

⁴⁴ RASTEIRO et al. Adição de probiótico na mistura mineral eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal (Arch. Latinoam. Prod. Anim.).www.alpa.org.ve/ojs.index/php

⁴⁵ GILLILAND, NELSON AND MAXWELL. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl Environ Microbiol. 1985 February; 49(2): 377-381

Según Fernández et al⁴⁶. (1988) la adición de concentraciones fisiológicas de ácidos biliares libres a un medio de cultivo donde crece el *L. acidophilus*, disminuye el crecimiento del mismo y su actividad antimicrobiana, mientras que Tannock et al., (1989) informan que la actividad hidrolasa sobre las sales biliares en el íleon de ratones fue reducida en un 86% en ausencia de *Lactobacillus* y en un 78% en ausencia de *Lactobacillus* y *Streptococcus*, comparado con animales convencionales. Además de afectar el metabolismo del colesterol y las sales biliares, se ha visto que las bacterias probióticas pueden reducir la producción de compuestos nitrogenados dañinos en el intestino. En un experimento realizado por Hill et al. (1970) a con cerdos alimentados con leche fermentada conteniendo *L. acidophilus* se encontró una menor producción de aminas en el intestino comparado con el grupo control y que el principal sitio de producción de éstas cambió del intestino delgado al ciego. En un experimento posterior, estos autores realizaron una prueba “*in vitro*” y encontraron que *E. coli* es la productora de aminas más eficiente en cerdos.

Por otro lado, la ingestión de bacterias lácticas las cuales producen y liberan enzimas hidrolíticas, ayudan a la digestión en la etapa temprana de vida de terneros y cerditos.

Collington; Parker y Armstrong⁴⁷ afirman que al alimentar cerdos con antibióticos o bacterias lácticas incrementan las actividades de la lactasa y sacarasa en la mucosa del intestino delgado con ambos tratamientos, por lo que se pudiera pensar que el efecto no fue directo, sino por una disminución de la producción de metabolitos por parte de las bacterias dañinas las cuales irritan la mucosa y afectan el tiempo de vida de los enterocitos.

Según Nagura, Nakane y Brown “El tejido linfático asociado al intestino delgado constituye la primera barrera de defensa específica del hospedero contra la exposición a antígenos de bacterias patógenas y otros antígenos de la dieta. Las inmunoglobulinas IgA e IgG son el principal mecanismo de protección específica”⁴⁸.

⁴⁶ FERNANDEZ MURGA, María L. DE RUIZ HOLGADO, Aída P. and DE VALDEZ, Graciela F. Survival Rate and Enzyme Activities of *Lactobacillus acidophilus* Following Frozen Storage. Tucumán, Argentina. June 1998, Pages 315-319

⁴⁷ COLLINGTON, G. K; PARKER, D. S. AND ARMSTRONG, D. G. The influence of inclusion of either an antibiotic or a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. En: British Journal of Nutrition 64:59-70 Cambridge University Press Copyright © The Nutrition Society 1990

⁴⁸ NAGURA, Hirosh,. NAKANE, Paul K and BROWN, William R. Translocation of Dimeric IgA through Neoplastic Colon Cells *in Vitro* The Journal of Immunology, 1979, p.p. 123: 2359-2368

Los macrófagos y las células citotóxicas son los responsables para las reacciones de inmunidad mediada por células en el intestino. Es obvio, que la biota intestinal y Berg and Savage⁴⁹ el tejido linfoide interactúan juntos, los anticuerpos regulan la colonización de patógenos en el epitelio y ciertas bacterias indígenas pueden existir en estrecha asociación con estos anticuerpos a la mucina, contribuyendo al efecto defensivo. Además, se cree que la biota intestinal estimula la defensa inmune del tejido linfoide aunque no se conoce cómo el sistema inmune puede distinguir entre bacterias indígenas y patógenas. Se especula que de cierto modo la biota indígena tiene antígenos comunes con el hospedero.

Estudios más recientes aseguran que el mecanismo de fagocitosis se activa e incrementa en los tratamientos con bebidas lácteas enriquecidas con *Lactobacillus* y que esto va acompañado de la producción de varias citoquinas como el Interferon, Interleuquina 12 y la Interleuquina 10 (Molin, 2001).

Para sobrevivir y colonizar el tracto gastrointestinal de los cerdos, las bacterias probióticas deben expresar tolerancia alta a ácido y a bilis y tener la habilidad de adherirse a las superficies intestinales Kirjavainen et al⁵⁰, afirma que Sin embargo, probar *in vivo* estas propiedades resulta caro y consume tiempo, además de que requiere aprobación por comités éticos. Por consiguiente, la necesidad de contar con pruebas "*in vitro*" fiables, requiere de métodos relativamente sencillos para la selección de cepas prometedoras.

Dunne et al.⁵¹, en sus estudios evaluaron la actividad antimicrobiana de diferentes cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* aisladas de íleon de cerdos contra un amplio rango de bacterias indicadoras, que incluyó cepas de *Enterococcus*, *Clostridium*, *Pseudomona* y *E. coli*. Los resultados del ensayo arrojaron muy buena inhibición contra un gran número de los microorganismos indicadores.

Los resultados beneficiosos de la administración eficaz de probióticos en el alimento a los cerdos conllevan a una salud general reforzada, aumento más rápido de la tasa de crecimiento como resultado de una nutrición mejorada, y aumento en la producción de carne, es decir, hay una mejora notable de los parámetros zootécnicos (Spyridon, 2006).

