

ADITIVOS ALIMENTARIOS SUSTITUYENTES DE LOS ANTIBIÓTICOS EN LA AVICULTURA MODERNA. USO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS COMO PROBIÓTICOS

**Lic. Ana Julia Rondón¹, Ing. Grethel Milián¹, Dra Luz María Samaniego¹ y Dr
Ramón Bocourt², Ing. Marta Laurencio, Dr Manuel Pérez.**

¹ Centro de Estudios Biotecnológicos, Universidad de Matanzas, Cuba

² Instituto de Ciencia Animal, I.C.A., Cuba

Resumen

En la siguiente monografía se propone profundizar en los diferentes aditivos alimentarios que se evalúan en el mundo como alternativas para la sustitución de los antibióticos como promotores del crecimiento animal en la avicultura moderna. Se hace énfasis en los probióticos como una de las vías más promisorias para mejorar los indicadores productivos y la salud animal, y dentro de ellos, se analiza con especial interés a las bacterias ácido lácticas, por ser el grupo de microorganismos que más se emplea en la elaboración de biopreparados y los efectos que estos provocan en los animales cuando se emplean como aditivos.

Palabras claves: *aditivos alimentarios, probióticos, bacterias ácido lácticas, avicultura.*

Introducción

Los antibióticos se incluyeron normalmente en las raciones de alimento como promotores del crecimiento (PC) o para tratar enfermedades en los animales. Estas sustancias pueden provocar cambios en el equilibrio de la microbiota intestinal, al punto de provocar disbiosis en el tracto gastrointestinal (TGI) de los animales. Por otra parte, si se utilizan en pequeñas dosis en la dieta, pueden causar efectos positivos en la prevención de enfermedades entéricas y en los indicadores productivos. Sin embargo, el uso de antibióticos como promotores del crecimiento animal es tema de polémica en los últimos años, desde que se encaminaron acciones regulatorias por la Unión Europea, la que prohíbe la adición de estas sustancias en las raciones alimenticias de los animales (*European Parliament Council, 2003*).

Las bacterias presentan mecanismos muy complejos para resistirse a los antibióticos; en cambio, el uso indiscriminado de los mismos en medicina humana y animal contribuye a la diseminación de genes de resistencia a los antimicrobianos (*Callaway, 2003*).

Esta situación prohibitiva afecta la cría intensiva de animales, al aumentar la mortalidad y la morbilidad, lo que trae como consecuencia una disminución de la productividad. En la industria avícola, lo más significativo es la erupción esporádica de diferentes enfermedades como la enteritis necrótica que, en los casos subclínicos, afecta el crecimiento y la eficiencia alimenticia y en los casos severos, provoca gran número de muertes (*Lu et al., 2006*).

La creciente inquietud por los problemas potenciales asociados con el desuso de los antibióticos estimuló los esfuerzos investigativos para identificar alternativas que suplan la función de estas sustancias en aditivos más inocuos, como los probióticos (*Bayona, 2002*).

La mayoría de los autores coinciden en definir a los probióticos como aditivos alimentarios constituidos por microorganismos vivos, que tienen un efecto beneficioso en la fisiología y la salud del hospedero (*Schrezenmeir y de Vrese, 2001*). Los microorganismos que más se utilizan como probióticos son las bacterias ácido lácticas -especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*- y las levaduras, fundamentalmente las del género *Saccharomyces*. Todos ellos forman parte de biopreparados que se

encuentran en el mercado internacional para mejorar los indicadores productivos y la salud de los animales.

El siguiente artículo tiene como objetivo analizar los diferentes aditivos sustituyentes de los antibióticos en la avicultura moderna y las perspectivas del empleo de las bacterias ácido lácticas como probióticos en la mejora de los indicadores productivos y de salud en las aves.

Principales aditivos sustituyentes de los antibióticos

En busca de alternativas al uso de los antibióticos como promotores del crecimiento animal (PCA) se realizan numerosas investigaciones acerca del empleo de diferentes aditivos, que suministrados en determinadas dosis, contribuyan a mejorar los indicadores productivos y de salud en los animales. Entre los grupos de productos que más éxito tienen como alternativos a los PCA se encuentran los ácidos orgánicos, enzimas, aceites esenciales y extractos de plantas, productos de exclusión competitiva, prebióticos, probióticos y simbióticos (Inbarr, 2000; Choct, 2001).

- **Aceites esenciales y extractos de plantas (Fitobióticos)**

Los aceites esenciales y extractos de plantas son metabolitos secundarios, que generalmente ejercen función de defensa en las plantas a agresiones externas. Estas sustancias protegen a las plantas de organismos patógenos y herbívoros. Su composición química es muy variada e incluye una gran variedad de compuestos como terpenos, fenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos y cetonas, las cuales confieren propiedades aromáticas a las plantas que los contienen (Koščová, 2006; Santomá *et al.*, 2006).

Entre los principales efectos de estas sustancias se señalan efectos bactericidas y bacteriostáticos, e incluso coccidiostáticos (Youn y Noh, 2001; Ertas *et al.*, 2005). También se consideran modificadores digestivos, al estimular la actividad de las enzimas pancreáticas e intestinales y actuar en la absorción de nutrientes, ya sea por la optimización de la actividad de enzimas antioxidantes como la catalasa y la superóxido dismutasa, o por mejorar la salud de las micro-vellosidades del intestino. Estas sustancias actúan como reguladores de la microbiota intestinal y también pueden modificar el sistema inmune, al mejorar la eficacia de los granulocitos, los macrófagos y “las células asesinas naturales” (Santomá *et al.*, 2006).

- **Ácidos orgánicos**

Los ácidos orgánicos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza como constituyentes habituales de tejidos vegetales o animales. También se producen a partir de la fermentación microbiana de los hidratos de carbono, principalmente en el intestino grueso. Su empleo está generalizado como agentes conservantes. Sin embargo, con la prohibición de los PCA se utilizan en diferentes investigaciones en el campo de la avicultura (Ricke, 2003; Santomá *et al.*, 2006).

Dentro de los ácidos orgánicos se encuentran los AGCC como acético, propiónico, láctico y butírico, y los ácidos grasos de cadena media (AGCM) conocidos como caproico, caprílico y cáprico. La capacidad de los ácidos orgánicos de pasar de la forma disociada a la no disociada, en dependencia del pH del medio, los hace convertirse en

agentes antimicrobianos muy eficaces. Cuando están en su forma no disociada pueden penetrar la membrana semipermeable de las bacterias. Una vez dentro, se disocian para ejercer una doble acción; por una parte, los protones disminuyen el pH intracelular al producir una acumulación de aniones, circunstancia que provoca el agotamiento de la célula para restablecer el equilibrio iónico y por otra, el anión del ácido disminuye la síntesis de ADN, ARN, proteínas y pared celular (Nurse, 1997; Van der Wielen *et al.*, 2000). Estos efectos provocan la inhibición del crecimiento de algunos tipos de bacterias como *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, y *C. perfringens* (Chaveerach *et al.*, 2004).

- **Enzimas**

El alimento para las aves es una mezcla compleja que contiene diversas sustancias químicas. Además de nutrientes como el almidón, las proteínas y las grasas, hay muchos otros componentes como glucanos, pentosas, mananos, celulosa, lignina y ácido fítico que no pueden digerirse por las enzimas endógenas en el TGI. Muchos de estos ingredientes no-digeribles generan estrés digestivo en las aves y provocan disminución en la utilización de nutrientes, lo que a su vez permite a las bacterias patógenas crecer en el TGI (Adams, 2004).

Las enzimas exógenas que producen las bacterias y hongos se utilizan con el objetivo de eliminar los factores antinutritivos de los alimentos, aumentar la digestibilidad de los nutrientes y complementar la actividad de las enzimas endógenas en las aves (Bedford y Classen, 1993). Preparaciones enzimáticas como xilanasas, β -glucanasas, celulasas, α -amilasas, proteasas y fitasas se emplean para disminuir los efectos de los alimentos con alto contenido de polisacáridos no digeribles en pollos de engorde y se observa un incremento en el rendimiento productivo de los animales (Preston *et al.*, 2001; Lázaro *et al.*, 2003; Mathlouthi *et al.*, 2003).

Sieo *et al.* (2005) mostraron algunos resultados de la evaluación de cepas de *Lactobacillus* modificadas genéticamente para la producción de β -glucanasa. La inclusión de estas cepas en la dieta para pollos de engorde produjo una disminución de la viscosidad del flujo intestinal y del peso relativo de diferentes órganos del TGI, incrementó el largo de las vellosidades del duodeno y redujo la velocidad del paso del alimento a 2,2 horas.

