

Efectos de los probióticos sobre el sistema inmune.

Grethel Milián, M. Pérez, Ana J. Rondón, Luz M. Samaniego, R. Piad y Martha laurencio.

Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. Autopista Varadero Km3 ½. Matanzas. Cuba.

Introducción

Probióticos. Evolución, concepto y mecanismo de acción.

Probióticos. Sistema inmune.

Consideraciones finales.

Referencias.

Introducción

Los organismos, en la lucha por la existencia, están expuestos a una legión de invasores tales como *virus*, *protozoos*, *bacterias*, *hongos* o a las moléculas producidas por ellos.

Para impedir las infecciones provocada por los efectos tóxicos de estos invasores, los animales han desarrollado, a lo largo de la evolución, una serie de mecanismos de defensa. De ellos el más desarrollado es el sistema inmunitario. El vocablo inmune deriva del latín INMUNIRE que significa ARMARSE (Luengo, 2004).

Un sentido más amplio de inmunidad o resistencia se refiere a los factores inherentes a los organismos que son adquiridos durante la vida (Pelczar, 1981). Todos estos factores pueden agruparse bajo la denominación de inmunidad natural (innata o inespecífica) e inmunidad adquirida (específica o adaptativa).

La Inmunidad natural proporciona defensas contra las infecciones por medio de varias barreras mecánicas y químicas que pueden ser reconocidas por un agente patogénico, mientras que la Inmunidad adquirida es muy importante en la protección contra infecciones, evidenciándose usualmente un antagonismo entre los agentes patogénicos y las sustancias específicas, conocidas como anticuerpos, formándose en respuesta un estímulo de sustancias. Los anticuerpos en general son específicos para un microorganismo (Pelczar, 1981).

El 70 % del sistema inmune está localizado en el tubo gastrointestinal, el papel preliminar del mismo es dirigir y adsorber nutrientes para suplir las exigencias metabólicas necesarias para el crecimiento y desarrollo del humano normal. Además, la mucosa intestinal forma una línea de defensa protectora en el individuo, contra la presencia de antígenos en el alimento, y de microorganismos en el lumen intestinal. La protección contra los antígenos potencialmente perjudiciales es asegurada por muchos factores, incluido la saliva, los ácidos gástricos, el peristaltismo, el mucus, la proteólisis intestinal, la microbiota intestinal y las membranas epiteliales (Isolauri et al., 2001).

Existen microorganismos con alta capacidad de adherencia a la mucosa intestinal, que son beneficiosos, llamados probióticos. Estos microorganismos son comercializados con objetivos profilácticos, terapéuticos y como promotores del crecimiento animal (Duc et al., 2004).

El desarrollo de la producción animal ha posibilitado la existencia de nuevos híbridos, seleccionados para una mayor respuesta productiva. En estos animales, debido al proceso lógico de selección, se ha deprimido considerablemente el sistema inmune, trayendo consigo una disminución en la resistencia a enfermedades, un desequilibrio en la microbiota intestinal y exigencias nutricionales elevadas. Unido a lo anterior se encuentran las deficientes condiciones de manejo y bioseguridad existentes en Cuba, lo cual implica constantes situaciones de estrés, con afectación en el sistema inmune y escasa resistencia a las enfermedades. Teniendo en cuenta lo anterior es necesario emplear preparados probióticos a base de *Bacillus sp* y sus endosporas para fortalecer el sistema inmune y aumentar la resistencia a las enfermedades.

La principal función de los probióticos es la competencia ecológica por lugares de adhesión con los microorganismos enteropatógenos, constituyendo la primera línea de defensa a nivel intestinal. Para impedir que los microorganismos patógenos colonicen el epitelio intestinal, los movimientos peristálticos, conjuntamente con algunas bacteriocinas producidas por los probióticos actúan para eliminarlos (Isolauri et al., 2001).

Por otro lado la presencia constante de estos microorganismos adheridos a la mucosa intestinal, tal como los microorganismos patógenos, promueven una respuesta inmunológica exagerada perjudicial, a diferencia, de la reacción inmunológica causada por los probióticos, la cual, es moderada y más constante, trayendo consigo que los mecanismos inmunológicos innatos y específicos, estén constantemente en actividad, sin causar disturbios al hospedero, así como una rápida sensibilidad frente a otros patógenos (Juntunen et al., 2001).

La regulación de la respuesta inmunológica causada por los probióticos, puede ser caracterizada por una constante solicitud de fagocitos y linfocitos, a través de citoquinas, producidas durante la estimulación de inmunoglobulinas contra los probióticos, además mantienen un sistema de presencia de antígenos en constante actividad (Erickson y Hubbard, 2000).

Esta monografía tiene como objetivo conocer los efectos de los probióticos sobre el sistema inmune, así como los mecanismos utilizados por estos en la activación de la respuesta inmunológica.

Probióticos. Reseña histórica.

La fundamentación del uso de probióticos se remonta a principios de siglo con los estudios de Metchnikoff (1903 y 1908) quien fuera el primero en describir que la ingestión de bacterias podía tener efectos beneficiosos en la flora intestinal, atribuyendo estos principalmente, a las de tipo ácido lácticas presentes en el yogur.

Numerosos trabajos se han desarrollado durante las últimas décadas para esclarecer los efectos de los probióticos, tanto a partir de bacterias ácido lácticas, como de levaduras, dando lugar a muchas investigaciones esclarecedoras, quedando aún numerosas incógnitas por definir (Fuller, 1978; Savage, 1983; Stanley et al, 1996; Marteau et al, 1997; Massa et al, 1997; Brown et al, 1997 y Yeo y Kim, 1997).

Evolución del concepto.

El término probiótico procede del griego y significa en favor de la vida. Fue definido por Fuller y Cole (1989, 1992) como suplementos microbianos vivos de alimentos que afectan positivamente al animal hospedante, mejorando su equilibrio microbiano intestinal. Dicho de forma más sencilla Probióticos son bacterias, hongos filamentosos y levaduras que se cultivan en condiciones de laboratorio y que se utilizan, posteriormente, para corregir el balance de la microflora digestiva que ha quedado desequilibrada debido a diferentes causas.

A principio de este siglo Metchnikoff en el Instituto Pasteur de París, estudió un grupo de campesinos Búlgaros conocidos por su longevidad. Descubrió que había una relación entre esa longevidad y el consumo de grandes cantidades de leche fermentada. Afirmó que el efecto se debía a la modificación de la composición de la microflora intestinal y la consiguiente supresión de las actividades nocivas de las bacterias patógenas en el intestino. Asimismo evaluó el uso de determinadas especies de bacterias, y encontró que *Lactobacillus acidophilus*, era muy eficaz en el tratamiento de las diarreas.

El concepto de Probióticos, como aplicación a la medicina preventiva, fue originado por Metchnikoff a principios de este siglo cuando planteó la teoría sobre la disminución del efecto negativo de algunos microorganismos mediante la ingestión de otros beneficiosos.

Numerosas han sido las definiciones que se han dado en estos últimos tiempos. Así por ejemplo:

- Parker (1974) planteó que los Probióticos eran sustancias u organismos los cuales ayudaban a mantener el balance microbiano intestinal óptimo.
- Según Fuller (1986) el término probiótico es utilizado para describir suplementos alimentarios para animales, los cuales tienen un efecto protector sobre la flora favorable indígena del intestino. Estos suplementos están basados en cepas de *Lactobacillus* e incluyen también el yogur usado para el consumo humano.
- Vanbeller et al, (1990) definieron a los Probióticos como microorganismos intestinales naturales que, después de dosis orales efectivas, son capaces de establecerse y eventualmente colonizar el

tracto gastrointestinal y de esa forma mantener o incrementar la flora natural para prevenir la colonización de organismos patógenos y asegurar una utilidad óptima del alimento.

- Según Karhs (1991) los Probióticos son microorganismos o sustancias que, en forma de aditivos alimentarios, tienen un efecto favorable en el animal hospedero mediante el mejoramiento del balance microbiano intestinal, con efectos secundarios beneficiosos de crecimiento y desarrollo.
- Andrews (1992) incluye a los probióticos y a otras sustancias tales como antibióticos, vitaminas, minerales, ácidos orgánicos, enzimas y oligosacáridos, entre otros en un mismo grupo con el nombre de agentes profilácticos, los cuales son utilizados para promover la supervivencia y el crecimiento de los animales recién nacidos y jóvenes.
- Sainsbury (1993) definió a los Probióticos como microorganismos vivientes, los cuales al ser suministrados a los animales, ayudan en el establecimiento de una población intestinal, la cual se convierte en beneficiosa para el animal y antagonista para los microorganismos patógenos.
- Gunther (1995) clasifica a los Probióticos como aditivos alimentarios y en una acepción más 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 el láctico, cítrico, acético, entre otros.
- Lyons (1997) planteó que los Probióticos son productos naturales, los cuales se utilizan como promotores del crecimiento, en los animales, de forma tal que su empleo permita 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.
- Guillot (2000) planteó que los probióticos son microorganismos vivos que cuando son suministrados a través de la ruta digestiva favorecen la salud del hospedero.
- Salminen (2002) definió como probiótico a un ingrediente alimenticio microbiológico vivo que implica un beneficio para la salud.
- Hoa et al (2000) y Duc et al (2003). Consideraron a los probióticos como sustancias de carácter aditivo a las dietas. Incluso incluyen a los antibióticos producidos por los propios microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal entre las sustancias probióticas.
- Anon (2004 – 2005). Se trata de microorganismos vivos que habitan naturalmente en el tubo digestivo humano; poseen propiedades especiales y actúan positivamente sobre la salud, más allá de los efectos nutricionales tradicionales. Son cultivos vivos activos que ayudan a mantener la flora intestinal y evitan la proliferación de bacterias nocivas. **Reducen** los síntomas de intolerancia a la lactosa porque facilitan la digestión de la leche. **Mejoran** el estado inmunológico. **Reducen** el riesgo de diarrea y el cáncer de colon.

Para que un probiótico sea ideal debe sobrevivir al tracto gastrointestinal. Llegando intacto al intestino, se aloja allí para lo que necesita tener la propiedad de adherencia al epitelio para poder colonizar y así aumentar la acidez, lo que impide que se desarrollen bacterias que provocan enfermedad y sobre todo, debe ser inocuo.

Aplicaciones de los probióticos.

Los probióticos se usan en la medicina humana para la prevención y el tratamiento de enfermedades, en la regulación de la microbiota intestinal, en disturbios del metabolismo gastrointestinal, como inmunomoduladores de la respuesta inmune y en la inhibición de carcinógenas. En la medicina veterinaria, además de esas aplicaciones, pueden ser usados como promotores del crecimiento, constituyendo una alternativa al uso excesivo e indiscriminado de antibióticos que trae consigo la aparición de cepas resistentes.

Mecanismos de acción de los probióticos.

Los probióticos tienen una marcada incidencia sobre la actividad metabólica intestinal (Lyons, 1987 y Sainsbury, 1993). El aumento en la capacidad de utilización de la lactosa es de los efectos mejor conocido de las bacterias ácido lácticas (Dawson, 1990; López, 1990; Bilgili y Moran, 1990; Abbas y Jafri, 1992 y Yang y Silva, 1995) aunque se ha encontrado que los probióticos también reducen la adsorción de sustancias tóxicas como NH_3 , aminas, indol, mercaptanos y sulfitos y aseguran la protección de las sales biliares y ácidos grasos contra su biotransformación en productos tóxicos y nocivos (Nguyen, 1991). Se ha señalado también un efecto hipocolesterolémico y anticarcinogénico cuyos mecanismos no se han esclarecidos completamente (Perdigón y Álvarez, 1978; Savage, 1980; Savage, 1983; Jones, 1984; Dawson, 1990; Uffer, 1990; Moloney, 1990 y Glade, 1990; Erasmus, 1991; Higginbotham, 1991; Andrews, 1992; Zacconi et al, 1992; Mohan et al, 1996; Mulder 1996; Fukushima y Nakano, 1996; Cherdyntseva et al, 1997; Singh et al, 1997; Newcova et al, 1997 y Morishita et al, 1997). Otros trabajos demuestran que las cepas de *Lactobacillus* inhiben la asociación a las células intestinales de patógenos tales como *Salmonella*, Coliformes, *Yersinia*, *Campilobacter* y *Listeria* (Drenna 1990, Mulder 1991, Adachi 1992, Jim et al 1996, Morichita et al 1997 y Craven y Wiliams 1997).