⁴⁹ BERG and SAVAGE. Immune responses of specific pathogen-free and gnotobiotic mice to antigens of indigenous and nonindigenous microorganisms. *Infect Immun.* 1975 February; 11(2): 320–329

⁵⁰ MINNA; Rinkinen. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization?. *Veterinary Microbiology* 92. 2003 p. 111–119

⁵¹ Dunne, C., 2001. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflamm. Bowel Dis.* 7, 136– 145.

Algunos estudios en cerdos en el período de lactancia y las primeras semanas post-destete, que es donde ocurren en la producción porcina las mayores pérdidas como consecuencia de factores estresantes, con un promedio de pérdida del 10 al 25% de las crías, ya que estos factores interfieren en el establecimiento de una microbiota gastrointestinal normal y alteran su equilibrio, entre otros efectos, lo que ocasiona mayor incidencia de enfermedades y mortalidad, así como una disminución de los niveles de producción esperados (Vitini)⁵².

Los cerditos recién nacidos y jóvenes son más susceptibles al estrés, debido entre otras cosas a que su tracto gastrointestinal (TGI) es estéril al nacimiento, presentan una falta de capacidad adecuada para la acidificación (producción de HCl) en el estómago, nacen aganmaglobulinémicos y tienen poco desarrollo de su mecanismo termorregulador y enzimático en el sistema digestivo (Sainsbury, 1993).

La mortalidad en los cerditos lactantes es aproximadamente del 20% o más dependiendo de las condiciones de manejo y del tipo de explotación, ya sea tecnificada o tradicional. Un 41.5% de la mortalidad corresponde a enfermedades diarreicas y de ellas un 25.5% ocasionadas por *E. coli*. Una de las vías para disminuir la mortalidad de los cerditos recién nacidos lo constituye el uso de probióticos en forma preventiva o profiláctica. Se obtuvieron resultados alentadores cuando se utilizó en una granja porcina una mezcla de *Enterococcus faecium* y *Lactobacillus acidophilus* aislados de cerdo, se observó una diferencia en los parámetros zootécnicos estadísticamente significativa ($p > 0.05$) en favor del grupo tratado (Nousiainen y Setälä⁵³).

Las preparaciones probióticas pueden ser administradas inmediatamente después del nacimiento de los cerditos, en períodos en que el productor espera la aparición de enfermedades (preventivo o curativo) o mezcladas con el alimento por largos períodos de tiempo. Los microorganismos pueden ser ingeridos oralmente o mediante su adición en el agua o el alimento, el cual a su vez puede estar peletizado o molido. Las preparaciones pueden administrarse heladas, liofilizadas, en forma de pastas (Tournout, 1989), o como productos de la fermentación con o sin organismos viables (Pollman y Bandyk, 1984).

⁵² VITINI, E., et al, Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. Biocell 2000 2p.4, 223–232.

⁵³ NOUSIAINEN, J. & SETALA, J. (1993) Lactic acid bacteria. Marcel Dekkel Inc. P 315 NRC (1979) Nutrient Requirements of Swine. 8th Rev. Edn. National NOUSIAINEN, J. & SETALA, J. (1993) Lactic acid bacteria. Marcel Dekkel Inc. p Academy Press, Washington, DC. Academy Press, Washington, DC.

La forma de presentación dependerá de la conveniencia para su distribución y administración, por ejemplo: si la actividad metabólica es necesaria para su acción efectiva, los microorganismos deben permanecer viables.

Los probióticos pueden ser suministrados a los cerdos en diferentes edades en dependencia de su función o mecanismo de acción. Si se supone que la microbiota indígena normal del cerdo no ha sido establecida, preparaciones conteniendo sólo *Lactobacillus* son más adecuadas debido a que puede ser iniciada la colonización secuencial natural del intestino. Tal situación puede ocurrir cuando los cerditos son movidos directamente después del nacimiento hacia lugares escrupulosamente limpios o por ejemplo después de un tratamiento con antibióticos (De Angelis et al., 2006).

Las dosis terapéuticas más frecuentemente empleadas en cerdos recién nacidos son de 10⁹ a 10¹² microorganismos por animal por día o de 10⁶ a 10⁷ por gramo de alimento. Cuando se necesita alcanzar un cierto nivel de bacterias en el intestino delgado, se debe tener en cuenta la muerte en el estómago y la dilución provocada por las enzimas digestivas. Los estudios realizados por Jonsson (1985) en cerdos a los que se le colocaron cánulas en la parte anterior y posterior del intestino delgado demostraron que el número de *Lactobacillus* por gramo de digesta es 4-5 veces superior en el íleon que en la parte anterior del intestino delgado.

Lo fundamental en las dosis es que el número de microorganismos administrado debe ser suficiente para provocar una respuesta beneficiosa en el hospedero y encontrarse en un nivel significativo con relación a la biota indígena o alcanzar este nivel por crecimiento dentro del tracto digestivo. Hay que tener en cuenta, además, que los niveles de aplicación no pueden ser tan altos que induzcan problemas digestivos. Para ejercer algún efecto beneficioso, las bacterias o posiblemente las sustancias activas deben alcanzar el sitio adecuado, por lo cual primero que todo ellas deben ser consumidas. Esto significa que las preparaciones deben ser apetecibles o al menos no repulsivas al cerdo ya que los cerdos son muy sensibles al sabor y a la textura de sus alimentos (Haupt et al., 1979).