- **Productos de exclusión competitiva**

La aplicación de bacterias de exclusión competitiva (EC) es otra estrategia potencial para reducir las bacterias patógenas en la ganadería y la avicultura. Las mezclas de EC son bacterias no patogénicas, que se encuentran en el TGI de los animales y pueden estar constituidas por una cepa específica o por varias cepas e incluso por diferentes especies de bacterias (Doyle y Ericsson, 2006).

Hace más de 30 años que Nurmi y Rantala (1973) postularon el efecto “Nurmi” o “Exclusión Competitiva”, cuando suministraron microbiota intestinal de pollos adultos a pollitos recién eclosionados y observaron una mejora en la viabilidad, en el incremento de peso corporal y la exclusión de *Salmonella* (Schneitz, 2005).

Numerosas investigaciones se realizaron durante estos años con resultados muy alentadores, principalmente por la exclusión de *Salmonella* (Jeffrey, 1999; Cox *et al.*,

2001, Stern *et al.*, 2001; Waters, 2005). Otros investigadores demostraron también el efecto protector de cultivos de EC frente a otras bacterias patógenas como Stavric *et al.* (1992) y Hofacre *et al.* (2002), quienes obtuvieron resultados positivos al emplear mezclas de EC frente al serotipo 0157:H7 de *E. coli*. Soerjadi *et al.* (1982), Chen y Stern (2001) y Hariharan *et al.* (2004) demostraron los efectos beneficiosos de un tratamiento con un producto de EC frente a *Campylobacter jejuni* y Hofacre *et al.* (2000) y Kaldhusdal, *et al.* (2001) se refirieron a los efectos protectores de estos cultivos contra *Clostridium perfringens*, patógeno asociado a la enteritis necrótica.

Otros investigadores como Mohan *et al.* (1996), Bizoska *et al.* (1999), Satbir *et al.* (1999), Pérez *et al.* (2002), Samaniego *et al.* (2004) y Laurencio *et al.* (2005) obtuvieron beneficios en el peso vivo, conversión, viabilidad y una reducción de la microbiota patógena con la aplicación de mezclas de EC. Amigo *et al.* (2002) observaron efectos positivos en indicadores inmunológicos con el empleo de un producto de EC en pollos de engorde, al aumentar el peso relativo de los órganos linfoides.

- **Prebióticos**

Los prebióticos son ingredientes no digeribles de los alimentos que benefician al hospedero al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una o más especies de bacterias indígenas del intestino grueso. Tienen la ventaja de que estimulan a las bacterias de efectos favorables ya presentes en el intestino de un determinado individuo y por lo tanto, adaptadas a su ambiente (Gibson y Roberfroid, 1995; Snel *et al.*, 2002). En este sentido, los criterios para definir un prebiótico serán: resistencia a la digestión en el intestino delgado, hidrólisis y fermentación por la microbiota del TGI y estimulación selectiva del crecimiento de bacterias beneficiosas en el mismo (García y Velasco, 2007).

Los prebióticos son en su gran mayoría polisacáridos, entre los que se incluyen fructo-oligosacáridos, inulina, trans-galactooligosacáridos, glucooligosacáridos, glicooligosacáridos, lactulosa, lactitol, maltooligosacáridos, xilo-oligosacáridos, estaquiosa y rafinosa (Collins y Gibson, 1999; Spring *et al.*, 2000). Entre ellos se destacan también los oligosacáridos de glucano y manano (Pérez, 2000). Por su estructura química, estos compuestos resisten la acción de las enzimas excretadas en el TGI por el animal y llegan intactos hasta la parte distal del intestino delgado, el intestino grueso y ciego, donde constituirán un sustrato selectivo para la microbiota allí presente (Van Immerssel *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2003). Como productos de la fermentación de estos compuestos se obtienen AGCC, ácido láctico, H₂, CO₂ y energía (Roberfroid, 1993).

- **Probióticos**

Los probióticos se definieron por Fuller (1989) como “complemento alimenticio a base de microorganismos vivos, que producen efectos beneficiosos sobre el organismo animal, al mejorar el equilibrio microbiano intestinal”. Salminen *et al.* (1998) proponen que los probióticos son “preparaciones celulares microbianas o componentes de células microbianas que tienen un efecto beneficioso en el bienestar y la salud”.

Estas definiciones enfatizan que los probióticos son microorganismos vivos, no patogénicos, que contribuyen a mejorar la salud y el equilibrio microbiano del TGI

(Apajalahti *et al.*, 2004; Nomoto, 2005). Por su parte González *et al.* (2003) destacaron que los probióticos son microorganismos vivos que, al ser ingeridos en cantidades adecuadas, ejercen influencia positiva en la salud o en la fisiología del hospedero.

Por los efectos que causan los probióticos en las aves, estos productos se evalúan ampliamente, con el propósito de buscar alternativas al uso de los antibióticos. El uso de probióticos constituye una vía totalmente natural para mejorar la salud y el rendimiento productivo de los animales. Más adelante, y como interés de este trabajo, se profundizará en las características de los probióticos y en los efectos de estos biopreparados en la avicultura.

- **Simbióticos**

A la mezcla de probióticos y prebióticos se le denomina simbiótico y éstos representan una nueva línea de aditivos (Maiorka *et al.*, 2001; Rostagno *et al.*, 2003). En este caso, el papel del prebiótico es actuar como estimulador del crecimiento de las bacterias benéficas presentes en el intestino (Silva, 2000). Así, de acuerdo con Menten (2001) la unión de ambos, probióticos y prebióticos, potencia su efecto.

Probióticos.

- **Antecedentes históricos**

En una versión persa del Antiguo Testamento, en el Génesis, ya se apuntaba que la longevidad de Abraham se debía al consumo de “leche agria”. En el siglo 76 antes de Jesucristo, el historiador romano Plinio recomendaba la administración de lácteos fermentados para tratar la gastroenteritis. Sin embargo, el interés científico por las bacterias como agentes protectores frente a diferentes enfermedades surge de la observación del Premio Nóbel Elie Metchnikoff (1903), quien atribuyó la longevidad de ciertas poblaciones balcánicas al consumo habitual de lácteos fermentados portadores de lactobacilos que “promovían la salud y prolongaban la vida, al reducir las toxinas que producen las bacterias intestinales”

Por entonces el pediatra francés Henry Tissier (1906) observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bacterias caracterizadas por una morfología peculiar en forma de Y. Estas bacterias “bífidas” eran por el contrario, abundantes en los niños sanos. Este especialista sugirió la posibilidad de administrar dichas bacterias a pacientes con diarrea para facilitar el restablecimiento de una biota intestinal sana (FAO/OMS, 2001).

Lilly y Stillwell (1965) fueron los primeros en utilizar el término “probiótico” para designar a las sustancias que producen los microorganismos y que promueven el crecimiento de otros. Sin embargo, el concepto sufrió transformaciones a lo largo de todos estos años. Así, numerosos investigadores se circunscriben a designar a los probióticos como aditivos que contienen microorganismos vivos e indican la necesidad de proporcionar una dosis apropiada de bacterias probióticas para obtener los efectos deseados (Fuller, 1989; Havenaar y Huis in't Veld, 1992; Maguiña-Vargas y Barrionuevo, 2002).

Una de las definiciones más recientes y que refleja el consenso de la mayoría de los investigadores la enunciaron Griggs y Jacobs (2005) cuando definieron a los probióticos

como “aditivos alimentarios constituidos por microorganismos vivos, que provocan beneficios al animal, al mejorar el equilibrio de la población microbiana intestinal”.

- **Microorganismos con efectos probióticos**

Los principales microorganismos que se utilizan como probióticos, se muestran en la tabla 2. Sin lugar a dudas, durante muchos años, las investigaciones se dirigieron a obtener y evaluar los efectos de microorganismos, fundamentalmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, en humanos y animales.

Tabla 2. Microorganismos que se usan como probióticos (Álvarez-Olmos y Oberhelman, 2001; Escalante, 2001).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Bacillus</i> y otras especies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. cremoris</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>L. diacetyllactis</i>	<i>S. lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. coagulans</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>B. lactis</i>	<i>L. lactis</i>			<i>S. cerevisiae</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>				<i>S. boulaardii</i>
<i>L. kefir</i>	<i>B. breve</i>				<i>Leuconostoc</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. longum</i>				
<i>L. reuteri</i>					
<i>L. helveticus</i>					
<i>L. plantarum</i>					
<i>L. johnsonii</i>					
<i>L. salivarius</i>					

Los probióticos monocultivos o unicepas se definen como aditivos que contienen una cepa de la misma especie y por consiguiente, los probióticos multicepas son los que contienen más de una cepa de la misma especie o especies estrechamente relacionadas, por ejemplo *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*. Los probióticos multiespecies los constituyen cepas de diferentes especies que pertenecen a uno o preferentemente más géneros, por ejemplo *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* y *Lactococcus lactis* (Timmerman *et al.*, 2004).