Los probióticos pueden estimular la respuesta inmune en el hospedero y este a su vez puede ejercer control sobre la composición de la microbiota (Kimura et al, 1997 y Pulverer et al, 1997). La ingestión de probióticos específicos, puede estimular la fagocitosis y las células inmunocompetentes del intestino asociadas al tejido linfoide, además de presentar propiedades adyuvantes. Por lo tanto, una de las funciones más importantes de los probióticos podría ser la activación del sistema inmune (Wang et al, 1995 y Schiffrin et al, 1997). Esto se ilustra en las comprobaciones hechas en animales libres de gérmenes, donde la actividad del sistema inmune es muy baja (Underdahl, 1983 y Mehrazar et al, 1993). En estos animales se han encontrado niveles de δ -globulinas muy bajos,

así como nódulos linfáticos muy pequeños y menor cantidad de linfocitos y fagocitos. Se ha comprobado “in vivo” la actividad de macrófagos después de la introducción de microorganismos indígenas con efecto probiótico (Havenaar y Huis in, t Veld, 1992; Schiffrin et al, 1997 y Kostiuk et al, 1997). Los oligosacáridos de glucano, derivados de la pared de la célula de levadura, han contribuido a la prevención de enfermedades infecciosas y consecuentemente, a la mejor expresión de los caracteres productivos en los animales de granja. Dentro de estos se encuentra el β - 1-3 glucano que provoca un marcado efecto inmunoestimulante en los animales y en el hombre (Pedroso et al, 1993; Figueredo y Pedroso, 1993 y Pedroso et al, 1995).

El término “traslocación” se introdujo para describir el pasaje de las bacterias viables del TGI a los nódulos linfáticos mesentéricos y a otros órganos como el bazo y hígado (Gedek, 1991 y Perdígón, 1995). Algunas cepas probióticas, tales como *Lactobacillus* pueden también traslocarse y sobrevivir por varios días en el bazo u otros sitios y así estimular la fagocitosis y las células inmunocompetentes del tejido linfático asociado a esos niveles (Vandelle et al, 1990; Havenaar y Huis in,t Veld, 1992; Link et al, 1994; Wang et al, 1995; Hedouin et al, 1995; Neggretti y Casseta, 1995; Burks y Helm, 1997 y Majamaa e Isolauri, 1997). Los microorganismos indígenas o sus antígenos pueden penetrar la barrera epitelial del intestino estimulando, de esta forma, a las células inmunocompetentes (Jim et al, 1996b y Wagner et al, 1997) y a su vez favorecer la producción de células estimuladoras y propiciar la diferenciación de los linfocitos (Solis y Lemmonnier, 1991; Schiffrin et al, 1997; Zalashko et al, 1997 y Wheeler et al, 1997).

El TGI, y especialmente, el intestino grueso es un importante órgano inmunológico que abarca entre 70-80 % del sistema inmune total del cuerpo. Este órgano posee una alta capacidad para modular la función de barrera y prevenir la traslocación microbiana. Como la parte dominante del sistema inmune está en el intestino grueso donde la flora microbiana, las células mucosas y el tejido linfoide asociado son inmulógicamente activos, en este sitio se producen, además. las citoquinas moduladoras que a su vez se asocian con los procesos fermentativos de la flora comensal, para producir localmente los nutrientes inmunorreguladores. Es necesario prestar atención para preservar esta flora esencial, lo que se logra proveyéndoles nutrientes y evitando el uso de antibióticos, además, de reemplazarla si existen pérdidas (Bengmark, 1999).

Se ha demostrado que el yogurt y la administración de *Lactobacillus* incrementan los niveles de Y- inferón en humanos (Solis y Lemmonnier, 1991 y Wheeler et al, 1997). Estudios realizados “in vivo” muestran que en altas dosis (3×10^{12} ufc/ml/día) la ingestión de bacterias provenientes del yogurt estimula el nivel de las células NK (Walter y Henry, 1988). Perdígón y Álvarez (1992) encontraron que algunas cepas de *Lactobacillus casei* pueden actuar como adyuvantes orales y consecuentemente, prevenir las infecciones entéricas.

Los probióticos son capaces de estimular la producción de anticuerpos, producir enzimas que destruyen sustancias tóxicas o cancerígenas y poseen acción antibacteriana. Entre estas últimas sustancias se incluyen bacteriocina,

nisina, lactalina y destructores de tóxina (Polonelli y Morace, 1986; Gedek, 1991 y Ávila et al, 1995). Las bacteriocinas que producen las especies de *Lactobacillus* tienen un efecto bactericida o bacteriostático contra muchas bacterias, como *Salmonella*, *Coliformes* y *Campylobacter*. Es conocido que *Lactobacillus acidophilus*, entre otras muchas especies, puede producir estas sustancias en altas proporciones con un notable efecto contra bacterias patógenas (Mulder, 1991; Coventry et al, 1997 y Tahara y Kanatani, 1997).

Microorganismos usados como probióticos.

Según Guillot (2000), Pridmore et al., (2003), Grosso y Trinidad et al., (2004), Desmond et al., (2004), Duc et al., (2004), Nava y Davila (2004) las especies microbianas más usadas como probióticos en animales son:

- ✓ *Lactobacillus acidophilus, farcimis, rhamnosus, reuteri, salivarius, casei, amylovorus, cyrspatus, delbrueckii ssp. bulgaricus, gallinarum, gasseri, johnsonii, paracasei, plantarum.*
- ✓ *Enterococcus faecium, faecalis, mundtii.*
- ✓ *Pediococcus acidilacti.*
- ✓ *Sacharomyces cerevisia, boulardii.*
- ✓ *Streptococcus faecium, thermophilus.*
- ✓ *Bifidobacterium adolescentes, bifidum, lactis, longum, animalis, infantis, breve.*
- ✓ *Lactococcus lactis.*
- ✓ *Leuconstoc mesenteroides.*
- ✓ *Sporolactobacillus inulinus.*
- ✓ *Bacillus cereus, licheniformis, subtilis, pumulis, coagulans, stearothermophyllus.*

Existen referencias al uso de microorganismos del género *Bacillus* (Duc et al., 2004) como uno de los microorganismos probióticos más utilizados en la actualidad, los mismos son clasificados como transitorios del tracto gastrointestinal, pues no poseen la capacidad de adherirse al epitelio intestinal, su función es la de multiplicarse y favorecer la colonización de los *Lactobacillus* y fortalecer el sistema inmune (Bortolozo, 2002).

***Bacillus* como Probióticos.**

Gunther (1995) planteó el uso de los probióticos a base de *Bacillus*, pero fue en 1998, que se emplean las bacterias del género *Bacillus* y sus esporas como probiótico por las ventajas que estos ofrecen dada sus características microbiológicas e industriales.

Características de los *Bacillus*.

- Crecen en una amplia gama de medios de cultivos.
- Son fácilmente reproducibles.
- Tienen buena factibilidad industrial: resisten altas temperaturas y se conservan por largo tiempo.
- Son aerobios.

Efectos de los *Bacillus* en el TGI.

- Mejorar la utilización de los alimentos.
- Favorecer la diferenciación de las células supresoras o estimuladoras.
- Mejorar el balance microbiano del TGI.
- Sus esporas contribuyen a la estimulación y mejoramiento del sistema inmune.
- Inhiben el crecimiento de bacterias dañinas.
- Tienen la capacidad de producir antibióticos.
- Actúan contra patógenos específicos tales como *E. coli*.
- Estimulan la inmunidad mediante la acción de los macrófagos.
- Contribuyen a disminuir la acidez del intestino.
- Controlan el crecimiento de enterobacterias.
- Incrementan los *Lactobacillus* del tubo intestinal.
- Se obtienen mejores rendimientos productivos en los animales.
- Son considerados como biorregulador, por su alta capacidad de colonización.

Se plantea que *Bacillus sp* producen varias enzimas que ayudan a mejorar la utilización de los alimentos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas, glicosidasas y otras que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos componentes más pequeños son absorbidos rápidamente por el animal, o bien son empleados por otras bacterias beneficiosas para el crecimiento y mantenimiento de la microflora intestinal balanceada.

Dentro de la actividad enzimática específica de algunas especies de *Bacillus* citamos:

- *Bacillus subtilis*: produce proteasa, amilasa, glucanasa y otras enzimas.
- *Bacillus licheniformes*: produce proteasa, amilasa y otras enzimas.
- *Bacillus circulans*: produce glucanasa.

Anon (2000) plantea que las endosporas de *Bacillus* y su combinación con otras especies de microorganismos tales como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* favorecen:

- La disminución de la acidez en el intestino de las aves.
- Los procesos digestivos del hospedero.
- La inhibición y control del crecimiento microbiano de bacterias dañinas (Enterobacteriaceae).
- El estímulo del sistema inmune, contribuyendo a la resistencia contra el desafío de patógenos ambientales (Anon, 1998).
- La promoción del crecimiento de *Lactobacillus* en el TGI.

Las endosporas de *Bacillus subtilis* que permanecen viables en el alimento suministrado a aves:

- Son estables en la acidez gástrica.
- Actúan contra patógenos específicos en el intestino (*E. coli*).
- Incrementan los *Lactobacillus* del tubo intestinal.

Por lo que se les atribuye efecto promotor del crecimiento (Jiraphocakul et al, 1990).

Uso de *Bacillus* y sus endosporas como probióticos.

- Estudios realizados por Maruta (1993) e informados por Bortolozzo (2002) explican que al administrar un probiótico a base de *Bacillus subtilis* en una granja de pollos de ceba, se observó un aumento de la musculatura y una disminución de la grasa abdominal, principalmente en machos. Se verificó una disminución del por ciento de bacterias patógenas, fundamentalmente *Salmonella* de 60 a 20 %.
- Colin et al (1994) estudiaron el efecto del empleo de dos probióticos en dietas de pollos de engorde comparándolo con un antibiótico (linomicina). Los productos utilizados fueron esporas de *Bacillus sp* (100ppm, 10^{10} ufc/g), mezcla de microorganismos lácticos, levaduras y enzimas digestivas (100 pm de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluveromyces fragilis*, amilasas, celulasas, B- glucanasa y lioncomisina 84ppm), los datos fueron obtenidos para la ganancia de peso. La acción de los probióticos en este caso no difirió entre los *Bacillus sp* y la mezcla prebiótica, pero si con el antibiótico y el grupo control.
- Maruta et al (1996) administraron a pollos de ceba una cepa de *Bacillus subtilis* (C-3102) para estudiar la exclusión o decrecimiento de patógenos intestinales tales como *Salmonella*, y *Campylobacter*. Los resultados mostraron un decrecimiento en el número y rango de detención de *Campylobacter* y *Salmonella* en los grupos desafiados con respecto al control para ambas entidades infecciosas (P<0.01). Asimismo, fue observado un decrecimiento en el número de *Clostridium perfringens* y *Enterobacteriaceae*. Por otro lado se observó un incremento (P <0.05) en el número de *Lactobacillus* al investigarse la microflora

intestinal, por lo que estos resultados demostraron la eficacia de esta cepa.

- Shubert et al (1999) estudiaron el efecto que tiene el uso de una cepa de *Bacillus cereus* en pollos de ceba. Observaron la inhibición de bacterias indeseables en el intestino y la utilización de esta cepa como alternativa de los antibióticos, además comprueban un menor peso relativo de los órganos digestivos, asociado esto con un mayor rendimiento en las aves. Estos mismos autores, en otra investigación, estudiaron el uso de un probiótico a base de *Bacillus cereus* (Toyocerin) en pollos de ceba al suministrarle 50 y 100 mg/kg en la dieta. Comprobaron que el peso final era superior en 1.5 % y 2.1 % en los animales tratado respecto al control. Asimismo, se mejoró la conversión de 1.2 % a 2 % y la mortalidad fue disminuida entre 2.7 % y 4.5 %, con respecto al grupo control.
- Jiraphocakul et al (1999) indican que esporas viables de *Bacillus subtilis*, en el alimento, son estables en la acidez gástrica y actúan contra patógenos específicos en el intestino tales como *Escherichia coli*. Su empleo incrementa los *Lactobacillus* del tubo intestinal con un efecto promotor del crecimiento.
- Nakano et al (1999) comprobaron que al suministrar una mezcla probiótica (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Saccharomyces*) se reducía el nivel de colesterol sérico y hepático en gallos alimentados con dietas enriquecidas con colesterol. Las Enterobacteriaceae fueron significativamente reducidas. El pH no se alteró, en tanto se incrementaron los niveles de concentración de AGCC en la dieta.
- Guillot (2000) plantea que entre las especies microbianas usadas como probióticos en animales, se encuentran las bacterias del género *Bacillus*. Cita como especies de mayor importancia a *B. cereus*, *B. licheniformes* y *B. subtilis*. Una de las principales acciones probióticas de estas bacterias es la producción de enzimas, las que mejoran la función digestiva de las aves. En otro experimento informado por este autor se estudió el efecto de las esporas de *Bacillus* en aves desafiadas con *E.tenella* y *Salmonella*. Se observó una reducción de los síntomas clínicos ligados con un mejor crecimiento. Estos mismos autores administraron, en pollos, de ceba la cepa C-3102 de *Bacillus subtilis* para excluir o decrecer la presencia de patógenos intestinales tales como *Salmonella* y *Campylobacter*, hubo un decrecimiento en el número y rango de detección de estas especies.
- Endo y Nakano (2000) estudiaron los efectos del empleo de un probiótico en pollos de ceba, el cual incluía especies de *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Saccharomyces* en una dosis de 3 g/kg de concentrado. El probiótico decreció el número de *Enterobacteraceae* (*E.coli* y *Salmonella*) en el ciego. Estos mismos autores comprobaron que cuando aplicaron un probiótico a base de *Bacillus natto* sobre la microflora intestinal en pollos de ceba a razón de 0, 50, 75 y 100 g (10⁹

g *Bacillus natto*) por tonelada de ración se observaba una disminución del número de coliformes fecales en relación con el control, los mismos sugirieron el empleo de una dosis de 100 g para este probiótico /toneladas de ración. Además comprobaron que cuando aplicaban un probiótico a base de enzimas (tripsina, amilasa y lipasa) en pollos de ceba en lotes tanto de hembras como de macho usando, además con *Bacillus subtilis* (10^{10} células viables/g de producto) que las dietas contenían un mayor nivel de energía y se favorecían la acción de otras enzimas presentes en el TGI.