Letellier., Messier, Lessard; y Quessy ⁵⁴ utilizaron diferentes estrategias para reducir la carga de *Salmonella* spp. al ser evaluados en cerdos. Probióticos, prebióticos, vacunación y acidificación del agua potable fueron determinados como medios para reducir la *Salmonella*. La acidificación del agua, usando inmunoglobulinas específicas de yema de huevo, y vacunación con una endotoxina vacunal no redujeron la excreción de *Salmonella* en cerdos infectados experimentalmente. La reducción de *Salmonella* en la colonización de nódulos de ninfa mesentéricos fue observado con el uso de bambarmicina y una vacuna viva

⁵⁴ LETELLIER, A.; MESSIER, S. LESSARD, L.; QUESSY, S. 2000. Assessment of various treatments to reduce carriage of Salmonella in swine. Can. J. Vet. Res. 64(1):27-31.

atenuada. La reducción en la excreción de *S. typhimurium* también fue observada después de la suplementación con fructooligosacáridos en el agua potable. El uso de y probióticos y prebióticos pareció cambiar en la microflora fecal del cerdo como fue confirmado por la coloración de Gram de raspados rectales.

Para este estudio fueron utilizados lechones que tempranamente fueron destetados y libres de *Salmonella*, lo cual fue confirmado mediante cultivo microbiológico de material fecal, los cuales, fueron aleatoriamente asignados a cualquier control o uno de los grupos de los tratamientos. Cada grupo estaba compuesto de 10 cerdos. Los signos clínicos fueron monitoreados diariamente por un veterinario.

Los tratamientos consistieron en: acidificación del agua (0.02% de ácido fórmico); administración de probióticos (Ferlac-2, Rosell Institute, Montreal, Québec; 2x 10 a la 9 UFC/ día, compuestas de *Lactobacillus acidophilus* (4%), *L. rhamnosus*(65%), *Enterococcus faecium* (25%), *Streptococcus thermophilus* (5.9%) y *L. bulgaricus* (0.1%); Flavomocina (Hoechst Canada, concentración final 0.5 g./ tonelada de alimento); fructoolihgosacáridos (FOS) (1% en agua o alimento); e inmunoglobulinas específicas de yema de huevo (1g./ lechón/ día en el alimento, Vetco Inc., Québec), fueron usados en diferentes grupos desde el día 0 (a los 21 días de edad) hasta el día 28. Los otros dos (2) grupos también fueron inmunizados con una endotoxina vacunal (Endovacbovi, Bayer,USA; 2 mL.vía intramuscular) o una vacuna viva atenuada de *S. choleraesuis* (SC54, *S. choleraesuis* cepa 54, Boehringer, Iowa, USA; un atenuado homólogo derivado de *S. choleraesuis* cepa 38, fue aislado a través del paso de neutrófilos porcinos y curados de plásmidos de virulencia de 50-kb, sin evidencia de reversión después de las evaluaciones de laboratorio y de campo; 2 mL., vía intranasal) al día 0. El grupo control fue no suplementado y cada grupo fue colocado por CEPARado bajo condiciones ambientalmente controladas.

Para la infección experimental, una cepa de *Salmonella typhimurium*, aislada de un cerdo septicémico (Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Montreal, Québec) fue usada. Esta cepa fue inoculada en el caldo nutritivo (NB, Difco, USA) e incubada a 37 grados centígrados por 18 horas. El cultivo inicial fue usado para inocular un tubo fresco NB (1:100). Este cultivo fue incubado a 37 grados centígrados y una fase log de la bacteria fue usada para el desafío. La dosis de 10 a la 7 UFC fue suministrada oralmente a cada lechón en los diferentes grupos 14 días después de comenzado el tratamiento.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el 70% de los cerdos del grupo control fueron colonizados por *Salmonella typhimurium* en el intestino y el 60% fueron infectados en nódulos de nina mesentéricos (NLM). No hubieron diferencias significativas en el número de *S. typhimurium* en NLM entre los diferentes grupos. Conteos bacteriales de menos de 30 UFC fueron observados en los NLM recogidos para la evaluación cuantitativa.

Los prebióticos tales como (FOS) fructooligosacáridos y flavomicina fueron asociados con una tendencia, aunque no estadísticamente significativa, al reducir la colonización de *S. typhimurium* solamente por unos pocos días después de la infección experimental, pero también se observó una tendencia disminuir la presencia de la bacteria en los NLM. La presencia de los FOS en el agua potable también tenía la tendencia a reducir los niveles de colonización, mas este efecto no se observó cuando FOS fue suministrado en el alimento.

Los probióticos tales como Ferlac-2 levemente redujeron la presencia de la bacteria en NLM y otros tejidos; sin embargo, no fueron observados efectos en la colonización y solamente una leve reducción de la carga bacterial fue observado cuando fue suministrado en el alimento. El uso de FOS y de Ferlac-2 juntos en el alimento no tenían ningún efecto en la infección de *Salmonella* en cerdos.

El uso de probióticos y prebióticos indujeron cambios en la microflora del colon. Una predominante microflora Gram – positiva fue observada en los cerdos suplementados con FOS , Ferlac-2 o FOS en combinación con Ferlac-2.