- **Modo de acción de los probióticos**

Los probióticos, una vez que se suministran, desarrollan en el TGI numerosos mecanismos a través de los cuales contribuyen al balance de los microorganismos intestinales y proporcionan una mejora en los procesos digestivos en el hospedero. Estos efectos positivos en el TGI también se reflejan en el rendimiento productivo de los animales (Patterson y Burkholder, 2003).

Entre las funciones que desarrollan los probióticos se considera que modifican la población microbiana intestinal, estimulan el sistema inmunológico, intervienen en los procesos metabólicos, previenen la colonización por patógenos, incrementan la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), reducen la absorción de sustancias tóxicas como NH₃, aminas, indol, mercaptanos y sulfitos, disminuyen el colesterol en sangre,

sintetizan vitaminas -especialmente vitaminas K y del complejo B- y mejoran la absorción de minerales (Stavric y Kornegay, 1995; Simmering y Blaut, 2001).

- **Contribución a la actividad metabólica del TGI**

Cuando se emplean probióticos se produce una mejora en el balance microbiano y se incrementan los microorganismos beneficiosos. Estos microorganismos producen ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato. También se producen otros productos finales de la fermentación de carbohidratos como etanol, succinato y valerato, que presentan actividad probiótica (Macfarlane y Macfarlane, 1995).

Los AGCC que se producen en el TGI se metabolizan en la mucosa y son transportados eficientemente, por lo que cantidades considerables pueden llegar a sangre para su utilización posterior. Se considera que el aporte de los AGCC es de 25-30 % para los requerimientos energéticos del mantenimiento en cerdos, 50 % en conejos y 17 % en pollos (Savón, 2005). De manera que si se produce en el intestino un incremento de los AGCC, habrá mayor biodisponibilidad de estas sustancias como fuentes de energía (Rondón y Laurencio, 2008).

Al proliferar en el TGI probióticos como los lactobacilos, se acentúa la producción de ácidos orgánicos, seguida por la disminución del pH. Esta situación provoca un aumento de la actividad enzimática y absorbiva por parte del hospedero y un control en potencia de enteropatógenos. La acidificación del lumen también propicia el efecto quelante de los minerales con su consecuente biodisponibilidad y mayor aporte nutricional (Nomoto, 2005).

Los lactobacilos liberan enzimas que mejoran la capacidad digestiva de los animales, inactivan eficazmente los metabolitos tóxicos de la biota perjudicial y hacen que se incremente el proceso de absorción por un mejor estado celular de las vellosidades, una mayor síntesis de vitaminas y la inhibición de los enteropatógenos, al aumentar la secreción de sustancias bacteriostáticas y bactericidas como las bacteriocinas (Segura y De Bloss, 2000).

Existen evidencias de que al utilizar los probióticos, fundamentalmente cepas de *Lactobacillus*, ya sean monocultivos o mezclas, se incrementa la retención de los nutrientes incluidos en la dieta. La retención aparente de nutrientes (cantidad de nutrientes consumidos menos la cantidad de nutrientes excretados) se favorece cuando se utilizan probióticos, fundamentalmente por la retención de N, P y Ca (Nahashon *et al.*, 1994; Schneitz *et al.*, 1998; Angel *et al.* 2005).

- **Supresión de microorganismos patógenos o actividad antimicrobiana**

Las bacterias intestinales indígenas desarrollan diferentes mecanismos para la inhibición de los microorganismos patógenos, entre los cuales se encuentran: competencia por los sitios de colonización y nutrientes, producción de compuestos tóxicos y estimulación del sistema inmune. Estos procesos no son mutuamente exclusivos y la inhibición puede comprender uno, varios, o todos estos mecanismos (Patterson y Burkholder, 2003; Higgins *et al.*, 2008).

- **Producción de sustancias antimicrobianas**

Los microorganismos que se utilizan como probióticos se caracterizan por producir diferentes sustancias que inhiben a los microorganismos patógenos. Estos últimos poseen la capacidad de adherirse a la mucosa intestinal de los animales y causar enfermedades entéricas (Edelman *et al.*, 2003; Ma *et al.*, 2004).

Las BAL homo y hetero-fermentativas producen ácidos orgánicos como ácido láctico, acético, butírico y propiónico, los cuales disminuyen el pH del intestino y previenen la colonización por bacterias indeseables que no proliferan ante tal efecto (Van der Wielen *et al.*, 2000; Forestier *et al.*, 2001; Nazef *et al.*, 2008). Los ácidos orgánicos que producen las BAL actúan sobre las bacterias sensibles al penetrar sus paredes, con la condición de que la molécula de ácido esté en forma no disociada. Una vez que estos ácidos traspasan esta barrera se disocian en sus dos componentes: el anión, que modifica el material genético de la célula y el catión, que acidifica el citoplasma, lo que somete a la célula a un alto desgaste energético para neutralizarlo (Segura y De Bloss, 2000).

Tsai *et al.* (2005) comprobaron que las cepas LAP5 y LF33, aisladas de cerdo y pollo respectivamente, fueron capaces de inhibir *in vitro* a *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, fundamentalmente por la producción de ácido láctico. Estos autores comprobaron *in vivo* que cuando se aplicó un probiótico (constituido por BAL) a ratones, no se observó la presencia de *Salmonella* en el hígado y el bazo después de desafiar a los animales con este patógeno; en cambio, en el control (animales no suplementados) se detectó *Salmonella* en estos órganos.

Además de ácidos, las BAL producen otros compuestos como peróxido de hidrógeno, que inhibe a las bacterias patógenas por su fuerte efecto oxidante, mediante la peroxidación de los lípidos de la membrana y la destrucción de la estructura básica molecular de proteínas celulares (Price y Lee, 1970; Stanier *et al.*, 1992). Por otra parte, un aspecto que cobra gran importancia en la actualidad en la actividad antimicrobiana, es la producción de bacteriocinas (Aymerich *et al.*, 2000; Powel *et al.*, 2007).

Tradicionalmente se consideró a las bacteriocinas como péptidos biológicamente activos que tenían propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora; sin embargo, este concepto se modificó, ya que se encontraron también acciones bactericidas contra cepas distanciadas filogenéticamente (Sablon *et al.*, 2000).

De acuerdo con su composición, tamaño, modo de acción y espectro de inhibición, las bacteriocinas de las BAL se clasifican en tres clases generales: lantibióticos, no lantibióticos y péptidos de gran tamaño (Eijsink *et al.*, 2002; Vaughan *et al.*, 2003; González *et al.*, 2003).

Por lo general, las bacteriocinas destruyen la integridad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros, lo que provoca la salida de compuestos pequeños o altera la fuerza motriz de protones necesaria para la producción de energía, síntesis de proteínas o ácidos nucleicos (Chikindas *et al.*, 1993)

La actividad inhibitoria de las bacteriocinas frente a diferentes microorganismos patógenos se demostró por Bradley *et al.* (2005), quienes comprobaron la producción de una bacteriocina por *Lactobacillus plantarum*, que impedía el crecimiento de

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* y *Pseudomonas aeruginosa*. Lima (2003) también informó la inhibición de *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* y *Listeria monocytogenes*, por bacteriocinas que produjeron cepas de *Lactobacillus* aisladas de ciegos e intestino de pollos.

Lima *et al.* (2007) determinaron la capacidad inhibitoria de 474 cepas de *Lactobacillus* aisladas del intestino y ciegos de pollos de ceba frente a microorganismos indicadores Gram-positivos y Gram-negativos por el método de difusión de sustancias antimicrobianas en agar. Del total de cepas aisladas, 265 demostraron actividad inhibitoria y se identificaron como: *L. reuteri*, *L. salivarius* o *Lactobacillus* spp. e inhibieron a *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp., pero no a *Lactobacillus casei*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum* o *L. helveticus*. Los compuestos bactericidas que produjeron algunas de las cepas de *Lactobacillus* se inactivaron después de tratarse con enzimas proteolíticas, lo cual demostró que las sustancias difundidas eran bacteriocinas o péptidos antibacterianos.