- Cortés et al, (2000) evaluaron el efecto de un probiótico a base de cepas de *Bacillus toyoi* en dietas para pollos de engorde, demostrando que el mismo tiene un efecto promotor del crecimiento, a su vez disminuye la mortalidad por *Salmonella*.

Algunos productos comerciales que se fabrican, con actividad probiótica, a partir de cultivo de *Bacillus* y sus endosporas (Duc et al., 2004):

- **Alcare:** producto elaborado a base de *B. licheniformis* y sus endosporas, con efecto probiótico en cerdos.
- **Bao Zyme-Aqua:** producto elaborado a base de *B. subtilis* y sus endosporas, con efecto probiótico en cerdos.
- **Bidisubtilis:** producto elaborado a base de *B. subtilis* y sus endosporas, con efecto probiótico en la salud humana.
- **Biospirin:** producto elaborado de una mezcla de *B. subtilis* y *B. licheniformis*, con efecto probiótico en la salud humana.
- **Bio Plus 2B:** producto elaborado de una mezcla de *B. subtilis* y *B. licheniformis*, con efecto probiótico en la producción avícola.
- **Bio Grow:** producto elaborado a base de *B. subtilis* y *B. licheniformis*, con efecto probiótico en la producción avícola.

De manera general todos estos productos estimulan el sistema inmune, producen vitaminas, principalmente K y tienen efecto anticancerígeno. Por otro lado, son capaces de favorecer un balance microbiano óptimo en el intestino e impedir trastornos bacterianos entéricos, que afectan los indicadores productivos en la producción animal y la salud humana (Inooka et al, 1986 y Hosoi et al, 2000).

Probióticos. Sistema inmune.

Resistencia e inmunidad.

En cuanto un parásito usa todos los medios y la disposición para establecer una infección en el hospedero, posee numerosos mecanismos de defensa preeliminar. Las implicaciones de las relaciones hospedero-parásito son muy variadas, no siendo posible considerar uno o otro.

La capacidad del hospedero de evitar o vencer microorganismos patogénicos invasores es conocida por resistencia e inmunidad. Los dos términos son

prácticamente sinónimos, se puede pensar en inmunidad como los factores adquiridos que contribuyen a la resistencia. Un sentido más amplio de resistencia se refiere a los factores inherentes de los organismos que son adquiridos durante la vida. Tales factores pueden ser denominados resistencia natural e inmunidad adquirida. La resistencia natural proporciona defensas contra las infecciones por medio de varias barreras, mecánicas y químicas. La falta de resistencia natural es síntoma de susceptibilidad. Las microvellosidades del tejido epitelial, las enzimas y los componentes de la sangre, y de otros líquidos orgánicos son ejemplos de este tipo de barrera (Pelczar, 1981).

La resistencia de tipo adquirido es muy importante en la protección contra las infecciones, evidenciándose, usualmente, un antagonismo entre los agentes patogénicos y las sustancias específicas, conocidas como anticuerpos, formándose en respuesta a un estímulo de sustancias extrañas, los antígenos. Los anticuerpos son en general específicos para un microorganismo dado siendo sintetizado por el hospedero como una respuesta en excitación provocada por microorganismos o parte de él.

Resistencia natural.

La resistencia natural depende de una serie de factores tales como, la salud general, del hospedero, el estado de nutrición y las condiciones sociales y económicas, entre otros factores no específicos. Sus papeles se interrelacionan de tal modo que se torna difícil evaluar el significado individual de cada factor (Pelczar, 1981).

Mecanismos de defensa externos.

Los organismos presentan dos líneas de defensa, que deben ser vencidas por un agente patogénico, a fin de establecer una infección. La primera es mecánica, sin embargo pueden existir factores químicos, todos agrupados bajo la denominación de mecanismos de defensa externos. Como barreras mecánicas están la piel, las mucosas íntegras, que en general impermeabilizan a los agentes infecciosos. Es posible la penetración de un microorganismo por los folículos pilosos, por los orificios de las glándulas sudoríparas. La piel y la mucosa forman, generalmente, una barrera eficaz. Las bacterias, son inhibidas por el ácido láctico y por los ácidos grasos del sudor y de las secreciones de las glándulas sebáceas, así como por el bajo pH que estos compuestos determinan. Las secreciones de la mucosa de los tractos respiratorio, digestivo y urogenital y de otros tejidos forman una cobertura protectora del epitelio, conectando e inmovilizando muchos microorganismos, hasta ser eliminados. Los movimientos peristálticos (contracciones progresivas y rítmicas del intestino) eliminan los gérmenes captados por el mucus y otras materias presentes. Los pequeños apéndices filamentosos, las pestañas, las células epiteliales que forman muchas de las cavidades y de los orificios orgánicos, barren a las bacterias para enriquecer las superficies susceptibles. Tanto, el exipiro, las lágrimas, el sudor y la saliva proporcionan flujos mecánicos o de limpieza que eliminan a los microorganismos.

En la acción mecánica del mucus, de la saliva y de las lágrimas, se producen secreciones que contienen sustancias inhibidoras o líticas de agentes patogénicos. Un ejemplo es la lisozima, enzima encontrada en muchos líquidos orgánicos y secreciones, tienen acción antimicrobiana moderada pero efectiva, pudiendo eliminar ciertas bacterias. Otras enzimas y hormonas pueden producir efectos químicos y fisiológicos, que reducen la susceptibilidad a las infecciones. La acidez y la alcalinidad de algunos líquidos del organismo tienen efectos inhibitorios sobre muchos microorganismos, conjuntamente con otros factores ya mencionados, que ayudan a impedir que los agentes patogénicos potenciales penetren en los tejidos más profundos (Pelczar, 1981).

Mecanismo de defensa interna.

La Segunda línea de defensa puede ser designada como mecanismos de defensa interna, los cuales pueden ser específicos o inespecíficos. Si los microorganismos o las partículas extrañas consiguen atravesar la piel y los epitelios, el sistema de inmunidad natural (inespecífica o innata) pasa a actuar. La fagocitosis, la inflamación y la producción de interferón son ejemplos de inmunidad inespecífica (Herman, 1979).

La fagocitosis y la producción de interferón son ejemplos de inmunidad inespecífica. Rápidamente el sistema se activa así como la inmunidad específica, que debe eliminar el agente patogénico. La inmunidad inespecífica generalmente es clasificada en dos barreras, para facilitar el entendimiento de cada mecanismo, la primera y la Segunda barrera, en cuanto la tercera se refiere a la inmunidad específica. La primera barrera, esta constituida por la piel, las lagrimas, la saliva (lisozima), secreciones gástricas, secreciones de las enzimas digestivas, secreciones de la bilis, los cilios (aparato respiratorio), bacterias comensales (probióticas) que colonizan el epitelio del aparato digestivo y de la vagina. La segunda barrera son los procesos de defensa, tales como la fiebre, la fagocitosis (polimorfos nucleares, neutrofilos y macrófagos), los procesos inflamatorios, la activación de los mecanismos de complementación de defensa (producción de polipéptidos básicos y de interferones), el procesamiento y la presentación de antígenos por parte de macrófago y linfocitos, respectivamente. La inmunidad específica (tercera barrera) es medida por células controladas por linfocitos T, que son los encargados de la regulación del proceso inmune, por la destrucción celular y producción de células de memoria y la inmunidad humoral que es controlada por linfocitos B, encargado de la producción de anticuerpo y de células de memoria.

Funciones de los probióticos en la primera barrera de defensa.

La actividad inmunológica, de los probióticos, en la primera barrera defensiva del organismo, ocurre por diversos mecanismos: principio de exclusión competitivo que es la prevención de la colonización de patógenos mediante la adhesión o el bloqueo de la superficie intestinal saturando los receptores del epitelio previniendo la unión de los patógenos en sitios (Granato et al., 2004). Ocurre también la producción de ácido láctico y de ácidos grasos de cadena

corta que disminuyen el pH del tracto gastrointestinal, inhibiendo el mantenimiento y el crecimiento de la proliferación de bacterias patogénicas en bajos niveles, sin dañar al hospedero, además la producción de sustancias de acción bacteriostáticas conocidas como bacteriocinas, que son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias patogénicas, la producción de peróxido de hidrógeno, sustancias tóxicas e inhibidoras del metabolismo de Bacterias Entropatógenas. La disminución de potencial de oxidación-reducción que inhibe las bacterias que necesitan de oxígeno para crecer tales como, *Salmonella* y *Shigella*.

Además de eso, las bacterias probióticas, dado su gran número, compiten por nutrientes con las bacterias enteropatógenas, perjudicando su crecimiento y proliferación.

Funciones de los probióticos en la segunda y tercera barrera de defensa.

La ingestión continua de probióticos puede estimular la fagocitosis y las células inmunocompetentes del intestino asociado al tejido linfoide, además de presentar propiedades adyuvantes, ocurre también la estimulación de la inmunidad mediante la activación de macrófagos elevando los niveles de inmunoglobulina (local y sistémica). La estimulación de células inmunocompetente favorece la diferenciación de células supresoras y estimuladoras y la diferenciación de linfocitos, la estimulación para la neutralización de toxinas, virus y otros antígenos el lumen intestinal. La **figura 1** muestra un esquema de como ocurre la estimulación del sistema inmune (Isolauri, 2001).

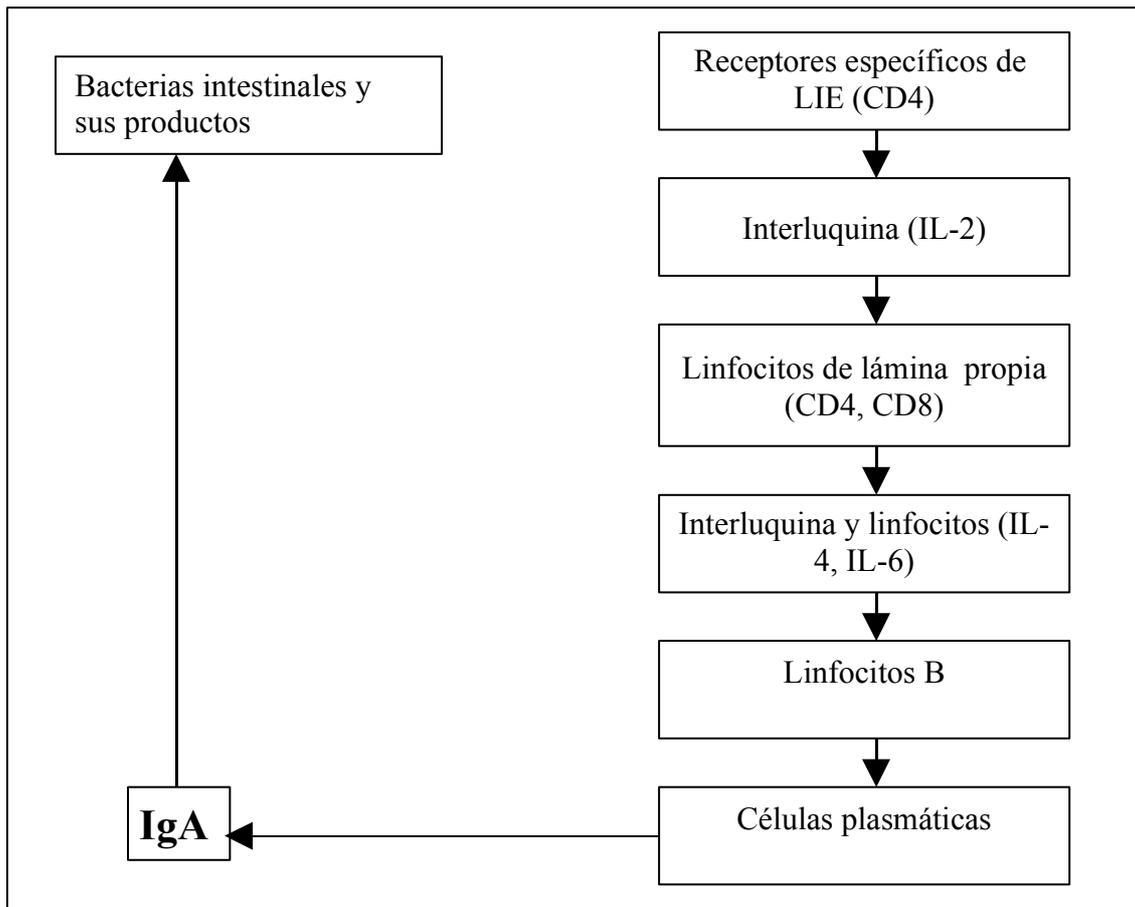


Figura 1: Cuadro esquemático de la estimulación del sistema inmune.