Menezes Coppola y Gil ⁵⁵, señalan que lechones tratados con *B. lactis* HN109 presentaron una disminución de la diarrea causada por la asociación de Rotavirus y *E. coli.*, juntamente con el aumento de los títulos de los anticuerpos de contra patógenos específicos en el tracto gastrointestinal, de la concentración de neutrófilos sanguíneos y de la respuesta proliferativa de los linfócitos T.

Hellín Doyle ⁵⁶, indica que entre los efectos positivos de los probióticos en cerdos están los siguientes:

- *Lactobacillus* y *Bifidobacteria* producen un aumento creciente del peso y una disminución de la mortalidad en lechones.
- *Lactobacillus casei* suministrado a lechones, se adhirió a la mucosa intestinal y produjo ácido láctico, disminuyendo el pH. Estos lechones consumieron más leche y ganaron más peso.
- *Lactobacillus casei* mejoró el crecimiento de cerdos y disminuyó la diarrea y demostró ser más efectivo que los antibióticos subterapeúticos.
- Enteracido un probiótico que contiene *Lactobacillus acidophilus* y *Sttreptococcus faecium*, adicionado al alimento para lechones destetados estimuló el crecimiento y la actividad del sistema digestivo.

⁵⁵DE MENEZES COPPOLA Mario y GILL TURNES; Carlos Probióticos y respuesta inmune, en la revista Ciencia Rural, Santa María, Brasil. V.34, n 4, p. 1297- 1303, jul.- ago.

⁵⁶ M. HELLÍN DOYLE, Alternatives to Antibiotic Use For Growth Promotion in Animal Husbandry”, Food Research Institute, University of Wisconsin- Madison, April 2001

- Adición de *Streptococcus faecium* en dietas para lechones incrementó la ganancia de peso y la eficiencia del alimento.
- Mezclas de *Lactobacillus* spp. y *Streptococcus* spp. incrementaron el crecimiento y algunos parámetros de función inmune en lechones.
- Harina de células de bacterias digeridas de *Brevibacterium lactofermentum* disminuyó la incidencia y la gravedad de diarrea en lechones.
- Lechones alimentados con *Bacillus coagulans* tuvieron una mortalidad más baja y mejoraron la ganancia de peso y la conversión alimenticia que los no suplementados y que actuaron tan bien o mejor que los lechones alimentados con antibióticos subterapéuticos.
- Cenbiot un probiótico que contiene *Bacillus cereus*, mejoró la ganancia de peso y la conversión alimenticia en lechones jóvenes destetados y también disminuyó la incidencia de diarrea tan bien como la adición de antibióticos subterapéuticos.
- El probiótico Biomate 2B Plus (*B. licheniformes* y *B. subtilis*) incrementaron la eficiencia del alimento y la de peso en lechones más que un antibiótico.
- Lechones alimentados con el probiótico *Bacillus toyoi* o una mezcla de *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium* tuvieron una ganancia de peso significativa comparada con aquellos que recibieron antibióticos en su alimento.
- *Saccharomyces cerevisiae* y *B. cereus* var. *toyoi* fueron encontradas al aumentar el transporte de nutrientes en el yeyuno de cerdos.
- *Enterococcus faecium* 18C23 fue encontrada al inhibir la adhesión de *E. coli* enterotoxigénica en un mucus intestinal pequeño de lechones.
- Un cultivo de exclusión competitiva mucosal (originalmente en cerdos sanos) y alimentados los lechones a partir del primer día de nacimiento redujeron significativamente el número de *Salmonella choleraesuis* y *E. coli* detectados en tejidos de intestino y heces después de hacer desafíos de dosis de estos patógenos.

Pluske y Pethick⁵⁷ señalan que un gran número de especies de bacterias comensales y patogénicas residen en el tracto gastrointestinal de aves y cerdos. Las bacterias patogénicas pueden ocasionar enfermedad, morbilidad y mortalidad. Un número elevado de diversos géneros y especies bacterianas están implicadas en estos procesos. Cada uno de estos patógenos tiende a colonizar una parte diferente del tracto gastrointestinal, lo que generalmente se asocia a una determinada edad y tipo de animal. Tomando como ejemplo la especie porcina, las colibacilosis postdestete originadas por *Escherichia coli* (*E. coli*) afectan específicamente al intestino delgado en los primeros 3-10 días tras el destete.

⁵⁷PLUSKE y PETHICK El impacto de la nutrición sobre desórdenes y enfermedades de tipo entérico en porcino. Division of Veterinary and Biomedical Sciences .Murdoch University, Murdoch WA 6150, Australia.2005

3.5 INVESTIGACIONES DEL USO DE PROBIÓTICOS APLICADOS EN AVES

Vicente et al⁵⁸, expone que “Los probióticos (*Lactobacillus* spp) redujeron de forma significativa la mortalidad ($p < 0.01$) comparado con los controles de la misma forma también se encontró un incremento del peso corporal 2.06% y reducción de la tasa de conversión alimenticia (3.5%)”.

Murry; Hinton y Buhr⁵⁹, en una investigación sobre el tema indican que Los Resultados mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre el peso corporal final y el promedio de ganancia de peso como efecto de los dos tratamientos (grupo control dieta mas coccidiostáticos mas antibióticos) y el grupo de estudio dieta mas 0.10% de probiotico *Lactobacillus*.

La cantidad de alimento ingerido y la rata de conversión alimenticia entre los 22 al 42 días de edad fue menor ($p < 0.001$) en los pollos alimentados con la solución probiótica comparado con el control.