Los lactobacilos también pueden mostrar actividad antagónica frente a infecciones parasitarias. Al respecto, se demostró *in vivo* la reducción de *Cryptosporidium parvum* (Alak *et al.*, 1999; Waters *et al.*, 1999) y *Giardia lamblia* (Singer y Nash, 2000) cuando se aplicaron aditivos probióticos con estas bacterias a pollos. Otros estudios revelaron que especies de *Lactobacillus* aisladas del TGI de pollos fueron capaces de inhibir *in vitro* a *Eimeria tenella*, causante de la coccidiosis en las aves (Tierney *et al.*, 2004).

- **Adherencia a las células intestinales**

La adherencia a la mucosa intestinal es una de las propiedades más importantes de los microorganismos seleccionados como probióticos. Esta habilidad tiene gran influencia en la defensa del organismo, ya que las bacterias beneficiosas conforman una barrera de exclusión a los microorganismos patógenos, fundamentalmente, por la ocupación de los sitios de adhesión y la estimulación del sistema inmune. De ahí que, una característica deseable de los probióticos, es que al menos colonicen temporalmente el TGI y si existe una interacción estrecha con la mucosa, aumentará su efecto (Ouwehand *et al.*, 1999b).

La capa de mucina que recubre el intestino es el sitio donde ocurre, en un alto nivel, la adhesión de las bacterias, fundamentalmente por *Lactobacillus* (Gusils *et al.*, 2003). Jonsson *et al.* (2001) demostraron *in vitro* que la presencia de mucina en un medio de crecimiento estimuló la propiedad de aglutinación de diferentes cepas de *Lactobacillus reuteri*.

Se conoce que la mucina es resistente a las enzimas proteolíticas del TGI. Sin embargo, un aspecto importante a tener en cuenta es la interacción bacteria-mucina, debido a la intervención de los microorganismos intestinales en la producción de estas sustancias (Salminen *et al.*, 1996a). Mattar *et al.* (2002) comprobaron que en el tracto digestivo existen bacterias que estimulan la expresión de genes para la excreción de mucina. En contraste, en el TGI pueden presentarse bacterias que producen enzimas (glicosidasas y glicosulfatasas) que degradan la mucina (Variyam y Hoskins, 1981; Deplancke *et al.*, 2002).

- **Estimulación del sistema inmune**

El sistema inmunológico constituye una red compleja de células que están en constante comunicación entre sí y con las células somáticas del cuerpo (Steidler, 2003). El tejido linfóide que se asocia al intestino hace del TGI el órgano inmune más grande del cuerpo (Collins *et al.*, 1998). La mucosa intestinal constituye una barrera inmunológica esencial para el hombre y los animales, donde la inmunidad de la mucosa constituye un aspecto importante del sistema inmune en su conjunto, porque opera en tejidos que están rutinariamente involucrados en la defensa del hospedero contra enfermedades infecciosas, así como en la aceptación de los microorganismos del intestino y los antígenos que se presentan en la dieta (Revolledo *et al.*, 2006).

Algunos componentes de las paredes celulares de las bacterias, tales como los peptidoglicanos y los lipopolisacáridos, despliegan un importante papel en la activación del sistema inmunológico (Hamman *et al.*, 1998). La colonización microbiana del tracto digestivo también afecta la composición del tejido linfóide que se asocia al intestino, al incrementar los linfocitos intraepiteliales y las células productoras de inmunoglobulinas, en los folículos y en la lámina propia (Guarner y Malagelada, 2003; Revolledo *et al.*, 2006).

Las bacterias probióticas, especialmente las BAL y los productos de la fermentación, originan cambios en la población microbiana intestinal, y a su vez, ocasionan la estimulación del sistema inmune (Higgins *et al.*, 2007). Los lactobacilos pueden también translocarse a través del tejido epitelial y sobrevivir por varios días en el bazo u otros sitios. De esta forma se estimula el proceso de fagocitosis y a las células inmunocompetentes del tejido linfático asociado al intestino (Hedouin *et al.*, 1995). La translocación ocurre cuando células viables presentes en la mucosa o el lumen intestinal penetran hasta los nódulos linfáticos mesentéricos y a otros órganos como el bazo y el hígado (Gedek, 1991; Perdígón *et al.*, 1995).

Bautista *et al.* (2003) concluyeron que la inoculación intraperitoneal de *Lactobacillus casei* viable en pollos de ceba, siete días antes de la confrontación, generó una respuesta inmune protectora no específica contra la infección de una mezcla de oocistos infectivos de *Eimeria acervulina*, *E. tenella* y *E. maxima*.

Ghafoor *et al.* (2005) comprobaron que el Protexin (probiótico multicepas elaborado con *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Candida pintolepesii* y *Aspergillus oryzae*) ejercía un efecto inmunomodulador en pollos vacunados contra el virus de la influenza aviar, al observarse títulos superiores de AIV-HI (Inhibición de la hemoaglutinación al virus de la influenza aviar), así como menor morbilidad y mortalidad de las aves después del desafío con la vacuna.

Revolledo *et al.* (2006) explicaron la posible interacción entre los probióticos, los productos de exclusión competitiva o inmunoestimulantes y la activación de la inmunidad del intestino de las aves (figura 1).

- **Disminución del colesterol**

Otro de los efectos que pueden causar los probióticos es la disminución del colesterol en sangre. De forma general, se proponen diferentes mecanismos que relacionan el metabolismo del colesterol con diferentes funciones que desarrollan las bacterias

probióticas, tales como: la producción de AGCC, la asimilación del colesterol y la desconjugación de los ácidos biliares (Santos *et al.*, 2003). Se conoce que los AGCC (principalmente el ácido propiónico) pueden inhibir la síntesis de colesterol en el hígado (López, 1997). El uso continuo de probióticos favorece la producción de niveles apreciables de estos ácidos; ésta pudiera ser una de las causas por las que su empleo reduce este metabolito (Ouwehand *et al.*, 1999a).

Algunos investigadores comprobaron que las cepas probióticas son capaces de asimilar el colesterol presente en el medio. Gilliland *et al.* (1985) estudiaron *in vitro* la disminución del colesterol en un medio de cultivo que contenía *Lactobacillus acidophilus* y en presencia, además, de sales biliares. Observaron que al cabo de un tiempo de incubación aumentaba la concentración de colesterol en las células microbianas. Un estudio más profundo se realizó por Taranto *et al.* (1997), cuando utilizaron colesterol marcado ($[^3\text{H}]$ colesterol) en un medio de crecimiento con *Lactobacillus reuteri*. Los autores precisaron que los lactobacilos utilizaron el colesterol, ya que un 20 % del colesterol marcado se detectó en las paredes y membranas celulares de las bacterias.

- **Propiedades deseables de las bacterias probióticas**

Para realizar la selección de una cepa candidata a probiótico se establecen diferentes criterios de selección, indispensables para que se logren efectos positivos en la salud y en el rendimiento de los animales (Hammes, 1998; Tuomola *et al.*, 2001). Las cepas probióticas deben:

1. Ser especies microbianas específicas del hospedero, consideradas cepas GRAS (ausencia de patogenicidad).
2. Mostrar resistencia a las enzimas líticas de la saliva y a las enzimas digestivas.
3. Mantener estabilidad ante los ácidos y sales biliares.
4. Presentar habilidad para adherirse y colonizar las células de la mucosa intestinal.
5. Producir sustancias bacteriostáticas y bactericidas.
6. Estimular el sistema inmune.
7. No degradar la mucina.
8. Presentar viabilidad, estabilidad y probabilidad de supervivencia durante el procesamiento tecnológico y el almacenado.