Modulación inmune relacionada con la adhesión.

Un microorganismo probiótico debe activar las células del tejido linfóide asociado al tejido intestinal, las cuales están distribuidas de manera difusa entre las células epiteliales y la lámina propia y submucosa. Los probióticos pueden afectar estas células a través de interacciones entre el tejido linfóide y los microorganismos intactos, los fragmentos del metabolismo producidos en sitios la mayor parte de los antígenos formados en el intestino, proveen el folículo epitelial asociado (FAE) presente en las placas de Peyer, los folículos linfoides aislados y apéndice. Le FAE es formado por una camada simple de células epiteliales columnares intercaladas por células M. Aunque ocurren pocas células M, ellas son las responsables de la mayor parte de la inmunoregulación inducida por los microorganismos probióticos. Esto acontece especialmente cuando el hospedero posee una buena salud intestinal. Además de las células M, la formación de pequeños antígenos macromoleculares pueden a) ocurrir directamente a través de células epiteliales normales, o b) por difusión entre las estrechas uniones de las células. Por lo tanto, la inmunización generada en respuesta a los metabolitos producidos por los probióticos “in situ”, en los mecanismos indirectos de defensa deben ser explicados por esos caminos adicionales. Esto sugiere que las células epiteliales deben ejercer un fuerte papel en el sistema inmunológico, siendo las responsables por la formación de antígenos, así como por el encuentro entre esas células formadoras de células T que favorecen el desenvolvimiento de la inmunización

así como la tolerancia de sus microorganismos, controlando el tamaño de la actividad de la microbiota intestinal (Prioult et al., 2004).

La presencia de células fagocitarias adheridas, como neutrófilos y macrófagos, también son importantes. Los macrófagos han sido observados por poseer receptores Gal/ GalNAc- específicos capaces de reconocer residuos de galactosa en la superficie bacteriana. Las interacciones hidrofóbicas también parecen ejercer un papel en la adhesividad de la superficie de la mucosa, importantes en la fagocitosis. Asimismo mecanismo semejantes parecen estar envueltos en la adhesión de las bacterias a la mucosa intestinal y en las células fagocitarias (Erikson y Hubbard, 2000). Esto significa que un microorganismo probiótico debe ser seleccionado por la compatibilidad con la mucosa intestinal y por la rápida aceptación por el sistema inmunológico, reduciendo el riesgo de infecciones oportunistas.

Los microorganismos no adherentes también influyen en el sistema inmune indirectamente por la modulación de la microbiota, por la permeabilidad intestinal a otros antígenos (por ejemplo, péptidos bacterianos) y por la producción de adyuvantes, los cuales modulan el procesamiento de la respuesta inmune, contra otros antígenos.

Probióticos y sus beneficios.

Los probióticos pueden implantar y colonizar en un tejido del hospedero, trayendo efectos beneficiosos en la salud (Coppola y Turnes, 2004). Existen varios productos con características distintas, sin embargo el uso de los mismos debe ser preciso y con cautela para poder escoger el mejor probiótico para esta o aquella situación (Nava y Davila, 2004).

Estos microorganismos son utilizados como reguladores de la microbiota intestinal, surgen como agentes profilácticos en desordenes intestinales en general (Duc et al., 2004) y como terapéuticos en la recuperación de la comunidades microbianas endógenas de la mucosa gastrointestinal y vaginal (Nava y Davila, 2004).

El tracto gastrointestinal humano es rico en nutrientes, de esta forma es colonizado por una completa microbiota (Pridmore et la, 2003). Además es el encargado de digerir y absorber los nutrientes necesarios para el desarrollo del humano normal. Al nacer entramos en contacto con microorganismos ambientales, siendo estos los primeros que colonizan el intestino, conjuntamente con los primeros alimentos. Cuando somos alimentado con leche materna, la microbiota predominante es de *bifidobacterias* y *lactobacilos*, en cambio cuando somos alimentado con formulas lácteas presentamos un numero mayor de coliformes y bacteroides (Novak, et al., 2001).

Hughes et al. (1999) defiende la hipótesis de que las cepas consideradas probióticas, se adhieren a la mucosa intestinal de forma mas eficaz que otros microorganismos, principalmente más que las cepas patogénicas, de esta forma tiene ventajas competitivas por espacio. Al mismo tiempo podrían producir efectos antagonistas a las cepas patogénicas.

Los probióticos son recomendados en dietas para fortalecer el sistema inmunológico intestinal, atenuar las alergias alimentarias y para la prevención del cáncer (Donaldson, 2004; Coppola y Turnes, 2004; Kanaminogawa y Nanno, 2004). Existen diversos estudios sobre el efecto inmunoestimulador de los microorganismos considerados probióticos, los mecanismos de acción aun no se han esclarecidos, sugiriendo estudios científicos profundos (Coppola y Turnes, 2004; Kanaminogawa y Nanno, 2004).

Efecto de los probióticos sobre la respuesta inmune inespecífica:

En general los animales son considerados saludables, cuando presentan un buen funcionamiento del sistema intestinal, que garantice la existencia de un equilibrio en su microbiota intestinal, un desequilibrio en la microbiota permite la proliferación de organismos patogénicos (Meyer et al., 2001).

Los mayores beneficios obtenidos con el uso de los probióticos esta relacionado con la adherencia al mucus y al epitelio intestinal (Granato et al., 2004).

La adherencia al epitelio y al mucus intestinal es asociado con la estimulación del sistema inmune. La adherencia al mucus intestinal es también importante para la colonización, un requisito para los probióticos es controlar el desequilibrio de la microbiota intestinal, el mucus intestinal tiene un doble papel; protege a la mucosa de determinados microorganismos patógenos, es fuente de nutrientes y es el medio en la cual las bacterias beneficiosas pueden proliferar, (Juntunen et al., 2001).

La actividad anti-infecciosa de *Bifidobacteria* probióticas contra *Escherichia coli* productora de toxinas Shiga (STEC) O157:H7 fue evaluada en un modelo de desafío empleando ratones ante la infección con STEC. La patogenicidad de la infección de STEC, fue caracterizada por una marcada pérdida de peso corporal y por la muerte posterior, observada en los controles infectados. El tratamiento con probiótico produjo una concentración elevada de ácido acético y una disminución del pH en el intestino, estos efectos fueron relacionados con la actividad anti-infecciosa, ya que la combinación de una concentración elevada de ácido acético y de un pH bajo inhiben la producción de STEC durante el crecimiento "in vitro" (Asahara et al., 2004).

La presencia de microorganismos con propiedades probióticas en el intestino es de gran importancia, puestos que estos componen un ecosistema, impidiendo la colonización por especies patogénicas como *Listeria monocytogene*, *E. coli*, *Salmonella sp.* Es un efecto competitivo en el cual se producen compuestos inhibitorios (Jacobsen et al., 1999).

Varios microorganismos como *Lactobacilos*, *bifidobacteria*, *enterococos* y levaduras, son considerados microorganismos probióticos, por presentar gran resistencia a las condiciones ácido lácticas del ambiente gastrointestinal, poseen elevada capacidad de adherencia al mucus intestinal, así como actividad antagonista con otros microorganismos patógenos (Weese et al., 2003).

Las especies de *Lactobacillus* que colonizan la mucosa intestinal, se adhieren a este tejido, estabilizando la microbiota local de los animales durante las fases de desarrollo y de adultos (Peña et al., 2004).

Diversos modos de acción probiótica ya fueron considerados, la interferencia bacteriana con patógenos intestinales es una modalidad bien establecida de acción y puede ser mediada por las bacteriosinas, sustancias antimicrobianas, específicas, que antagonizan con patógenos intestinales. Entretanto los probióticos parece también afectar directamente la función inmune de la mucosa con una modulación de síntesis de inmunoglobulina A (IgA), la formación del mucus y la atenuación del proceso antiinflamatorio mediado por la citoquinas locales (Wehkamp et al., 2004).

El uso de agentes probióticos parece ser muy significativo contra diarreas virales, sugiriendo que exista un mecanismo inmunológico responsable por este beneficioso. También puede ser observado con respecto a la afinidad de microorganismos a la mucosa intestinal, una activación del sistema inmune innato, estimulando la actividad de células Natural Killer (Novak et al., 2001).

Un trabajo realizado por Perdígón et al. (1986) evidenció que dos días después de administrar un producto probiótico con células viables y no viables, fue observada *in vitro* la actividad fagocítica de macrófagos peritoneales en ratones, superior al grupo control.

Muchos trabajos científicos también se preocupan por una posible reacción de hipersensibilidad con agentes probióticos. Sin embargo no existen indicadores posibles capaces de atribuir esta reacción a las bacterias ácido lácticas, con frecuencia se observa un aumento de la respuesta fagocitaria de modo general, la manera como esto ocurre aun no esta determinada (Erickson y Hubbard 2000).

También se ha estudiado la maduración de las células dendríticas y su estimulación a través de las moléculas coestimuladoras de la familia B7 en probióticos "*in vitro*", observando un modesto aumento de su expresión (Drakes et al., 2004).

Los probióticos fueron probados para aumentar las diferentes barreras del tracto gastrointestinal, por exclusión competitiva, eliminación inmune y regulación inmune. Fueron probados también para estimular la resistencia inespecífica del hospedero, ayudando de ese modo a la eliminación de patógenos. Consecuentemente la aplicación clínica mejor documentada de los probióticos no está en tratamientos de diarreas agudas. Los seres humanos, los efectos documentados fueron relatados para aliviar la inflamación intestinal, la normalización de las funciones de la mucosa intestinal y el control de las reacciones de hipersensibilidad. Estos datos demuestran que los probióticos promueven mecanismos endógenos de defensa del hospedero. Asimismo, la modificación de la microflora intestinal por terapia probiótica puede ofrecer un

potencial terapéutico en circunstancias clínicas asociadas con las funciones de la barrera intestinal y la respuesta inflamatoria (Isolauri, 2001).

La respuesta inmune puede ayudar a controlar las bacterias intestinales, limitar la translocación y disminuir los riesgos de infección. Con el tiempo la microbiota intestinal puede inducir una tolerancia inmunológica, trayendo como resultado la disminución de la capacidad de reacciones en algunos de sus componentes. Estos microorganismos aumentan constantemente las líneas de defensa del tracto gastrointestinal a través de mecanismos como exclusión inmunológica, eliminación del carácter inmune y regulación inmune, que permite el establecimiento de esta convivencia dinámica entre los seres humanos y los microorganismos (Novak et al., 2001).

Los mecanismos de acción antiinflamatoria aparente, de los organismos probióticos es oscuro. El *Lactobacillus reuterii* es eficaz contra colitis inhibiendo la interleucina-10 (ratones de IL-10) deficiente. El factor de crecimiento de NERVO (NGF), además la actividad de crecimiento neural, tiene efectos antiinflamatorios significativos en diversos sistemas experimentales “*in vitro*” e “*in vivo*”, incluido un modelo de colitis. Estos autores realizaron un experimento para explorar el mecanismo de efecto de *Lactobacillus reuterii* en líneas epiteliales humanas T84 e HT29 y en síntesis de NGF y la respuesta en IL-8 en el factor de necrosis tumoral alfa (Tnf- α). Concluyeron que *Lactobacillus reuterii* tiene actividad antiinflamatoria al epitelio humano, siendo probablemente relacionado y actividad de probióticos ingeridos (Ma et al., 2004).