La población de *Lactobacillus* encontrados en la cloaca fue más alta $p < 0.002$ y la población de *Clostridium perfringens* fue mas baja ($p < 0.002$) para los pollos que recibieron la solución en la dieta la solución probiotica con respecto al control. La población de *Clostridium jejuni* encontrada en la canal de los pollos suplementados con el probiotico tendió a ser mas baja con respecto al control $p < 0.11$ (dieta base sin coccidiostato y antibiótico) estos resultados sugieren que la dieta suplementada con el probiotico para mejorar el crecimiento para pollos produjo similares resultados al ser comparada con la dieta suplementada con antibióticos y coccidiostatos y además con una mas baja conversión alimenticia. También el probiotico vegetal redujo las poblaciones de *Clostridium perfringens* y *Clostridium jejuni* en pollos listos para el mercadeo.

KyungWoo Lee, Soo Kee Lee y Bong Duk Lee⁶⁰, reportan que los efectos del *Aspergillus oryzae* sobre el desempeño de aves de postura y pollo asadero son analizados por estos autores, concluyen que el *Aspergillus oryzae* tiene también

⁵⁸ VICENTE et al Effect of a *Lactobacillus Spp*-Based Probiotic Culture Product on Broiler Chicks Performance under Commercial Conditions. International Journal of Poultry Science 6 (3): 154-156, 2007. ISSN 1682-8356

⁵⁹ MURRY, A.C. HINTON, A. and BUHR, R.J.. Effect of Botanical Probiotic Containing *Lactobacilli* on Growth Performance and Populations of Bacteria in the Ceca, Cloaca, and Carcass Rinse of Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 5 (4): 344-350, 2006. ISSN 1682-8356

⁶⁰ LEE ,KyungWoo; LEE Soo Kee and Bong Duk Lee. *Aspergillus oryzae* as Probiotic in Poultry - A Review. International Journal of Poultry Science 5 (1): 01-03, 2006. ISSN 1682-8356© Asian Network for Scientific Information, 2006.

efectos sobre la digestión de macronutrientes metabolismo del colesterol regulación de la flora intestinal y baja producción de amonio, los niveles óptimos de inclusión pueden estar en promedio 0.1 % de la dieta.

Wolfenden⁶¹ estudió el efecto de la utilización de ácido orgánico para acidificación del agua mas la utilización de probiótico basados en *Lactobacillus* después de inducir una infección experimental con *Salmonella .enteritidis*, demostró en el presente estudio que es superior a la utilización individual y por separado de cada uno de ellos en cuanto a la reducción del número de *Salmonella .enteritidis*

La combinación probióticos con ácidos orgánicos son más efectivos que los tratamientos individuales para el control de *Salmonella entiritiris* en pollos

AFTAHI ⁶² comparó la eficacia de diferentes dosis de yogurt comercial con un preparado que contiene probióticos en Bangladesh, se obtiene mayor ganancia de peso y por lo tanto mayor rentabilidad, menor tasa de FCR en pollos de engorde, en el grupo que recibió 5 gramos de yogurt y en el grupo que recibió 1gr de preparado comercial se concluye que se puede lograr resultados similares y a menor costo con el suministro de 5 gramos de yogurt por 1litro de agua.

Lee⁶³ indujo una parasitosis experimental con 5.000 ooquistes de dos especies de coccidias, ellos han sido suplementados previamente desde el primer día de nacimiento con una dieta Mito Max (*Pediococcus acidilactici* mas *Saccharomyces boullardii*. Las dosis de los probióticos fueron de 0.01%, 0.1% y 1%, se determinó posteriormente el número de ooquistes y se cuantifico los anticuerpos séricos contra el parásito, no se encontró diferencia entre el número de ooquistes de los grupos estudiados, pero se encontró mayor número de anticuerpos en el grupo que fue suplementado con 0.1% de Mito Max, por lo tanto concluye que el uso de este producto incrementa la resistencia de las aves contra el coccidioide por incremento de la actividad inmune humoral y la dosis que origina mayor respuesta inmune es la 0.1%

⁶¹ WOLFENDEN, A.D. et al Effect of Organic Acids and Probiotics on *Salmonella enteritidis* Infection in Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 6 (6): 403-405, 2007. ISSN 1682-8356.© Asian Network for Scientific Information, 2007

⁶² AFTAHI, A. Effect of Yoghurt and Protexin Boost on Broiler Performance. International Journal of Poultry Science 5 (7): 651-655, 2006. ISSN 1682-8356.© Asian Network for Scientific Information, 2006.p.651

⁶³ LEE, Sunghyen et al. Effects of *Pediococcus*- and *Saccharomyces*-based probiotic (MitoMax) on coccidiosis in broiler chickens. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 30 (2007) 261–268

Yu⁶⁴, evaluó la efectividad de *Lactobacillus reuteri* (cepa pg4 transformada para B gluconasa heterologa) se sometieron 400 pollos divididos en dos grupos a los cuales se les suministraba el *Lactobacillus* y el grupo control que no se le suministraba el *Lactobacillus* el estudio se hizo entre los días 0 y 37 de edad, en este último día observó el nivel de *Lactobacillus* aislado del tracto gastrointestinal mediante el método de radio difusión enzimática se encontró que las cepas transformadas sobreviven al tránsito gástrico del estómago y del ganancia la ganancia de peso es por eso que se considera como un probiótico potencial