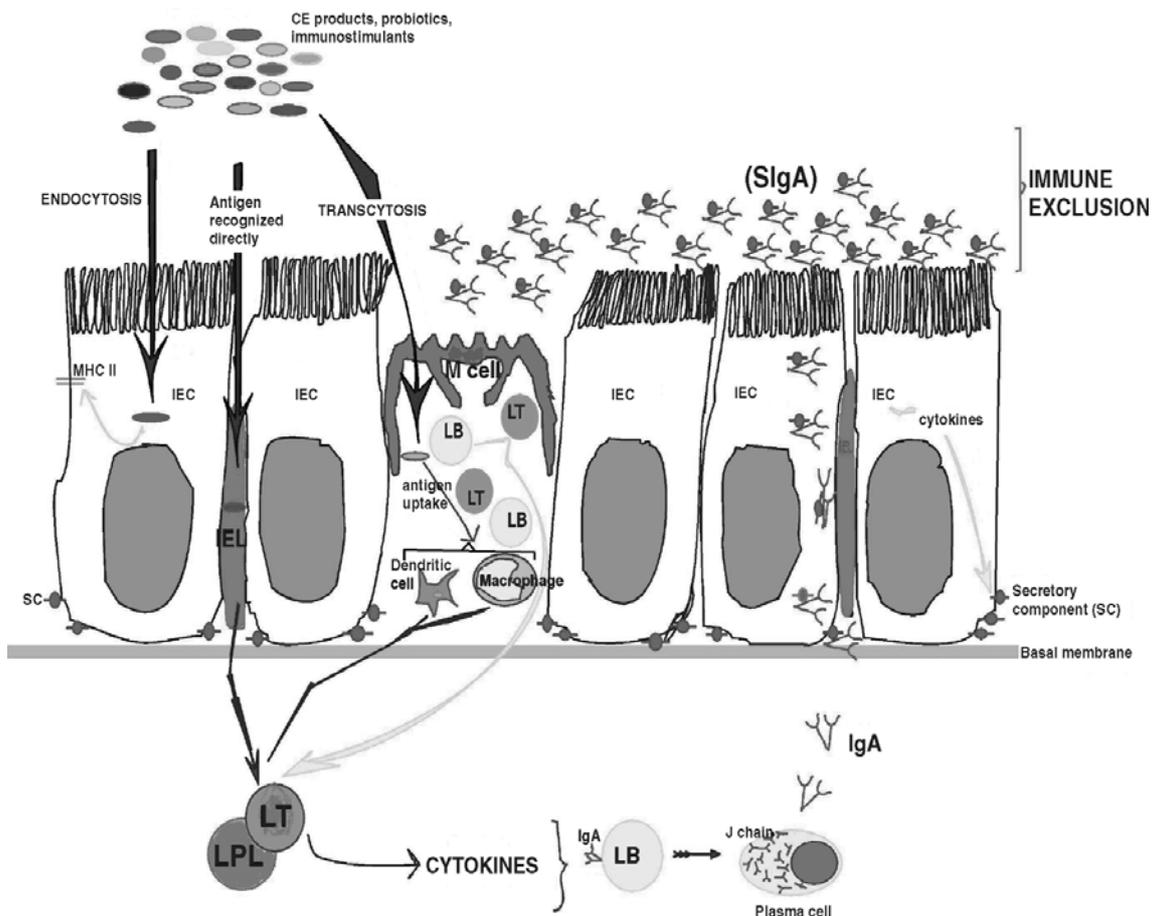


Figura 1. Propuesta de interacciones entre los productos de exclusión competitiva, probióticos o inmunoestimulantes en la inmunidad intestinal de pollos. SIgA= IgA secretada; CE= exclusión competitiva; IEC= célula intraepitelial; IEL= linfocito intraepitelial intestinal; LPL= linfocito de la lámina propia (linfocito T activado); célula dendrítica o macrófago= células antígeno presentes (APC); LB = linfocito B; LT= linfocito T; células M= células para el transporte de antígenos desde el lumen intestinal hacia el tejido linfoide asociado al intestino; SC= el componente secretor; endocitosis= proceso en el cual una sustancia logra pasar al interior de la célula sin atravesar la membrana celular; transcitosis= proceso de transporte de sustancias a través de una capa de epitelio, que se realiza por un lado de la célula epitelial, dentro de una vesícula revestida, que puede entonces ser dirigida a través de la red trans-Golgi y transportada al lado opuesto de la célula

Mecanismos propuestos. Captación del antígeno: 1. El antígeno puede reconocerse directamente por el IEL, se envían señales a los LT en la lámina propia, 2. Cuando el antígeno es captado por las células de M que usan el proceso de transcitosis, hay 2 mecanismos posibles para estimular la respuesta inmune: a) el antígeno es captado directamente por macrófagos o células dendríticas, las que son capaces de procesar y presentar a los LT en la lámina propia, o b) el antígeno activa las células B, las que estimulan a los LT en la lámina propia. 3. La captación del antígeno puede hacerse por las IEC que usan el proceso de endocitosis. Las IEC son capaces de actuar como APC y procesar el antígeno, entonces el antígeno es presentado al LT en la lámina propia. Producción de SIgA: Los LT (LPL) activados producen citocinas que estimulan la activación de los LB, e inmediatamente las células del plasma producen IgA. La IgA adquiere el componente secretorio en las IEC y es capaz de internarse en las IEC; finalmente la SIgA estará disponible en el lumen intestinal para ejercer la protección de superficie (Revolledo *et al.*, 2006).

Importancia del uso de microorganismos autóctonos del tracto digestivo en la elaboración de probióticos

A partir del nacimiento, los animales entran en contacto con los microorganismos del medio ambiente que colonizan su cuerpo (Smith, 1965). El aparato digestivo se recubre de bacterias que se desarrollan naturalmente en ese hábitat. Éste se convierte en un sistema afectado por los alimentos que consumen los animales, las condiciones ambientales de su crianza y desarrollo y los tratamientos sanitarios que les son aplicados. Cada especie animal presenta una composición distinta y específica en su población microbiana intestinal. El aislamiento y posterior caracterización y selección de microorganismos indígenas benéficos, a partir de animales sanos, permite disponer de un producto biológico natural que, cuando se administra a ejemplares de la misma especie animal, favorece el equilibrio de su ecosistema gastrointestinal y su sanidad en general (Rosmini *et al.*, 2004).

Una vez establecida, la población microbiana del tracto digestivo está compuesta por dos grupos: los microorganismos indígenas y los microorganismos transitorios. La *microbiota* indígena de una determinada especie animal se integra por microorganismos que habitan normalmente en esa comunidad. En el caso de animales de abasto, es la *microbiota* presente en los animales de un hato o región geográfica. Esta *microbiota* está siempre presente en los individuos adultos, crece en anaerobiosis en el tracto gastrointestinal, coloniza determinados nichos, se asocia íntimamente al epitelio de la mucosa y es capaz de mantener estable el ecosistema gastrointestinal (Rosmini *et al.* 2004). La población microbiana transitoria se compone por microorganismos no siempre presentes en todos los individuos de la comunidad. En general, ésta proviene del agua, de los alimentos y de otras partes del cuerpo, pero utiliza el tracto gastrointestinal sólo de manera temporal (Tannock, 1995; Berg, 1996).

El aislamiento de microorganismos autóctonos, a partir de distintas regiones anatómicas del tracto digestivo, permite la obtención de microorganismos adaptados a las condiciones de ese ecosistema, capaces de mejorar el rendimiento y la salud de los animales en explotaciones intensivas (Rosmini *et al.*, 2004).

Las bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas se utilizan desde miles de años atrás, para la elaboración o transformación de alimentos. En la actualidad, las BAL presentan un inmenso potencial biotecnológico, dada su presencia en multitud de procesos fermentativos de alimentos destinados al consumo humano (productos lácteos, vegetales, cárnicos y de panadería, así como bebidas alcohólicas) y animal (ensilados). Estas bacterias no sólo contribuyen al desarrollo de las características organolépticas de los alimentos, sino que generan en los mismos ambientes poco favorables para el desarrollo de microorganismos patógenos, debido a su marcada capacidad antagonista, que favorece su proliferación en el alimento y su actividad bioconservadora (Samaniego *et al.*, 2004).

El primer intento por organizar a las BAL lo realizó Orla-Jensen en 1919, al utilizar características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para su clasificación. Los miembros de este grupo se caracterizan morfológicamente por ser bacilos largos o cortos, aunque también cocos que se dividen como los bacilos, solamente en un plano, producen cadenas o tétradas de forma ocasional y filamentos, falsamente llamados

ramificados. Son Gram-positivos y generalmente no móviles. Desde el punto de vista fisiológico, poseen un metabolismo exclusivamente fermentativo, a partir de la glucosa producen altas concentraciones de ácido láctico y otros metabolitos como ácidos orgánicos, etanol y CO₂.

Su nutrición puede ser heterótrofa o quimiorganótrofa y pueden vivir en diferentes hábitats ricos en nutrientes como vegetales, leche, carne y suelo. Algunos permanecen en ambientes más especiales como la vagina, la boca y los intestinos de los animales y el hombre (Saloff-Coste, 1994).

Según Holzapfel *et al.* (2001), dentro de las BAL se encuentran más de 12 géneros bacterianos: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium* y *Weissella*.