Fagocitosis

La fagocitosis es un mecanismo de los llamados no específicos de la respuesta inmune. Este mecanismo es activado por ciertas moléculas que actúan como señales, varios autores han demostrado la activación de esta función cuando se administran leches fermentadas con Lactobacilos. Se observó un aumento en la capacidad fagocítica, en 28 voluntarios humanos después de consumir 7×10^{10} CFU / día de *B. bifidum* o de *L. acidophilus* contenidos en 360 ml de leche fermentada. Dicho efecto ha sido observado inmediatamente después de concluidas 3 semanas de ingerir el producto fermentado. Sin embargo, curiosamente la actividad fagocítica se incrementa aún más cuando se mide 6 semanas después de interrumpir la ingesta de la leche fermentada (Wehkamp et al, 2004).

Efecto de los probióticos sobre la respuesta inmune específica:

El sistema inmune de la mucosa gastrointestinal es estimulado diariamente por el pasaje continuo de los alimentos y de antígenos microbianos. El efecto de estas proteínas en la mucosa intestinal es la activación y supresión de células T, conduciendo a una respuesta de antígenos proteicos ingeridos, representando una tolerancia oral. La supresión activa es definida como un estado de respuesta de linfocitos T inducido por la acción directa de células T regulatorias, que secretan factores inhibitorios tales como el factor β y el factor de crecimiento y la interleucina-10 (IL-10). Muchos factores parecen afectar la

inducción de tolerancia, incluido la edad del hospedero, la naturaleza del antígeno, y la frecuencia de alimentación, la microbiota intestinal presenta un papel principal en la inducción y manutención de la tolerancia, sin embargo sus mecanismos no están bien esclarecidos (Prioult et al., 2004).

Las bacterias ácido lácticas comprenden un porcentaje grande de la microbiota normal de tracto gastrointestinal, estos microorganismos ejercen varios efectos beneficiosos en el hospedero. Modulan la función inmune del individuo, los antígenos del lumen intestinal llegan al tejido linfoide de la mucosa a través de las placas de Peyer en el intestino delgado. La entrega de los antígenos directamente a este sitio podría realzar la posibilidad de encontrar unos antígenos inmunizantes. Las vacunas actualmente elaboradas son eficaces contra bacterias patogénicas atenuadas tales como *Micobacterium*, *Salmonella*, *Clostridium*, muchos de los cuales fueron estudiados asociado con las placas de Peyer. Las bacterias ácido lácticas son considerados microorganismos seguros y están siendo evaluados para un uso como sistema de entrega de antígenos en modelos biológicos. Las bacterias ácido lácticas se asocian al tracto gastrointestinal de diversas maneras (Plant y Conway 2001).

Las bacterias ácido lácticas recombinantes probaran ser inmunogénicas por la ruta intranasal en ratones y excitar respuestas sistémicas muy elevadas de inmunoglobulinas G (IgG1, IgG2b, e IgGa) correlacionada con dosis de antígenos (Grangette et al, 2001).

Después del tratamiento con componentes bacterianos, en las placas de Peyer los linfocitos migran para todas las paredes del tracto gastrointestinal diseminando respuestas inmunes por todo el intestino (Novak et al., 2001).

Las células linfoides se sitúan en tres compartimentos distintos en el tracto gastrointestinal: en el tejido linfoide asociado al tracto gastrointestinal (GALT). El GALT comprende las placas de Sèller, el apéndice y los numerosos linfonodos. Se considera que estos lugares son inductivos para respuestas inmune intestinales. La lámina propia y compartimiento epitelial constituyen locales efectores, mas no son importantes en los términos de expansión celular y de diferenciación dentro del sistema inmune de la mucosa. El GALT y otras estructuras del tejido linfoide asociado con la mucosa son cubiertos por un epitelio característico asociado a folículo que contienen las células de la membrana (M).

Estas células epiteliales finas especializadas son particularmente eficaces en la captación de antígenos vivos e inoperantes del lumen intestinal, especialmente quedando naturalmente articulado, muchas bacterias infecciosas enteropatógenas y agentes virales usan las células M como portal de entrada (Brandtzaeg, 2002).

Citoquinas

En estudios "in Vitro" se ha podido observar que al incubar células mononucleares de sangre periférica con *L. casei*, *L. acidophilus* o *Bifidobacterium sp* se favorece la producción de IL1-a , TNF-a y IFN-g . Tanto las bacterias intestinales como las lácticas inducen la secreción de citoquinas, por lo que podría existir una relación entre algunos alimentos, la flora intestinal y la regulación del sistema inmune (Donglai et al, 2004).

El *L. acidophilus* Ke-10 posee también un efecto inmunomodulador en experimentos tanto "in Vivo" como "in Vitro". Así, se ha comprobado su capacidad para restablecer la actividad proliferativa de linfocitos y para producir IL2 en ratas con inmunodeficiencia inducida por radiación (Zalashko et al, 1997).

También se ha observado que el *L. acidophilus*, tanto en cepas activas como en producto terminado induce la producción de IFN-g por macrófagos (Kitazawa et al, 1994). Otros investigadores han descubierto que, después de probar distintas bacterias lácticas, solo el *Lactobacillus helveticus* en un medio cuya fuente proteica es la b -caseína, es capaz de modular la proliferación de linfocitos, aunque no ejerce acción alguna sobre la actividad citotóxica de las células "natural killer". Cuando el sobrenadante del cultivo es activado por el mitógeno concavalina A se produce un incremento en la producción de IFN g y una disminución de los niveles de IL2, resultados que se correlacionan con un descenso en la proliferación de linfocitos. Los autores concluyen que la actividad del sobrenadante del cultivo podría estar relacionada con la interacción con monocitos-macrófagos y células T "helper", especialmente del tipo Th1 (Laffineur et al, 1996).

Con el fin de estudiar los mecanismos de acción debidos a la fermentación de la leche con las bacterias lácticas, se han llevado a cabo diversos estudios para investigar qué componentes procedentes de las LAB podrían intervenir en el desarrollo de la actividad inmunomoduladora (Donglai et al, 2004).

En este sentido, se ha atribuido la producción de citoquinas al efecto que podría ejercer un componente de la pared celular de las bacterias lácticas (Solis et al, 1991). Por su parte, Rangavajhyala et al (1997) ha determinado que la producción de citoquinas proinflamatorias (IL1-a y TNF-a) a partir de macrófagos por una determinada cepa de *L. acidophilus* (LA1) depende de un componente de naturaleza no lipopolisacárida procedente del LA1, ya que el LPS de *E. coli* a distintas concentraciones no consigue estimular la secreción de dichas citoquinas. Un estudio para conocer en que medida el yogur favorecía la recuperación de un grupo de anoréxicas, se midió la síntesis de Interferón g (INF-g), las Interleuquinas 2, 4, y 6 y el factor de necrosis tumoral a (TNFa). Los resultados demostraron un aumento significativo de todas estas citoquinas en el período en que los pacientes tomaron el yogurt (Marcos et al, 2000).

En un reciente e innovador estudio de investigación llevado a cabo "in Vitro" se comparan los efectos inmunológicos de LAB y distintas enterobacterias sobre enterocitos humanos (Delneste et al, 1998 y Peña et al, 2004). Mientras que las enterobacterias son capaces de activar las células epiteliales del intestino por

sí mismas, las LAB lo hacen mediante la inducción de la expresión de ciertos marcadores superficiales en las células epiteliales intestinales haciéndolas más sensibles a la exposición simultánea de IFN-g. Por otra parte, el mecanismo disparado por las enterobacterias da lugar a una respuesta inflamatoria local (con producción de IL-8, MCP-1, TNF- α y GM-CSF) que no ocurre con las LAB, característica interesante en relación con su papel protector de la mucosa intestinal.

Probióticos de Bacterias ácido lácticas.

Estudios realizados con bacterias ácido lácticas demuestran que los probióticos tienen efecto inmunoestimulante en animales y en el hombre, a pesar de que aun no están esclarecidos los mecanismos de acción por lo que esto ocurre (Cross, 2002). Este efecto puede estar relacionado con la capacidad de los microorganismos probióticos de integrarse con las placas de Peyer y las células epiteliales intestinales, estimulando las células B productoras de IgA y la migración de células T del intestino (Perdigón y Holgado, 2000). También ha sido demostrado que los probióticos favorecen la actividad fagocitaria inespecífica de macrófagos alveolares, sugiriendo una acción sistémica por secreción de mediadores que estimulan el sistema inmune.

Maassen (2000) comprobaron que la síntesis de citoquinas por la mucosa intestinal dependía de la cepa de *Lactobacillus* utilizada, con la necesidad de realizar una cuidadosa selección de cepas de candidatas a ser probióticas. *Lactobacillus casei* presenta efecto inmunomodulador similar al de *Bacillus calmette-guerin* (BCG), *Corynebacterium parvum* y *Streptococcus pyogenes* (Perdigón y Alvarez, 1992). Este *lactobacillus* induce una respuesta celular tipo 1 en modelos murinos, aumentando la producción in Vitro de IL-2 por células peritoneales y de IFN- γ por células esplénicas (Neuman, 2000). Su administración protege a los ratones contra los patógenos intestinales por la inducción del aumento de la capacidad fagocítica de macrófagos peritoneales y la actividad de enzimas envueltas en la fagocitosis (Kato et al., 1983; Perdigón y Alvarez, 1992), la actividad de las células asesinas (Natural killer) (Kato et al., 1984), la producción del factor citotóxico por las células de Kupfer o de macrófagos peritoneales (Hashimoto, 1985), y la secreción de IgA en el lumen intestinal (Perdigón, 1991; Perdigón, 1995).

El efecto de otros *lactobacillus* sobre la inmunidad también ha sido estudiado. Ávila, (1998) compararon la eficiencia de *L. acidophilus*, y de una vacuna específica y, la asociación de estos dos productos en el control de la diarrea por *E. coli* enterotoxigenica en cerdos y demostraron que los mejores resultados fueron obtenidos con la combinación de la vacuna y el probiótico. *L. casei* cepa *Shirota*, estimula la respuesta inmune celular, aumentando la concentración de IFN- γ , IFN- α y IL- 12, provocando una reducción en los virus predominantes del tracto respiratorio, cuando fue administrada por vía nasal (Hori, 2001) y oral (Hori, 2002).

L. rhamnosus reduce la morbilidad provocada por *E. coli* O157: H7 en ratones infectados experimentalmente, estimulando el aumento de la actividad fagocítica y de anticuerpos predominantes específicos en la IgA (Shu y Gill,

2002). Perdígón, (1999) demostraron que *L. casei* y *L. plantarum* se integran con las células M de las placas de Peyer, estimulando la inmunidad secretora específica. Vitini, (2000) demostraron la influencia de administrar por vía oral, los diferentes especies de bacterias ácido lácticas tales como *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* sudsp. *Bulgaricus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Streptococcus thermophilus*, y verificaron que el aumento de la producción de IgA no siempre estuvo correlacionado con el aumento del número de células T CD4, indicando que algunas bacterias sometidas a experimentos inducen una activación de células B productoras de IgA. También fue observado que no hubo influencia sobre las células T CD8, indicando que esas bacterias no fueron capaces de inducir citotoxicidad.

Otras bacterias ácido lácticas también presentaron actividad inmunomoduladora. Yasui, (1999) comprobó que la administración de *Bifidobacterium breve* estimuló el sistema inmune humoral en ratones provocando un aumento de la producción de IgA anti-Rotavirus y de IgG antiviral de la influenza, protegiéndolos contra las infecciones. Shu et al, (2001) relataron que cerdos tratados con *B. lactis* HN109 presentaron una disminución de diarrea asociada con Rotavirus y *E.coli*, unido a eso un aumento de los anticuerpos contra patógenos específicos en el tracto gastrointestinal, de la concentración de neutrófilos sanguíneos y de la respuesta proliferativa de linfocitos T.

Con relación a las bacterias no ácido lácticas, se puede citar entre otros, el trabajo de Coppola et al. (2004) que estudiaron el efecto de los probióticos preparados con *Bacillus cereus* var. *toyoi* y con *Saccharomyces boulardii* la respuesta inmune de ratones y la vacunación simultánea con una bacterina tetravalente de *E.coli* patogénica para cerdos y una vacuna replicante contra Parvovirus canina. Comprobaron que el probiótico de *S. boulardii* induce una respuesta humoral significativamente más alta que la bacterina, en cuanto al probiótico de *B.cereus* var. *toyoi* induce una respuesta significativamente más alta que la vacuna de Parvovirus en canino. Fue detectado que esplenócitos de ratones suplementados con *S. boulardii* producían IL-4 quedando estimuladas con fimbrias purificadas de *E. coli* in Vitro.