Wolfenden et al⁶⁵ comparó el efecto de la preparación de probiótico en spray sobre la concentración bacteriana de *Salmonella enteritidis* y la comparación con el probiótico preparado en el agua de bebida, encontró que el tratamiento fue similar para la forma de spray en comparación con el probiótico adicionado al agua de bebida en cuanto a la disminución de la concentración bacteriana. Además encontró que el efecto máximo ocurre a las 8 horas después del tratamiento

Dalloul⁶⁶, examinó el nivel de citoquinas y ooquistes bajo condiciones similares usando un probiótico comercial que contiene *Lactobacillus* en el primer experimento se evalúa la respuesta linfocitaria (Inmunidad celular) en el segundo experimento se evalúa la inmunidad humoral (IFN - γ and IL2) encontrando una pequeña pero significativa diferencia pero no se encontró diferencia entre el grupo que recibió el probiótico y el grupo control sugiriendo que el rol de los probióticos sería mediada por la respuesta inmune celular (linfocitos) y no por la respuesta humoral lo cual debe ser corroborado con estudios posteriores

⁶⁴ YU, B. Evaluation of *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain expressing heterologous - glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. *Animal Feed Science and Technology*.2007.p.10.

⁶⁵ WOLFENDEN, A.D. et al. Evaluation of Spray Application of a *Lactobacillus*-Based Probiotic on *Salmonella enteritidis* Colonization in Broiler Chickens, *International Journal of Poultry Science* 6 (7): 493-496, 2007. ISSN 1682-8356. © Asian Network for Scientific Information, 2007.493.

⁶⁶ DALLOUL, Rami A. Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 28 (2005) 351-361.

2. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El uso de antibióticos como estimulante del crecimiento afecta la microflora intestinal, lo cual resulta en la reducción a la resistencia de infecciones causadas por ciertas bacterias.

Los estudios con probióticos han sido difíciles de evaluar porque muchos de ellos no han sido analizados estadísticamente, protocolos experimentales no están claramente definidos, los microorganismos no fueron identificados y su viabilidad no fue verificada.

El mecanismo de acción de los probióticos es todavía desconocido y es motivo de investigación, sin embargo existen varias hipótesis. Hay evidencias que sugieren que los probióticos actúan mediante la estimulación del sistema inmune del hospedero

Son importantes los estudios “*in vitro*” con *Lactobacillus* y *Streptococcus*. Sin embargo, existen escasos resultados acerca del efecto de tales sustancias en el intestino. A pesar de que los mecanismos antagonistas no están bien claros, existen pruebas de que estos ocurren.

Los criterios generales de selección de probióticos son: Fácil producción; bioseguridad; supervivencia al procesamiento y almacenamiento del producto probiótico; capacidad de colonizar sobre la superficie del cuerpo en la que debe ser activo; estabilidad genética sin transferencia de plásmidos; no patógenos, tóxicos, ni mutagénicos; provocar estimulación del sistema inmune, pero no inducir reacciones contra el propio probiótico.

La actividad antimicrobiana de diferentes cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* aisladas de íleon de cerdos contra un amplio rango de bacterias indicadoras, que incluye cepas de *Enterococcus*, *Clostridium*, *Pseudomona* y *E. coli* arrojan una buena inhibición contra un gran número de los microorganismos indicadores.

Los resultados beneficiosos de la administración eficaz de probióticos en el alimento a los cerdos conllevan a una salud general reforzada, aumento más rápido de la tasa de crecimiento como resultado de una nutrición mejorada, y aumento en la producción de carne, es decir, hay una mejora notable de los parámetros zootécnicos.

Una primera etapa obligatoria en la selección de cepas microbianas para ser utilizadas como probióticos, lo constituye su ubicación taxonómica y el hecho de

que estas sean cepas representativas de microorganismos Generalmente Reconocidos como Seguros (Microorganismos GRAS) como son algunas especies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* (*Enterococcus*).

Los probióticos de las bacterias ácido lácticas son importante por su capacidad para crecer a altas velocidades, que posibilite la obtención de preparaciones adecuadas desde el punto de vista fermentativo y favorezca además, la implantación y competencia de estos microorganismos frente a microorganismos patógenos a nivel del tracto intestinal de los animales.

Los probióticos pueden afectar positivamente varias funciones fisiológicas en las vías que permitirán ahora y en el futuro ser clasificados como alimentos funcionales para lo cual son considerados como estimulantes de la producción o reductores de los riesgos de enfermedades.

El número de organismos estudiados como probióticos es pequeño, la lista está creciendo y probablemente muchos de ellos que proporcionen beneficios estén por descubrirse. Adicionalmente organismos probióticos pueden eventualmente ser desarrollados a través de ingeniería genética.

4.2 RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones sobre el uso de probióticos de diferentes tipos, géneros o cepas de microorganismo, bajo un estricto rigor científico, que incluya diseños estadísticos bajo el mismo tenor y con protocolos experimentales claramente definidos.

Formular y ejecutar proyectos de investigación sobre mecanismos de acción, efecto antagonista, efecto de las bacteriocinas y otros temas que están en controversia.

Explorar la posibilidad de incursionar en el campo de la Ingeniería genética, para desarrollar organismos probióticos.

Evaluar el efecto de otros alimentos funcionales de manera individual o en combinación con probióticos.