- **Características del género *Lactobacillus***

Taxonómicamente el género *Lactobacillus* se ubica en la *Familia Lactobacillaceae* (Kandler y Weiss, 1986; Garrity *et al.*, 2004) y sus integrantes se caracterizan porque:

- Presentan células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos y comúnmente forman cadenas.
- No son móviles en general, pero cuando tienen motilidad es por la presencia de flagelación peritrica.
- Son Gram-positivos y sólo las células viejas o muertas pueden dar resultados variables a la tinción de Gram.
- No esporulan y algunas cepas presentan cuerpos bipolares que probablemente contengan polifosfato.
- Su metabolismo es fermentativo. Producen lactato como producto final; además pueden formar acetato, formiato, succinato, CO₂ y etanol.
- Generalmente no reducen los nitratos, ni licuan la gelatina, ni tampoco producen indol, ni H₂S.
- No producen catalasa, sin embargo, algunas cepas descomponen el peróxido a través de la producción de una pseudocatalasa.
- Generalmente no presentan actividad proteolítica ni lipolítica que pueda apreciarse mediante halos claros formados en medios sólidos que contengan proteínas o grasas. Sin embargo, muchas cepas presentan ligera actividad proteolítica debido a proteasas y peptidasas ligadas a la pared celular o liberadas por ésta, así como una débil actividad lipolítica por la acción de lipasas intracelulares.
- Tienen requerimientos nutricionales complejos. Los lactobacilos presentan particularidades para cada especie respecto a los aminoácidos, péptidos,

derivados de ácidos nucleicos, vitaminas, sales, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos y carbohidratos fermentables. Requieren no sólo carbohidratos como fuentes de carbono y energía, sino también, aminoácidos, vitaminas y nucleótidos.

- Viven en un rango de temperatura entre 2 – 53 °C, con una temperatura óptima entre 30 – 40 °C.
- Crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial entre 4,5 - 6,4 y con pH óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2.
- Son generalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerofílicas o anaeróbicas y se conoce que un incremento de la concentración de CO₂ (de aproximadamente 5 % o hasta el 10 %) puede estimular el crecimiento, sobre todo en el caso del crecimiento superficial sobre medios sólidos.
- Las principales vías de la fermentación para las hexosas son: la de Embden-Meyerhof, donde se convierte 1 mol de hexosa en 2 moles de ácido láctico por fermentación homoláctica y la vía del 6-fosfogluconato, cuyo resultado es 1 mol de CO₂, 1 mol de etanol (o de ácido acético) y 1 mol de ácido láctico, por fermentación heteroláctica.

Efecto de los probióticos elaborados con *Lactobacillus* en la avicultura

Muchos son los trabajos científicos que emplean cepas de lactobacilos en monocultivos o mezclas de ellos o combinaciones con otros microorganismos de diferentes géneros, para comprobar el efecto de estos productos en diferentes indicadores productivos y de salud en la avicultura (Faria *et al.*, 2006).

Ma *et al.* (2004) investigaron *in vitro* el efecto de cepas de *Lactobacillus* (*Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus acidophilus*) aisladas del intestino de pollos, en la adherencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* a la mucosa intestinal. Los resultados mostraron que las células de *Lactobacillus* presentaban una capacidad de adhesión a la mucosa, superior a las cepas patógenas, por lo que impidieron la adherencia de estas últimas al mucus intestinal en cualquier región del intestino.

Fukata *et al.* (1988) y Fukata *et al.* (1991) informaron una baja mortalidad en pollos de engorde, cuando éstos se inocularon con *L. acidophilus* o *Streptococcus faecalis* y además se desafiaron con *Clostridium perfringens*. Estos investigadores observaron una supresión en la producción de α -toxina al cultivar el contenido intestinal de los pollos en mezcla con *C. perfringens*. Por otra parte, Hofacre *et al.* (2003) observaron que cuando se aplicó un cultivo de BAL en pollos al primer día de edad, provocó una reducción de las lesiones por enteritis necrótica y que la mortalidad debido a la enfermedad disminuyó significativamente de 60 a 30 %.

Koščová *et al.* (2006) demostraron que al administrar de forma combinada una cepa de *L. fermentum* con aceites esenciales (orégano y tomillo) a un grupo experimental de pollos se redujo el porcentaje de colonización por *Salmonella* en el intestino, al compararlo con el grupo control sin ningún tratamiento.

Angel *et al.* (2005) realizaron estudios al adicionar una mezcla de *microbiota* definida a base de *Lactobacillus* spp., para demostrar el efecto de la colonización de estos microorganismos cuando los pollos se alimentaron con dietas de baja concentración de proteínas, lisina, metionina, Ca y P. Se evidenció en dichos estudios que la retención aparente de Ca, P y N aumentó en las aves que se suplementaron con el probiótico.

La inclusión de probióticos en las raciones de las aves también influye positivamente en los indicadores productivos. Numerosos investigadores demuestran que los probióticos pueden mejorar el peso vivo, la ganancia diaria y la conversión alimenticia (Abdulrahim *et al.*, 1999; Zulkifli *et al.*, 2000). En contraste, otros autores no observaron efectos positivos en el rendimiento de las aves al aplicar biopreparados con lactobacilos (Watkins y Kratzer, 1984; Maiolino *et al.*, 1992). Es importante notar que en algunos de estos estudios donde no se observaron diferencias, se usan experimentos que no incluyen la manera de minimizar en potencia la contaminación cruzada entre los tratamientos, sobre todo, si se mezclan los probióticos con los alimentos (England *et al.*, 1996; Angel *et al.*, 2005).

Smirnov *et al.* (2005) investigaron en pollos de engorde el efecto de un antibiótico promotor del crecimiento (avilamicina, 5 mg/kg de alimento) y de un suplemento probiótico (constituido por *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* y *Enterococcus faecium*, 2 g/kg de alimento y concentración celular mínima de $1,0 \times 10^8$ UFC/g) en la población microbiana del intestino y la dinámica de la mucina. Cuando se compara con el grupo control (dieta sin antibióticos o probióticos), la dieta con antibiótico indujo a: un incremento de *Bifidobacterium* spp. en el duodeno, un aumento de la densidad de las células bordes en el yeyuno y el íleon y menor nivel de glicoproteínas de la mucosa en el duodeno. Por su parte, las aves que se trataron con el probiótico: incrementaron la población de *Lactobacillus* spp. en el íleon, provocaron el engrosamiento significativo del área de las células bordes a través del intestino y elevaron los niveles de glicoproteínas de la mucosa en el yeyuno.

Chichlowski *et al.* (2007) realizaron un estudio de la histomorfometría del intestino en pollos de ceba, y compararon el efecto del probiótico PrimaLac y el antibiótico Avilomicina. Como resultado de este estudio, observaron que cuando las aves se trataron con PrimaLac, presentaron un incremento del engrosamiento de la musculatura intestinal y de la longitud de las vellosidades en el yeyuno, así como, mayor conteo de bacterias en los espacios intervellosidades o en el interior de las criptas. En el tratamiento con Avilomicina, las aves presentaron menor número de bacterias y enterocitos en el íleon y menor desarrollo de las vellosidades.

Abdullah *et al.* (2005) estudiaron el efecto de cepas de *Lactobacillus*, que se transformaron para la producción de β -glucanasa, en la mejora de indicadores productivos, digestibilidad y producción de energía metabolizable en el TGI de pollos de engorde. Estos investigadores demostraron que al adicionar estas cepas en la dieta de las aves se mejoraba el peso vivo, la ganancia de peso y la conversión alimenticia. También se comprobó que provocaron un aumento en la digestibilidad al incrementarse la degradación de la materia seca y la proteína cruda.

La eficiencia de un nuevo probiótico en la nutrición de pollos se evaluó por Mountzouris *et al.* (2007). Para ello emplearon 400 aves de un día de edad, con la utilización del probiótico (1 g/kg de alimento) que contenía dos cepas de *Lactobacillus*, una de *Bifidobacterium*, una de *Enterococcus* y una de *Pediococcus*, el cual se incluyó

en dos tratamientos: en agua de bebida y en el alimento. Se realizó un tercer tratamiento con Avilomicina (2,5 mg/kg de alimento) y por último, un tratamiento control. Se demostró que el probiótico provocó en las aves los mismos efectos que el antibiótico como promotor del crecimiento animal y que las concentraciones de *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. y cocos Gram-positivos resultaron superiores en el ciego. También se observó mayor actividad de enzimas específicas como la α -galactosidasa y la β -galactosidasa.

Se conoce que el amoníaco puede ser tóxico para los animales (Visek, 1978). En este sentido, se demostró que las bacterias probióticas disminuyen la hidrólisis de la urea o ácido úrico y por consiguiente, reducen la producción de amoníaco en el TGI (Kim y Kim, 1992; Yeo y Kim, 1997). Si se produce localmente un incremento del amoníaco se puede provocar el deterioro de las células de la mucosa intestinal hasta llegar a la necrosis de las células epiteliales. Por estas razones se establece que, si disminuye la actividad de la ureasa y la producción de amoníaco en el intestino, se mejora la salud animal e incrementa el crecimiento (Murakami *et al.*, 1990).