Probióticos de *Saccharomyces boulardii*.

Saccharomyces boulardii es una levadura, no patogénica, utilizada en la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales (Lourdes-Hattingh y Viljoen, 2001), que mantiene sus propiedades probióticas aun cuando es administrada junto con antimicrobianos (Rolfe, 2000). Los probióticos preparados, con esa levadura protegen los ratones de las toxinas de *Clostridium difficile* (Corthier, 1992), en ratones convencionales y gnotobioticos contra infecciones por *Salmonella typhimurium* y *Shigella flexnei* (Rodríguez, 1996). La administración aumento significativamente la concentración de IgA intestinal en ratones (Buts et al., 1990), así como de antitoxina A de *C. difficile* en IgA intestinal (Qamar, 2001). Una porteaasa extraída de levadura inhibió los efectos de las toxinas A, B de *C. difficile* en la mucosa del colon humano (Castagliuolo, 1999).

La administración de probiótico elaborado con la levadura favorece la repuesta inmune celular tipo 1 y 2 estimulando la producción de IFN- γ , y la IL-4 en ratones gnotobioticos (Rodríguez, 2000). Coppola et al. (2004) comprobaron que *S. boulardii* aumento la respuesta inmune humoral de ratones a una bacterina de *E. coli*.

Probióticos de *Bacillus*.

La principal ventaja de *Bacillus* sobre las bacterias ácido lácticas, en la elaboración de un probióticos, reside en la capacidad de esporular, lo que les confiere mayor sobre vivencia durante el; transito estomacal (Hoa, 2000), durante la elaboración, transporte y almacenamiento (Gil Turnes., 1999). Estos probióticos promueven la ganancia de peso y el control de las diarreas, reducen la mortalidad peri natal en cerdos (Zani, 1998), y en pollos (Richter et al., 1999). Cuevas, (2000) comprobaron el aumento de la ganancia peso y la disminución significativa de la mortalidad por el síndrome de ascite en pollos, Lohnert et al. (1999) comprobaron el aumento de la ganancia de peso al 10 % en terneros machos suplementados con este probiótico.

Otras cepas de *Bacillus* fueron también utilizadas con resultados satisfactorios como probióticos. *B.cereus* CIP 5832 produce efectos beneficiosos en cerdos durante el fin de preñes y la lactancia, así como en lechones en crecimiento (Alexopoulos, 2001).

La eficacia de los probióticos depende de la concentración bacteriana en la dieta. Roth y Kirchgessner (1988a) comunicaron que el aumento de peso total y la conversión, alimentaría de los cerdos mejoraron cuando el probióticos fue incluido en las concentraciones de 5×10^8 o 1×10^9 esporas viables por kg de dieta, mas no en concentraciones menores. Eidelsburger et al. (1992) utilizaron el mismo probiótico en concentraciones de $2,5 \times 10^8$ esporas por Kg de dieta, y la ganancia de peso y el consumo de la ración cayeron 8,1% y 9,0% respectivamente, entretanto la conversión alimenticia aumento en 5,6%. Kyriakis, (1999) relataron que *B.licheniformes* fue mas efectivo en el control de *Escherichia coli* entero tóxica en cerdos en concentración de 1×10^7 esporas por gramo de dieta que aun la concentración diez veces menor. En terneros, se encontró, también una relación entre la concentración y la eficacia, ya que el aumento de peso y la eficiencia alimentaría aumentaron de 3,9% y 3,2 % respectivamente. Cuando la concentración de *Bacillus cereus* fue de 1×10^9 esporas viables por Kg, entretanto en las concentraciones menores no tiene efecto (Roth y Kirchgessner, 1988b).

Además de los efectos mencionados, las bacterias del genero *Bacillus*, pueden estimular la respuesta inmune y ser utilizados como inmunomoduladoras. *B. firmus* aumento la resistencia contra la infección experimental por *Listeria monocytogenes* en ratones (Mara, 1994). Beliavskaia, (2001) demostraron que *B. subtilis* recombinante evita la inmunosupresion causada por la vacunas replicantes contra Parvovirus y Cinomose, acelerando la formación de clones de memoria y aumentando la respuesta inmune especifica debido a la acción del interferon $\gamma 2$ secretado por la bacteria no interior del lumen intestinal. Conceicao et al. (2002) demostraron que el probiótico Cen Biot estimula

respuesta inmune humoral en una bacteria de *Escherichia coli* en ratones, Coppola et al. (2003) comprobaron que este probiótico aumenta significativamente la respuesta inmune de ratones en una vacuna replicante de Parvovirus canino.

El *Bacillus subtilis* es un agente inmuno estimulador en una variedad de enfermedades in Vitro y estimulador in vivo de secreción de inmunoglobulina A (Ig A) (Green et al., 1999).

Consideraciones finales.

Dentro de los efectos que provocan los probióticos en animales y en el hombre se destaca su acción estimulante sobre el sistema inmunológico al favorecer la diferenciación de células supresoras o estimuladoras y como resultado final mejorar los rendimientos productivos. Se han realizado muchas pesquisas para demostrar dicho efecto, pero aun existe desconocimiento sobre los mecanismos de acción, por lo que se hace necesario continuar el estudio para esclarecerlos.

Referencias

- Abbas, Z. y Jafri W. 1992. Yogurt (dahi): A probiotic and therapeutic view. JPMA. J. Pak. Med. Assoc. 42 (9): 221-224.
- Adachi, S. 1992. In: The Lactic Acid Bacteria. Vol.1. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. (Wood, B. J. B. ed) p. 233-262. Elsevier.
- Alexopoulos, C. 2001. Field evaluation of a bioregulator containing live *Bacillus cereus* spores on health status and performance of sows and their litters. Journal of Veterinary Medicine, Berlin. 3 (48): 137-145.
- Andrews, A. 1992. Probiotics and other Prophylactic Agents. Ocasional Publication. No. British Society of Animal Production.
- Anon, 2000. Antibióticos y otros promotores del crecimiento en la avicultura. Industria Avícola. Julio: 14-18.
- Anon, 2004 – 2005. Qué son los probióticos. portal alimentos. Buenos Aires – Argentina. <http://www.portalalimentos.com.ar/funcionales/>.
- Asahara, T.; Nomoto, K.; Watanuki, M., Yokokura, T. 2001. Antimicrobial activity of intraurethally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. Antimicrob. Agents Chemother. 6 (45): 1751-1760.
- Avila, F. A. 1998. Use of vaccine and probiotic in the control of swine diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia, Belo Horizonte. 5 (50): 505-511.
- Avila, F., Parllillo A., Schocken R., Lucas F., Orgaz A. y Quintana J. 1995. A comparative study of the efficiency of a pro-biotic and anti-K99 and anti-A14 vaccines in the control of diarrhea in calves in Brazil. Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop. 48 (3): 239-243.
- Beliavskaia, V. A. 2001. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii, Moskva. 6 (78): 77-82.
- Bengmark, S. 1999. Gut microenvironment and immune function. To Current Opinion. February: 20-27.
- Bilgili, S. y Moran E. 1990. Influence of whey and probiotic supplement withdrawal feed on the retention of salmonella intubated into market age broilers. Poult. Sci. 698 (10): 1670-1674.
- Bortolozzo, F. F y Kira, K. K. 2002. Probióticos. Uso de los probióticos en la alimentación de pollos de ceba. File://A:/ probióticos 10. Htm.pp:1
- Bradwell, A. 1980. Bench Manual of techniques for the preparation of immunological and immunodiagnostic reagents. Parte I. World Health Organization. Imm/PIR. Pag 1.
- Brandtzaeg, P. 2002. Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. Ann. N.Y. Acad. Sci. (964): 13-45.
- Brown, I., Warhurst M., Arcot J., Playne M., Illman R. y Topping D. 1997. Fecal numbers of bifidobacteria are higher in pigs fed *Bifidobacterium longum* with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch. J. Nutr. 127 (9): 1822-1827.
- Burks, A. y Helm R. 1997. Impact of dietary yogurt on immune function. American Journal of the Medical Sciences. 313 (2): 120-123.
- Castagliuolo, I. 1999. *Sacharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A and B effects in human colonic mucosa. Infection and Immunity, Washington. 1 (67): 302-307.

- Cherdyntseva, N., Litviakov N., smolianinov E., Beliavskaia V. y Masycheva V. 1997. Modulation of the antitumor effect of cyclophosphamide by the recombinant probiotic subalin. *Vopr. Onkol.* 43 (3): 313-316.
- Colin L., Morales E. y Avila E. 1994. Evaluación de promotores del crecimiento para pollos de engorde. *Veterinaria México.* 25 (2):141-144.
- Conceicao, F. R.; Zani, J. L.; Gil-Turnes, C. 2002. Effect of probiotic Cen Biot on the humoral response to an *Escherichia coli* bacterin. *Food and Agricultural Immunology, Basingstoke.* 2 (14): 135-140.
- Coppola, M. M.; Conceicao, F.R.; Gil-Turnes, C. 2004. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus var. Toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. *Food and Agricultural Immunology, Basingstoke.* (16).
- Coppola, M. M.; Turnes, C.G. 2004. Probioticos e resposta immune. *Ciencia Rural.* 4 (34): 1297-1303.
- Cortés, C, Casauboa H y Carrillo, D. 2000. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorde. *Vet. México.,* 31(4): 301-308.
- Corthier, G. 1992. Effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on the activity of *Clostridium difficile* toxins in mouse digestive tract. *Toxicon, Oxford.* 12 (30): 1583-1589.
- Coventry, M., Gordon J., Wilcock A., Harmark K., Davidson B., Hickey M., Hiller A. y Wan J. 1997. Detection of bacteriocins of lactic acid bacteria isolated from foods and comparison with pediocin and nisin. *J. Appl. Microbiol.* 83 (2): 248-258.
- Craven, S. y Williams D. 1997. Inhibition of *Salmonella typhimurium* attachment to chicken cecal mucus by intestinal isolates of Enterobacteria and lactobacilli. *Avian Dis.* 41 (3): 548-558.
- Cuevas, A. C. 2000. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorde. *Veterinaria Mexico.* 4 (31): 301-308.
- Dawson, K. 1990. Biotechnology in the Feed Industry. *Proceedings of Alltech's Sixth Annual Symposium* (Edited by Lyons, T. P. Nicholasville, USA) p:59-78.
- Desmond, C.; Fitzgerald, G. F.; Stanton, C., Ross, R. P. 2004. Improved stress tolerance of Gro ESL –overproducing *Lactococcus lactis* and probiotic *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *Appl. Environ. Microbiol.* 10 (70): 5929-5936.
- Delneste, Y, Donnet-Hughes A, Schiffrin EJ. 1998. Functional foods: mechanisms of action on immunocompetent cells. *Nutr Rev.* 56(1):93S-98S.
- Donalson, M. S. 2004. Nutrition and cancer. A review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutri. J.* 3 (19): 1-21.
- Donglai Ma, Paul Forsythe, and John Bienenstock. 2004. Live *Lactobacillus reuteri* Is Essential for the Inhibitory Effect on Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Interleukin-8 Expression. *Infection and Immunity,* 72 (9): 5308–5314.
- Drakes, M.; Blanchard, T.; CZIN, S. 2004. Bacterial probiotic modulation on dendritic cell. *Infect. Immun.* 6 (72): 3299-3309.
- Drennan, M. 1990. Biotechnology in the feed industry. *Proceedings of Alltech's Sixth Annual Symposium* (edited by Lyons T. Nicholasville USA) . 495-500.
- Duc le H, Hong H.A, Cutting S.M. 2003. Germination of the spore in the gastrointestinal tract provides a novel route for heterologous antigen delivery: *Vaccine.* Oct. 1: 21 (27-30): 4215-4224.