BIBLIOGRAFIA

3. AFTAH, A. Effect of Yoghurt and Protexin Boost on Broiler Performance. *International Journal of Poultry Science* 5 (7): 651-655, 2006. ISSN 1682-8356. © Asian Network for Scientific Information, 2006. p.651
4. AHMAD, Irshad. *International Journal of Poultry Science* 5 (6): 593-597, 2006 Asian Network for Scientific Information, 2006. ISSN 1682-8356 ©.
5. AMORES, A. CALVO, J.R. MAESTRE Y D. MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ. Probióticos, *Rev. Esp. Quimioterap*, Junio 2004; Vol.17 (Nº 2): 131-139, Prous Science, Sociedad Española de Quimioterapia.2004.
6. BARROW, P.A. 1992. Probiotics for chickens. In: FULLER, R. *Probiotics, the scientific basis*. London: Chapman & Hall.1.ed. p.225
7. BERG and SAVAGE. Immune responses of specific pathogen-free and gnotobiotic mice to antigens of indigenous and nonindigenous microorganisms. *Infect Immun*. 1975 February; 11(2): 320–329.
8. BOUHNİK, et al. Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium* sp. ingested in fermented milk. *Gastroenterology*.1998. p.p.102, 875– 878.
9. CAGIGAS REIG, Ada Lydia. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa, En *Revista Cubana Aliment Nutr* 2002;16(1):63-8. Recibido: 9 de noviembre del 2001. Aprobado: 10 de diciembre del 2001 Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Infanta No. 1158, municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, Cuba).
10. CAJA ET AL. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. Madrid: Curso de actualización FEDNA.2003. p.191.
11. CHARTERIS, W.P., et al. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *J. Appl. Microbiol*. 1998.p.p.84, 759–768.
12. COLLINGTON, G. K; PARKER, D. S. AND ARMSTRONG, D. G. The influence of inclusion of either an antibiotic or a probiotic in the diet on the development of digestive enzyme activity in the pig. En: *British Journal of Nutrition* 64:59-70 Cambridge University Press Copyright © The Nutrition Society 1990.

13. DALLOUL, Rami A. Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 28 (2005) 351–361
14. DE MENEZES COPPOLA Mario y GILL TURNES; Carlos Probióticos y respuesta inmune, en la revista *Ciencia Rural*, Santa María, Brasil. V.34, n 4, p. 1297- 1303, jul.- ago.
15. DIXIT, KALPANA and GANDHI, D.N. Biotherapeutic properties of probiotic yeast *Saccharomyces* species in fermented dairy foods. INDIA: Microbiology Division, National Dairy Research Institute, Karnal-132001, 2006.p.6.
16. FERNANDEZ MURGA, María L. DE RUIZ HOLGADO, Aída P. and DE VALDEZ, Graciela F. Survival Rate and Enzyme Activities of *Lactobacillus acidophilus* Following Frozen Storage. Tucumán, Argentina. June 1998, Pages 315-319
17. FERRER LORENTE, B. y DALMAU SERRA, J. Alimentos funcionales probióticos. Valencia: *Acta Pediatr Esp* 2001; 59: 150-155
18. FIGUEROA et al. Alimentos Funcionales para cerdos. México. Universidad Autónoma de México, 2005.p 118
19. ----- . Funtional foods for weanling pigs” (Alimentos funcionales para cerdos al destete) José Luis, Edgar Eduardo Chi Moreno, Miguel Cervantes Ramírez, Ignacio Arturo Domínguez Vara. *Vet. Méx.*, 37(1) 2006).
20. FIGUEROA, Ivonne et al. El beneficio de los probióticos. México: Alfa Editores Técnicos, 2006.p.26.
21. FIL, I. “New technologies for fermented milks”. *Bul Int Dairy Fed*, 277, 1992. 40 p.
22. FUERTES, A. Los probióticos. Bacterias beneficiosas y bacterias indeseables (en línea) 2000. disponible en: http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo_n_probioticos.htm --> [consultado : 20 de Enero del 2008.
23. GARCÍA SEDANO, Roberto. Las Levaduras para la Alimentación de los porcinos *Saccharomyces Cerevisiae*). México: Biotecap, 2006.p.126.
24. GILLILAND, NELSON AND MAXWELL. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol.* 1985 February; 49(2): 377-381

25. GUNTHER, K. "The role of probiotics as feed additives in animal nutrition". Department of animal physiology and animal nutrition. Gottingen, Germany. 1995. p.52.
26. HAVENAR, R. & HUIS IN'T VELD, J.. The lactic acid bacteria: Vol. 1. The lactic acid bacteria in health and disease. d. B. J. Wood. 1994 p. 151.
27. HELLÍN DOYLE, M. "Alternatives to Antibiotic Use For Growth Promotion in Animal Husbandry", Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison, April 2001.
28. HOLZAPFEL, WH; WOOD, BJB (eds.). *The genera of lactic acid bacteria*, 1st ed., London Blackie Academic & Professional. ISBN 0-7514-0215-X.
29. KLAVER, F.A.M., VAN DER MEER, R. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile-salt deconjugating activity. Appl. Environ. Microbiol. 1993. 59, 1120–1124.
30. LEE ,KyungWoo; LEE Soo Kee and Bong Duk Lee. *Aspergillus oryzae* as Probiotic in Poultry - A Review. International Journal of Poultry Science 5 (1): 01-03, 2006. ISSN 1682-8356© Asian Network for Scientific Information, 2006
31. LEE, Sunghyen et al. Effects of Pediococcus- and Saccharomyces-based probiotic (MitoMaxs) on coccidiosis in broiler chickens. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 30 (2007) 261–268.
32. LETELLIER, A.; MESSIER, S. LESSARD, L.; QUESSY, S. 2000. Assessment of various treatments to reduce carriage of Salmonella in swine. Can. J. Vet. Res. 64(1):27-31
33. LYONS, P. "Opinan los hombres de negocio". Avicultura profesional, 15(7), 1997. p.22.
34. MARQUINAD., SANTOS, A. Probióticos, Prebióticos y Salud. Sociedad Española de Microbiología. Actualidad 2001; p.p. 32: 24-26.
35. MEJÍA RODRÍGUEZ, José Andrés, Et al. Obtencion de cepas de Lactobacillus. Caracterizacion in-vitro como potenciales probioticas. En Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias. 2007. p.57.
36. MURRY, A.C. HINTON, A. and BUHR, R.J.. Effect of Botanical Probiotic Containing *Lactobacilli* on Growth Performance and Populations of Bacteria