Algunos trabajos evidencian que los probióticos inactivos pueden tener efectos beneficiosos similares a los probióticos vivos. En tal sentido, Huang *et al.* (2004) evaluaron el efecto de tres probióticos inactivos (dos BAL: *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* y un hongo: *Scytalidium acidophilum*) enriquecidos con cobalto, en los indicadores productivos (ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia) e inmunológicos (títulos de IgA e IgG en sangre) en pollos. Los resultados mostraron que los cultivos inactivos de BAL fueron capaces de incrementar el rendimiento productivo.

Al estudiar un sistema de alimentación sin el uso de antibióticos, Sun *et al.* (2005) investigaron la aplicación de diferentes programas con el objetivo de evaluar el efecto sinérgico de diferentes aditivos en el mejoramiento del rendimiento productivo. Para ello, emplearon diferentes productos comerciales como: Bio-Mos, (prebiótico de oligosacáridos de mananos, derivado de paredes de levaduras), Vegpro (enzima de proteína vegetal), MTB-100 (anti-micotoxinas), Acid Pak 4-Way (combinación de ácidos orgánicos: cítrico y sórbico; *Lactobacillus* y *Streptococcus* y electrolitos: Na⁺, K⁺, Zn²⁺, Fe³⁺ y Mn²⁺) y All-Lac XCL (probiótico de BAL: *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Pediococcus*). Como resultado, se observó que en las aves donde se aplicaron estos aditivos, disminuyó la mortalidad y aumentaron los indicadores productivos, especialmente la ganancia diaria de peso.

Otro de los beneficios que proporcionan los probióticos a las aves, cuando se utilizan cepas de *Lactobacillus*, es el efecto hipocolesterolémico (Mohan *et al.*, 1996). Kalavathy *et al.* (2006) corroboraron que, al aplicar diariamente en la dieta una mezcla de *Lactobacillus* disminuyó el contenido de colesterol en el hígado y la canal de los pollos.

La utilización de los probióticos en la avicultura ganó fuerza en los años 90 del siglo XX; sin embargo, las investigaciones demuestran contradicciones en los beneficios de la utilización de los probióticos en las raciones avícolas. Los investigadores se refieren a varios factores responsables de estos resultados contradictorios. Uno de ellos consiste en que no se prueban los productos comerciales y otro es que no se conoce la composición de las especies bacterianas, ni la proporción ideal entre ellas para maximizar el efecto probiótico (Silva, 2000). Otro factor lo aportaron Vargas *et al.*

(2000) y Freitas *et al.* (2001), y es la falta de desafío sanitario en los experimentos, debido al riguroso cuidado en el manejo durante éstos.

Probablemente, los resultados incoherentes en el uso de probióticos puedan deberse a las diferencias en las especies y cepas microbianas, en las combinaciones de éstas, en las dosis de inclusión y en las formas de aplicación (Djouvinov *et al.* 2005a).

Con el objetivo de evaluar la influencia de tres probióticos (*Lactobacillus reuteri* + *Lactobacillus johnsonii*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*) en el rendimiento de la canal de pollos y en la calidad de la carne, Pelicano *et al.* (2003) desarrollaron un experimento en pollos de ceba. Observaron que el rendimiento de la canal y la calidad de la carne no mostraron ninguna alteración cuando se comparó el grupo control con los grupos de aves donde se aplicaron los probióticos.

O'Dea *et al.* (2006) aplicaron dos probióticos comerciales en pollos de ceba y no encontraron diferencias significativas en el peso vivo, la conversión alimenticia y la mortalidad, al comparar los animales tratados con los usados como control.

Faria *et al.* (2006) realizaron un meta análisis para comprobar la eficacia de la utilización de los probióticos como promotores del crecimiento animal en la avicultura. Para ello, utilizaron la información disponible en diferentes bases de datos internacionales (*Scientific Electronic Library Online*, ATHENA y *CAB ABSTRACTS*) y evaluaron diferentes indicadores como: ganancia de peso, conversión alimenticia y viabilidad (o mortalidad) con su respectivo análisis de regresión. El análisis de sensibilidad mostró que los resultados del meta análisis fueron coherentes, lo que confirmó que, en la mayoría de los trabajos de investigación, se obtuvieron diferencias al mejorar estos indicadores en los animales tratados con probióticos, al compararse con el grupo control.

Conclusiones

Los beneficios que reportan los probióticos en la avicultura moderna son aceptados en el mundo por más de 15 años de uso comercial debido a la eficiencia contra la colonización de numerosos microorganismos enteropatógenos, especialmente *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Campilobacter yeyuni*.

Los probióticos no son una panacea contra las infecciones bacterianas del TGI, pero unidos a un buen manejo, pueden ser de gran valor por su aporte al mejoramiento de la salud de las aves y la seguridad de los productos avícolas como alimentos.

Bibliografía

- Abdullah, N.; Tan, W. S.; Ho, Y. W.; Sieo, C. C. 2005. Effects of β -glucanase-producing *Lactobacillus* strains on growth, dry matter and crude protein digestibilities and apparent metabolisable energy in broiler chickens. *British Poultry Science* 46 (3): 333-339.
- Abdulrahim, S. M.; Haddadin, M.S.Y.; Odetallah, N.H.M.; Robinson, R. K. 1999. Effect of *Lactobacillus acidophilus* and zinc bacitracin as dietary additives for broiler chickens. *British Poultry Science* 40: 91-94.
- Adams C. 2000. Asistencia con resistencia. Avicultura y ácidos en la dieta. *Rev. Alimentos Balanceados para Animales*. Marzo-Abril. p. 14-16
- Alak, J.I.; Wolf, B.W.; Mdurvwa, E.G.; Pimentel-Smith, G.E.; Kolavala, S.; Abdelrahman, H.; Suppiramaniam, V. 1999. Supplementation with *Lactobacillus reuteri* or *L. acidophilus* reduced intestinal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cellular Molecular Biology* 45: 855-863.
- Álvarez-Olmos, M.I.; Oberhelman, R.A. 2001. Probiotic agents and infectious diseases: A modern perspective on a traditional therapy. *Clinical Infection Diseases* 32: 1567-1576.
- Amigo, S.; Pérez, M.; Piad, R.; Laurencio, M.; Milián, G.; Rondón, A. J. 2002. Evaluación de la actividad probiótica sobre algunos indicadores inmunológicos de un producto de exclusión competitiva en pollos de ceba. *Revista Cubana de Ciencia Avícola* 26: 1-7.
- Angel, R.; Dalloul, R. A.; Doerr, J. 2005. Metabolism and nutrition: Performance of Broiler Chickens Fed Diets Supplemented with a Direct-Fed Microbial. *Poultry Science* 84:1222-1231.
- Apajalahti, J.; Kettunen, A.; Gram, H. 2004. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. *World's Poultry Science Journal* 60:223-232.
- Aymerich, T.; Artigas, M.G.; Monfort, J.M.; Hugas, M. (2000) Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology* 88: 686-694.
- Bautista, C.R.; Arriola, M.T.; Trejo, L.; Rodríguez, O.I.; Rojas, E, 2003. Comparación entre el efecto de *Lactobacillus casei* y el de una vacuna comercial en pollos contra la coccidiosis. *Revista Técnica Pecuaria en México* 41 (3): 317- 327.
- Bayona, M. 2002. Capacidad probiótica *in vitro* de cepas nativas de *Saccharomyces boulardii* frente a *Candida* sp, *Shigella* sp y *Salmonella* sp. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Palacio de las Convenciones. Ciudad de la Habana, Cuba
- Bedford, M. R.; Classen, H. L. 1993. An in vitro assay for prediction of broiler intestinal viscosity and growth when fed rye-based diets in the presence of exogenous enzymes. *Poultry Science* 72:137-143.
- Berg, R.D. (1996). The indigenous gastrointestinal microbiota. *Trends in Microbiology* 4, (11): 430- 435.
- Bizoska, F.; Grzybowski, R.; Stecka, K.; Pieszka, M. 1999. Effects of probiotic microorganisms vs. antibiotics on chicken broiler body weight, carcass yield and carcass quality. *Roczniki Naukowe Zootechniki* 26 (4): 303-315.