- Duc, L.; Hong, H. A.; Barbosa, T. M.; Henriques, A. O.; Cutting, S. M. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotic available for human use. *Appl. Environ. Microbiol.* 4 (70): 2161-2171.
- Eidelsburger, U.; Kirchgessner, M.; Roth, F. X. 1992. Zum einfluss von fumarsaure, salzsaure, natriumformial, Tylosin und Toyocerin auf tagliche zunahmen, futteraufnahme, futterverwertung und verdaulichkeit. 11. Unterchungen zur nutritiven wirksamkeit von organischen sauren in der ferkelaufzucht. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Berlin. 4-5 (68): 82-92.
- Erasmus, L. 1991. Feed-compounder. *Veterinary Record* 11 (7): 24-29.
- Erickson, K. L.; Hubbard, N.E. 2000. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J. of Nutri.* 2 (130): 403-409.
- Fukushima, M. y Nakano M. 1996. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecales* on cholesterol metabolism in rat fed on a fat-and cholesterol-enriched diet. *Br. J. Nutr.* 76 (6): 857-867.
- Fuller, R. 1978. Epithelial attachment and other factor controlling the colonization of the intestine of the gnotobiotic chicken by *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.* 45. 389-395.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. *J. Appl. Bacteriol.* 66:365.
- Fuller, R. 1992. Probiotics: Concepts and functions. In: *Probiotics. The Scientific Basis*. Edited by Roy Fuller. Published by Chapman and Hall. Boundary Row. London Pag: 12-32.
- García, C. 1976. Cultivo y estimulación de linfocitos humanos purificados con Urografin. Trabajo presentado en Evento Científico 250 Aniversario U. H. Facultad de Biología.
- Gedek, B. 1991. Regulation of the intestinal flora through food. *Zbl. Hyg.* 191: 272-301. Public Works and Government Services Canada. Translation Services. Multilingual Translation.
- Giambrone, J. 1996. Inmunosupresión en las aves: Causas y prevención. *Avicultura Profesional.* 14 (5): 42-45.
- Gil Turnes, C. 1999. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic Cen Biot. *Brazilian Journal of Microbiology*, Sao Paulo. 1 (30): 11-14.
- Glade, M. 1990. Biotechnology in the feed industry. *Proceedings of Alltech's Sixth Annual Symposium* (edited by Lyons T. P. Nicholasville USA). p. 469-476.
- Granato, D.; Bergonzelli, G. E.; Pridmore, D. R.; Marvin, L.; Rouvet, M.; Theulaz, I. E. C. 2004. Cell surface-associated elongation factor tu mediates the attachment of *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 (La1) to human intestinal Cells and mucins. *Infect. Immun.* 4 (72): 2160-2169.
- Grangette, C.; Mu, H.; Alouf, L.; Goudercourt, D.; Geoffroy, M. C.; Turneer, M.; Mercenier, A. 2001. Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant *Lactobacillus plantarum*. *Infect. Immune.* 3 (69): 1547-1553.
- Green, D. H.; Wakeley, P. R.; Page, A.; Barnes, A.; Baccigalupi, L.; Ricca, E.; Cutting S. M. 1999. Characterization of two *Bacillus* probiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 9 (65): 4288-4291.
- Grosso, C.R. F.; Trindae, C. S. F. 2004. Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus*, *bifidobacterium lactis* in acidified milk and of immobilized *B. lactis* in yoghurt. *Braz. J. Microbiol.* (35): 151-156.
- Guillot, J. F. (2000). The pros and cons of probiotics. Make probiotics work for poultry. *World Poultry.* 16 (7): 18-21.
- Gunther, K. 1995. The role of Probiotics as feed additives in animal nutrition.

- Department of Animal Physiology and Animal Nutrition. Gottingen, Germany.
- Hashimoto, S. 1985. Cytotoxic factor production by Kupfer cells elicited with *Lactobacillus casei* and *Corynebacterium parvum*. *Cancer Immunology Immunotherapy*, New York. 2 (20): 117-121.
- Havenaar R. y Huis in't Veld J. 1992. In the *Lactic Acid Bacteria*: Vol. 1. The Lactic.
- Hedouin V., Neut C., Lescut D., Rambaud J. y Colombel J. 1995. Bacterial translocation of endogenous bacteria. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 19 (4): 393-401.
- Herman, N., Eisen, M. D. 1979. *Microbiologia de Davis*. *Inmunologia*. (2).
- Higginbotham, J. 1991. Feed-comounder. *Veterinary Record*. 11 (5): 37-39.
- Ho, N. T. 2000. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington. 12 (66): 5241-5247.
- Ho, N.T, Baccigalupi L, Huxham A, Smertenko A, Van PH, Ammendola S, Ricca E, Cutting AS. 2000. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. *Applied Environ. Microbiol. Dec.*, 66 (12): 5241-5247.
- Hori, T. 2001. Effect of intranasal administration of *Lactobacillus casei* Shirota on Influenza virus infection of upper respiratory tract in mice. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, New York. 3 (8): 593-597.
- Hori, T. 2002. Augmentation of cellular immunity and reduction of Influenza virus titer in aged mice fed *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, New York. 1 (9): 105-108.
- Hosoi, T., Ametani, A., Kiuchi, K. and Kaminogawa, S. (2000) Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (*natto*), catalase, or subtilisin. *Can. J. Microbiol.* 46,892-897.
- Hughes, A. D.; Rochat, F.; Serrant, P.; Aeschlimann, J. M.; Schiffrin, E. J. 1999. Modulation of nonspecific mechanism of defense by lactic acid bacteria: effective dose. *J. Dairy Sci.* (82): 863-869.
- Inooka, S, Uehara S, Kimura M. 1986. The effect of *Bacillus natto* on the T and B lymphocytes from spleens of feeding chickens. *Poult Sci.* 1986 Jun; 65(6):1217-9.
- Isolaury, E. 2001. Probiotics in human disease. *Am. J. Clin. Nutr.* (73):1142-1146
- Isolaury, E.; Sutas, Y.; Kankaanpaa, P.; Arvilommi, H.; Salminen, S. 2001. Probiotics: effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* (73): 444-450.
- Jacobsen, C. N.; Nielsen, V. R.; Hayford, A. E.; Moller, P. L.; Michaelsen, K. F.; Paerregaard, A.; Sandstrom, B.; Tvede, M.; Jakbsonen, M. 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus spp.* By in vitro techniques and evaluation of colonization ability of five selected strains in humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 11 (65): 4949-4956.
- Jin, C., Ho W., Ali M., Abdullah N. y Jalaluding S. 1996a. Effect of adherent *Lactobacillus spp* on in vitro adherence of salmonellae to the intestinal epithelial cells of chicken. *J. Appl. Bacteriol.* 81(2): 201-206.
- Jin, C., Ho W., Ali M., Abdullah N. y Jalaluding S. 1996b. Effects of intestinal lactobacillus isolates on pathogens of chicken. *Letters in Applied Microbiology.* 23 (2): 67-71.
- Jiraphocakul, S; Sullivan, W.T; Shahani, M, K. 1990. Influence of dried *B.subtilis* culture and antibiotics as performance and intestinal microflora in turkey. *Poultry Science*9:1966-1973.

- Jones, G. 1984. Adhesion to animal surfaces in microbial adhesion and aggregation. pp 71 in Marshall K. (ed). Dahlem Konferenzen.
- Juntunen, M.; Kirjavainen, P. V.; Ouwehand, A.C.; Salminen, S. J.; Isolauri, E. 2000. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2 (8): 293-296.
- Kaminogawa, S.; Nanno, M. 2004. Modulation of immune functions by food. *Cam.* (3): 241-250.
- Kato, I.; Yokokura, T.; Mutai, M. 1983. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiology and Immunology, Tokyo.* 7 (27): 611-618.
- Kato, I.; Yokokura, T.; Mutai, M. 1984. Augmentation of mouse natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* and its surface antigens. *Microbiology and Immunology, Tokyo.* 2 (28): 209-617.
- Kimura, K., McCartney A., McConell M. y Tannock D. 1997. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological response of their human hosts to predominant strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (9): 3394-3398.
- Kitazawa, H, Tomioka Y, Matsumara K, Aso H, Mizugaki M, Itoh T, Yamaguchi T. 1994. Expression of mRNA encoding IFN- α in macrophages stimulated with *Lactobacillus gasseri*. *FEMS Microbiol Letters.* 120: 315-322.
- Kostiuk O., Chernyshova L. y Volokha A. 1997. The current concepts of the influence of lactobacilli on the immune system of the human body. *Fiziol. Zh.* 43 (3): 106-115.
- Kyriakis, S. C. 1999. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. *Research in Veterinary Science, Oxford.* 3 (67): 223-228.
- Laffineur, E, Genetet N, Leonil J. 1996. Immunomodulatory activity of beta-casein permeate medium fermented by lactic acid bacteria. *J Dairy Sci.* 79: 2112-2120.
- Link, H., Rochat F., Saudan K., Mignot O. y Aeschlimann J. 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 10 (1): 55-63.
- Lohnert, H.J.; Ochrimenko, W. L.; Bargholz, 1999. Influence of the feed additive "Toyocerin" on the rearing result of calves. In: *Symposium vitamins and additive in nutrition of man and animal, 7., Jena. abstracts. Jena, thuringia: Institut für Ernährungswissenschaften- Universität Jena.* 52.
- Loper, D. 1990. Biotechnology in the feed industry. *Proceedings of Alltech's Sixth Annual Symposium* (edited by Lyons T. Nicholasville USA). 187.
- Lourdes-Hattingh, A.; Viljoen, B.C. 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International, Amsterdam.* 9 (34): 791-796.
- Luengo, L. 2004. IES La Rabida Huelva. *Prácticas de biología. Ingeniería genética. Biología en zip.* <http://www.arrakis.es/~lluengo/inmunologia.html>
- Lynch, M, Raphael, S, Mellar, L, Spare, P y Inwood, M. 1969. *Medical Laboratory and Clinical Pathology.* Ed. Revolucionaria. La Habana. Cuba.: 671.
- Lyons, P. 1997. Opinión de los hombres de negocio. *Avicultura Profesional.* 15 (7): 22.
- Ma, D.; Forsythe, P.; Bienenstock, J. 2004. Live *Lactobacillus reuteri* is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor α -induced interleukin-8 expression. *Infect. Immun.* 9 (72): 5308-5314.
- Maassen, C.B.M. 2000. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. *Vaccine, Oxford.* 23 (18): 2613-2623.

- Majamaa, H. y Isolauri E. 1997. Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 99 (2): 179-185.
- Mara, M. 1994. Resistance to infection and activation of monocyte-macrophage system caused by *Bacillus firmus* and its fractions. *Folia Microbiologica, Praga.* 2 (39): 147-151.
- Marcos, A. 2000. III Cumbre Internacional del Yogur. Barcelona. Editada por Danone S.A.
- Marteau, P., Minekus M., Havenaar R. y Huist in't Veld J. 1997. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine. validation and the effects of bile. *J. Dairy Sci.* 80 (6): 1031-1037.
- Maruta, K 1993. Utilizacao de probióticos na Alimentacao de Frangos de Corte. [www. Probioticos 10 htm.](http://www.Probioticos10.htm)
- Maruta, K; Miyazaki, L,S; et al. 1996. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on intestinal microflora in broilers. *Animal Science and Technology (Japan).* 7: 273-280.
- Massa, S., Alteri C., Quaranta V. y De Pace R. 1997. Survival of *E. coli* 0157:H7 in yogurt during preparation and storage at 4 grados Celsius. *Lett. Appl. Microbiol.* 24 (5): 347-350.
- Mehrazar, K., Gilman A., knisley K., Rodkey L. y Kim Y. 1993. Comparison of the immune response to Ars-BGG in germfree or conventional piglets. *Dev. Comp. Immunol.* 17 (5): 459-464.
- Metchnikoff, E. 1903. The nature of man. Studies in optimistic philosophy. English Translation (ed by P. Chalmers Mitchell). Revised by C.M. Beadnell. 1938. Watts and Co. London.
- Metchnikoff, E. 1908. Prolongation of life. New York: G. P. Putnam and Sons.
- Meyer, P. M.; Pires, A. V.; Bagaldo, A. R.; Simas, J. M. C.; Susin, I. 2001. Adicao de probiótico ao leite integral ou sucedaneo e desempenho de bezerros da raza holandesa. *Sci. Agric.* (20): 58.
- Mohan, B., Kadirvel R., Natarafan A. y Bhaskaran M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers. *Br. Poult. Sci.* 37 (2): 395-401.
- Molinas, F. 1999. Citoquinas y factores de crecimiento hematopoyéticos en trombocitemia. Instituto de Investigaciones Médicas "Alfredo Lanari". Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
- Morishita, T., Aye P., Harr B., Cobb B. y Clifford. 1997. Evaluation of an avian-specific probiotic to reduce the colonization and shedding of *Campylobacter jejuni* in broilers. *Avian. Dis.* 41 (4): 850-855.
- Mulder, R. 1991. Probiotics as a tool against salmonella contamination. *World Poultry Vol.* 7 (3): 33-37.
- Mulder, R. 1996. Probiotics and competitive Exclusion Microflora Against Salmonella. *World Poultry. Special. Salmonella.* May. 30-32.
- Nakano, T; Shimuzu, M; Fukushima, M y Yumiyoshi, S. 1999. Effects of a probiotic on the lipid metabolism of pullet hen as a cholesterol-enriched diet. *Biotechnology and Biochemistry.* 63: 1569-1575.
- Nava, G. M.; Davila, M. 2004. Nuevas perspectivas en la selection and evaluation of probiotics. *Rer. Chil. Nutr.* (21):184-185.
- Negretti, F. y Cassetta P. 1995. Investigation on the intestinal and Systematic immunity responses induced by *Lactobacillus acidophilus* and possible