in the Ceca, Cloaca, and Carcass Rinse of Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science* 5 (4): 344-350, 2006. ISSN 1682-8356

37. NAGURA, Hirosh,. NAKANE, Paul K and BROWN, William R. Translocation of Dimeric IgA through Neoplastic Colon Cells *in Vitro: The Journal of Immunology*, 1979, p.p. 123: 2359-2368
38. NOUSIAINEN, J. & SETALA, J. (1993) Lactic acid bacteria. Marcel Dekker Inc. P 315 NRC (1979) Nutrient Requirements of Swine. 8th Rev. Edn. National Academy Press, Washington, DC.
39. PLUSKE y PETHICK El impacto de la nutrición sobre desórdenes y enfermedades de tipo entérico en porcino. Division of Veterinary and Biomedical Sciences .Murdoch University, Murdoch WA 6150, Australia.2005
40. -----.El Impacto de la Nutrición sobre Desórdenes y Enfermedades Entéricas en Cerdos. *Australia: Murdoch University,2007.p.65.*
41. QUILES y HEVIA. Características de la flora intestinal del lechón: efecto de los probióticos. Campus de Espinardo. Universidad de Murcia,2006., p 119.
42. RASTEIRO et al. Adição de probiótico na mistura mineral eleva o ganho de peso de bovinos no período da seca. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal (Arch. Latinoam. Prod. Anim.).www.alpa.org.ve/ojs.index/php.*
43. SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A; AND OUWEHAND, AC (eds.). (2004). Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3rd ed., New York: Marcel Dekker, Inc.. ISBN 0-8247-5332-1.
44. SCHILLINGER, U. "Bacteriocins of lactic acid bacteria." *Biotechnology, Food Quality*, 1990. p 55- 74.
45. SPENCER, R.J., CHESSON, A., The effect of Lactobacillus spp. on the attachment of enterotoxigenic Escherichia coli to isolated porcine enterocytes. *J. Appl. Bacteriol.* 1994 77, p.p.215–220.
46. STEVENS, KA, et al, TR . "Nisin treatment for the inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria". *Appl Environ Microbiol*, 1991. p.p.57, 3613-3615.
47. TANNOCK G.W. Molecular assessment of intestinal microflora. *Am J Elin Nutr.* 2001. P 73

48. TARANTO, María Pía, MÉDICI, Marta y Font de Valdez Graciela. Alimentos funcionales probióticos.
49. TUOMOLA, E. et al, 2001, Quality assurance criteria for probiotic bacteria.: Am J Clin Nutr., v. 73 (supl), p. 393-398.
50. VADILLO, S.; PÌRIZ, S; MATEOS, E. Manual de Microbiología Veterinaria. 2002.p120.
51. VICENTE et al Effect of a *Lactobacillus Spp*-Based Probiotic Culture Product on Broiler Chicks Performance under Commercial Conditions. International Journal of Poultry Science 6 (3): 154-156, 2007.ISSN 1682-8356.
52. VITINI, E., et al, Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. Biocell 2000 2p.4, 223–232.
53. WADSTROM Et al. *Lactobacillus acidophilus* autolysis inhibit *Helicobacter pylori* in Vitro. Curr Microbiol.2001. p39-44.
54. WOLFENDEN, A.D. et al. Evaluation of Spray Application of a *Lactobacillus*-Based Probiotic on *Salmonella enteritidis* Colonization in Broiler Chickens, International Journal of Poultry Science 6 (7): 493-496, 2007. ISSN 1682-8356. © Asian Network for Scientific Information, 2007.493.
55. -----. Effect of Organic Acids and Probiotics on *Salmonella enteritidis* Infection in Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science 6 (6): 403-405, 2007. ISSN 1682-8356.© Asian Network for Scientific Information, 2007.
56. YU, B. Evaluation of *Lactobacillus reuteri* Pg4 strain expressing heterologous - glucanase as a probiotic in poultry diets based on barley. Animal Feed Science and Technology.2007.p.10.
57. ZABALA, Et al. Las bacterias lácticas como microorganismos probióticos (I). Perspectiva Histórica, criterios de selección y efectos probióticos. En: Alimentación, equipos y tecnología, ISSN 0212-1689, Año nº 21, Nº 170, 2002 , p-p. 58-66.
58. ZALASHKO M.V; ANISIMOVA HI and BORTKEVICH L.G. Antimicrobial and immunomodulatory activities of *L. acidophilus* Ke-10. Prikl biokhim Mikrobiol 1997.p.p.33:305-309.