- consequences on the intestinal colonization. *Annali di Microbiologia ed Enzymologia* 45 (2): 255-274.
- Neuman, E. 2000. *Lactobacillus acidophilus* UFV-H2B20 induces type 1 responses by cells of gnotobiotic mice. In: The prospects of probiotics and therapy of diseases of young. High Tatras. Proceedings. High Tatras, Slovak Republic: Department of Gnotobiology and Diseases of Young-Research Institute of Veterinary Medicine, Kosice. 85.
- Newcova, R., Laukova A., Gancarcikova S. y Kastel R. 1997. "In vitro" studies of porcine lactobacilli for possible probiotic use. *Berl. Munch. Tierarztl Wochenschr* 110 (1-2):413-417.
- Nguyen, T. 1991. Probiotics a nutritional bioregulator. *World Poultry*. 7 (2): 37.
- Novak, F.R.; Almeida, J. A. G.; Vieira, G. O.; Borba, L.M. 2001. Colosro humana: fonte natural de probioticos. *J. Pediatr.* 77 (4): 265-270.
- Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Anim. Nutr. Health*, 29: 4-8.
- Pedroso, M., Varela N. y Figueredo J. 1995. β -1,3 glucano. Influencia en la reducción del nitrobluetetrazolium por polimorfonucleares neutrófilos de terneros tratados. *Rev. Salud Animal*. 17: 167-170.
- Pedroso, M., Camacho M. y Sánchez L. 1993. Evimunk (β -1,3 glucano): Actividad sobre macrófagos peritoneales de ratón y la infección experimental de ratones con *Salmonella tiphymurium*. *Rev. Salud Animal*. 15: 9-12.
- Pelczar, M., Ried, R, Chan, E.C.S. 1981. *Microbiologia*. (2).
- Peña. J. A.; Li, S. Y.; Wilson, P. H.; Thibodeau, S. A.; Szary, A. J.; Versalovic, J. 2004. Genotypic and phenotypic studies of murine intestinal lactobacilli: species differences in mice with and without colitis. *Appl. Environ. Microbiol.* 1 (70) 558-568.
- Perdigon G. y Alvarez S. 1992. In probiotics. *The Scientific Basis* (Fuller R. ed. pp: 145-180. Chapman and Mall. London.
- Perdigon, G. 1995. Immune system stimulation by probiotics. *Journal of Dairy Science, Savoy*. 7(78): 1597-1606.
- Perdigon, G. 1999. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science, Savoy*. 6 (82): 1108-1114
- Perdigon, G., Alvarez, S. 1992. Probiotics and the immune state. In: Fuller, R. *Probiotics: the scientific basis*. London: Chapman e Hall.145-180.
- Perdigon, G., Alvarez, S.; Holgado, A.P.R. 1991. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei* influence of dose on the secretory immune- response and protective capacity in intestinal infections. *Journal of Dairy Research, New York*. 4 (58): 485-496.
- Perdigon, G.; Holgado, A.P.R. 2000. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: Fuller, R.; Perdigon, G. *Probiotics 3: Immunomodulation by the Gut Microflora and Probiotics*. Dordrecht: Kluwer Academic. 213-233.
- Perdigon, G.; Macias, M. E. N.; Alvarez, S.; OLIVER, G.; Holgado, A. A. P. R. 2000. Effect of perorally administrered lactobacilli on macrfophage activation in mice. *Infect. Immun.* 2 (53): 404-410.
- Pillot, J. 1975. *Técnicas en inmunología*. I edición. Editorial Jims. España.
- Plant, L.; Conway, P. 2001. Association of *Lactobacilli spp.* With Peyer's patches in mice. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2 (8): 320-324.

- Polonelli, L. y Morace G. 1986. Lactacilli. J. Clin. Microbiol. 24:866.
- Pridmore, R. D.; Berger, B.; Desiere, F.; Vilanova, D.; Barreto, C.; Pittet, A. C.; Zwahlen, M. C.; Rouvert, M.; Altermann, E.; Barrangou, R.; Mollet, B.; Mercenier, A.; Klaenhammer, T.; Arigoni, F.; Schell, M. A. 2004. The genome sequence of the probiotic intestinal bacterium *Lactobacillus johnsonii* NCC 533. PNAS. 8 (101): 2512-2517.
- Priault, G.; Pecquet, S.; Fliss, I. 2004. Stimulation of interleukin-10 production by acidic β -lactoglobulin-derived peptides hydrolyzed with *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 Peptidases. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2 (11):266-271.
- Pulverer, G., Lioe K. y Beuth J. 1997. Microflora-associated defense stimulating factors. Scand. J. Gastroenterol. Suppl. 228 (3): 107-111.
- Qamar, A. 2001. *Sacharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. Infection and Immunity, Washington. 4 (2): 61-68.
- Rangavajhyala, N. Shahani K, Sridevi G, Srikumaran S. 1997. Nonlipopolisaccharide component(s) of *Lactobacillus acidophilus* stimulate(s) the production of interleukin-1 alpha and tumor necrosis factor-alpha by murine macrophages. Nutr Cancer .28:130-134.
- Richter, G.; Kuhne, I.; Kohler, H.1999. test of Toyocerin in broiler fattening. In: Symposium Vitamins and Additives in Nutrition of Man and Animal. Jena Abstracts. Jena, Thuringia: Institut fur Ernährungswissenschaften-Universität Jena. 52-53.
- Rivero, I. 1978. Fagocitosis en *Sacharomyces cerevisiae* en el hombre. Técnicas y características. Rev Clin. Esp. Pag 148-267.
- Rodriguez, A. C. P. 2000. *Sacharomyces boulardii* induces the production of type 1 and type 2 cytokines in gnotobiotic mice. In: The prospects of probiotics and therapy of diases of young, Hig Tatras. Proceedings. Hig Tratas, Slovak Republic: Department of Gnotobiotic and Diases of Young Research Institute of Veterinary Medicine, Kosice. 87.
- Rodriguez, J. M. 1996. Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. Food Science and Technology International, New York. 2 (2): 61-68.
- Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. Journal of Nutrition, Bethesda. 2 (130): 396s-402s.
- Roth, F. X.; Kirchgessner, M. 1988a. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 1 Ferkelaufzucht. Landwirtschaftliche-Forschung, Frankfurt.1-2 (41): 58-62.
- Roth, F. X.; Kirchgessner, M. 1988b. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 2 Falbermast. Landwirtschaftliche-Forschung, Frankfurt.1-2 (41): 63-70.
- Sainsbury, D. 1993. Protecting against stress. Probiotics boots natural resistance. Pigs. January/February, pag. 32.
- Sánchez, L. 1997. Obtención, caracterización y producción a escala piloto de un polisacárido (1,3) glucano con actividad inmunomoduladora. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. CENSA. La Habana. 103.
- Savage, D. 1980. Aherence of normal flora to mucosal surfaces in Bacterial Aherence: 33-59 Chapman and Hall. London.
- Savage, D. 1983. Association of indigenous microorganism with the gastrointestinal epithelial surfaces. In. Human intestinal microflora and disease. Hentges D. (ed). Ac. Press. 55-74.

- Schiffrin, E., Brassart D., Servin A., Rochat F. y Donnet A. 1997. Immuno modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria. Criteria for strain selection. *Am. J. Clin. Nutr.* 66 (2): 515S-520S.
- Shu, Q.; Gill, H. S. 2002. Immune protection mediated by the probiotic *Lactobacillus rhamonosus* HN001 (DR20a) against *Escherichia coli* O157: H7 infection in mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology, Amsterdam.* 1 (34): 59-64.
- Shu, Q.; Qu, F.; Gill, H. S. 2001. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhoea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, Philadelphia.* 2 (33): 171-177.
- Shubert, R; Flackowsky, et al. 1999. Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung on Mensch und tier:7.Symposiun Jenal/Thuringen, Germany. 22.und 2. 515-518.
- Sigh, J., Rivenson A., Tomita M., Shimamura S., Ishibashi N. y Reddy B. 1997. *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18 (4): 833-841.
- Sober, H. 1956. Chromatography of proteins. II. Fractionation of serum protein on anion-exchange cellulose. *J. Am. Chem. Sec.* Pag 78-756.
- Solis, P. y Lemmonnier D. 1991. Induction of 2'-5' A synthetase activity and interferon in humans by bacteria used in dairy products. *Eur. Cytikine Netw.* 2 (2): 137-140.
- Solis-Pereyra, 1991. Interferon induction by *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in mice. *Eur Cytoquine Net.* 4 (2): 299-303.
- Stanier, R.1996. *Microbiología.* Barcelona. Editorial Revert. 2 ed, 750.
- Tahara, T. y Kanatani K. 1997. Isolation and partial aminoacid sequence of bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61 (5): 884-886.
- Tannock, G. W. A. 2004. Special fondnes for *Lactobacilli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 6 (70) : 3189-3194.
- Uffer, N. 1990. Biotechnology in the feed industry. *Proceedings of alltech's Sixth Annual Symposium* (edited by Lyons T. Nicholasville USA). 79-95.
- Underdahl, N. 1983. The effect of feeding *Streptococcus faecium* upon *E. coli* induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *Prog. Food. Nutr. Sci.* 7 (3-4): 5-12.
- Vandelle, M. Teller E y Focant M. 1990. "Probiotics in animal nutrition": a review. *Arch. Amm., Berlin* 40 (7): 507-567.
- Vitini, E. 2000. Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. *Biocell, Mendoza.* 3 (24): 223-232.
- Wagner, R., Warner T., Roberts L., Farmer J. y Balish E. 1997. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infection and Immunity.* 65 (8): 3345-3351.
- Walter, R. y Henry N. 1988. *Can. J. Probiotic as Aditive. Microbiol.* 34: 339-343.
- Wang, X., Ma G., Zheng B. y Tiam H. 1995. Effects of SL-probiotic preparation on the body weigth and phagocytosis of white mice. *Wei Sheng Wu Hsueh Pao.* 35 (6): 455-459.
- Weese, J. S. Anderson, M. E. C., Lowe, A.; Montelth, G. J. 2003. Preliminary investigation of the probiotic potential of *Lactobacillus rhamonosus* stran GG in horses: fecal recovery following oral administration and safety. *Can. Vet. J.* (44): 229-302.
- Wehkamp, J.; Harder, J.; Wehkamp, K.; Wehkamp-Von Meissner, B.; Schlee, M.; Enders, C.; Sonnenborn, U.; Nuding, S.; Bengmark, S.; Fellermann, K.;

- Dchroder, J. M.; Sange, E. 2004. F.NF- kB – and AP-1 mediated induction of human beta defensin-2 in intestinal epithelial cells by Escherichia coli Nissle 1917: a novel effect of probiotic bacterium. *Infect. Immun.* 10. (72): 5750-5758.
- Weir, M. 1978. *Handbook of Experimental Immunology*, III edición, editado por Weir, M.D.
- Wheeler, J., Bogla M., Shema S., Shirrell M., Stine K., Pitter A., Burks A. y Helm R. 1997. Impact of dietary yogurt on immune function. *Am. J. Med. Sci.* 313 (2): 120-123.
- Yang, S. y Silva E. 1995. Novel products and new technologies for use of a familiar carbohydrate, milk lactose. *J. Dairy Sci.* 78 (1): 254-162.
- Yasui, H. 1999. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. Antoni Van Leeuwenhoek. *International Journal of General and Molecular Microbiology Dordrecht.* 1 (76): 383-389.
- Yeo, J. y Kim K. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76 (2): 381-385.
- Zacconi, C., Bottazzi V., Rebecchi A., Bosi E., Sarra P. y Tagliaferri L. 1992. Serum cholesterol levels in axenic mice colonized with *Enterococcus faecium* and *L. acidophilus*. *Microbiológica.* 15(4): 413-417.
- Zalashko, M., Anisnova N. y Bortkovich L. 1997. Antimicrobial and immunomodulatory activities of *Lactobacillus acidophilus* Ke-10. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya* 33 (3): 305-309.
- Zani, J. L. 1998. Effect of probiotic Cen Biot on the control of diarrhoea and feed efficiency in pigs. *Journal of Applied Microbiology, Oxford.* 1 (84): 68-71.