- Bradley, W. L.; Mysliwiec, T. H.; Gourama, H. 2005. Detection and partial characterization of a broad-range bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014). *Food Microbiology* 22: 199–204.
- Callaway, T. R.; Anderson, R. C.; Edrington, T. S.; Genovese, K. J.; Bischoff, K. M.; Poole, T. L.; Jung, Y. S.; Harvey, R. B.; Nisbet, D. J. 2004. What are we doing about *Escherichia coli* O157:H7 in cattle? *Journal Animal Science* 82: E93–E99.
- Chaveerach, P.; Keuzenkamp, D. A.; Lipman, L. J. A.; van Knapen, F. 2004. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poultry Science* 83: 330–334.
- Chen, H.; Stern, N. 2001. Competitive exclusion of heterologous *Campylobacter spp.* in chicks. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (2): 848–851.
- Chichlowski, M.; Croom, W. J.; Edens, F. W.; McBride, B. W.; Qiu, R.; Chiang, C. C.; Daniel, L. R.; Havenstein, G. B.; Koci, M. D. 2007. Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal, and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and salinomycin. *Poultry Science* 86(6): 1121-1132.
- Chikindas, M.L.; García –Garcera, M.J.; Driesessen, A.J.M.; Ledebor, A.M.; Nissen-Mejer, J.; Nes, I.F.; Abee, T.; Konings, W.N.; Venema, G. 1993. PediocinPA-1, a Bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 Forms Hydrophilic Pores in the Cytoplasmic Membrane of Target Cells. *Applied Environmental Microbiology* 59: 3577-3584.
- Choct, M. 2001. Alternatives to in-feed antibiotics monogastric animal industry. *ASA Technical bulletin* Vol. AN 30.
- Collins, J.K.; Thornton, G.; Sullivan, G.O. 1998. Selection of probiotic strains for human applications. *International Dairy Journal* 8: 487-490.
- Collins, M.D.; Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics, and symbiotic: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal Clinical Nutrition* 69: 1052S–1057S.
- Cox, N. A.; Bailey, J. S.; Stern, N. J. 2001. Effectiveness on an undefined mucosal competitive exclusion treatment to control *Salmonella* in turkeys during brooding. *Journal of Applied Poultry Research* 10: 319–322.
- Deplancke, B.; Vidal, O.; Ganessunker, D.; Donovan, S. M.; Mackie, R. I.; Gaskins, H. R. 2002. Selective growth of mucolytic bacteria including *Clostridium perfringens* in a neonatal piglet model of total parenteral nutrition. *American Journal Clinical Nutrition* 76: 1117–1125.
- Djouvinov, D.; Stefanov, M.; Boicheva, S.; Vlaikova, T. 2005. Effect of diet formulation on basis of digestible amino acids and supplementation of probiotic on performance of broiler chicks. *Trakia Journal of Sciences* 3 (1): 61-69.
- Doyle, M.P.; Erickson, M.C. 2006. Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry. *Poultry Science* 85: 960–973.
- Edelman, S.; Leskela, S.; Ron, E.; Apajalahti, J.; Korhonen, T.K. 2003. In vitro adhesion of an avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain to surfaces of the chicken intestinal tract and ileal mucus. *Veterinary Microbiology* 91: 41–56.
- Eijsink, V. G. H.; Axelsson, L.; Diep, D. B L.; Håvarstein, S.; Holo, H.; Nes, I. F. 2002. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Antonie Leeuwenhoek* 81: 639-654.

- England, J. A.; Watkins, S. E.; Saleh, E.; Waldroup, W. 1996. Effects of *Lactobacillus reuteri* on live performance and intestinal development of turkeys. *Journal Applied Poultry Research* 5: 311-325.
- Ertas, O. N.; Güler, T.; Çiftçi, M.; Dalk, B.; Simsek, Ü. 2005: The effect of an essential oil mix derived from oregano, clove and anise on broiler performance. *International Journal of Poultry Science*. Vol. 4, No. 11: 879-884.
- Escalante, A. 2001. El potencial de la manipulación de la flora intestinal por medios dietéticos sobre la salud humana. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica* 21: 106-114.
- European Parliament and Council. 2003. Regulation (EC) No. 1831/ 2003 of the European Parliament and of the Council of 22nd September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union*. L268/ 36.
- FAO/OMS. 2001. Informe de la Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico. Córdoba, Argentina 1-4 de octubre.
- Faria, D.E.; Torres, K.A.A.; Faria, D.E.; Campos, D.M.B.; Rosa, P.S. 2006. Probiotics for broiler chickens in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Revista Brasileira de Ciencia Avícola* 8(2) Campinas Apr/June.
- Forestier, C.; Champs, C.D.; Vatoux, C.; Joly, B. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Research in Microbiology* 152: 167–173.
- Freitas, R.; Fonseca, J.B.; Soares, R.T.N. 2001. Utilização do alho (*Alium sativum* L.) como promotor de crescimento de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30 (3): 761-765.
- Fukata, T.; Hadate, Y.; Baba, E.; Arakawa, A. 1991. Influence of bacteria on *Clostridium perfringens* infections in young chickens. *Avian Disease* 35: 224–227.
- Fukata, T.; Hadate, Y.; Baba, E.; Uemura, T.; Arakawa, A. 1988. Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ-free chickens. *Research Veterinary Sciences* 44: 68–70.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. *Journal Applied Bacteriology* 66 (5):365-378
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365- 378.
- Garrity, G.M., Bell, J.A. & Lilburn, T.G. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Release 5. p.190-195. <<http://141.150.157.80/bergeysoutline>>
- 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.
- Ghafoor, A.; Naseem, S.; Younus, M.; Nazir, J. 2005. Immunomodulatory effects of multistrain probiotics (ProtexinTM) on broiler chicken vaccinated against avian influenza virus (H9). *International Journal of Poultry Science* 4(10): 777-780.
- Gibson, G. R.; Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota– Introducing the concept of prebiotics. *Journal Nutrition* 125: 1401–1412.
- Gilliland, S.E.; Nelson, C.R.; Maxwell, C. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied Microbiology Environmental* 33: 15-18.

- González, F.; González-Martínez, B. E. 2003. Criterios de calidad de los microorganismos probióticos y evidencias sobre efectos hipocolesterolémicos. *Revista Salud Pública y Nutrición* 7 (1).
- Griggs, J.P. & Jacob, J.P. 2005. Probiotics in poultry. *Journal Applied Poultry Research* 14:750-756
- Guarner, F. 2007. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria* 22 (2): 14-19.
- Gusils, C.; Oppedo, O.; Pizarro, R.; Gonzalez, S. 2003. Adhesion of probiotic lactobacilli to chick intestinal mucus. *Canada Journal Microbiology* 49: 472–478.
- Hamman, L.; El-Samalouti, V.; Turner, A. J.; Flad, H. D.; Rietschel, E.Th. 1998. Components of gut bacteria as immunomodulators. *Int. Journal Food Microbiology* 41:141–154.
- Hammes, W.P. 1998. Safety assessment of lactic acid bacteria and probiotics. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 146 (8) Suppl. 1: 31- 38.
- Hariharan, H.; Murphy, G.; Kempf, I. 2004. *Campylobacter jejuni*: Public health hazards and potential control methods in poultry: a review. *Veterinary Medicine Czech* 49 (11): 441–446.
- Havenaar, R.; Huis in't Veld, J.H.J. 1992. Probiotics: A general view. En: Wood BJB: The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, *Chapman & Hall*, New York, NY: 209–224.
- Hedouin, V.; Neut, C.; Lescut, D.; Rambaud, J.; Colombel, J. 1995. Bacterial translocation of endogenous bacteria. *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 19: 393-401.
- Higgins, S.E., Erf, G.F., Higgins, J.P., Henderson, S.N., Wolfenden, A.D., Gaona-Ramirez, G. & Hargis, B.M. 2007. Efecto del tratamiento probiótico en pollos de engorde sobre el número de macrófagos intestinales y la fagocitosis de *Salmonella enteritidis* por células abdominales exudadas. *Poultry Science* 86 (11):2322-2326
- Higgins, S.E., Higgins, J.P., Wolfenden, A.D., Henderson, S.N., Torres-Rodríguez, A., Téllez, G. & Hargis, B. 2008. Evaluation of a *Lactobacillus* based probiotic culture for the reduction of *Salmonella enteritidis* in neonatal broiler chicks. *Poultry Science* 87:27-33
- Hofacre, C. L.; Johnson, A. C.; Kelly, B. J.; Froyman, R. 2002. Effect of a commercial competitive exclusion culture on reduction of colonization of an antibiotic-resistant pathogenic *Escherichia coli* in day-old broiler chickens. *Avian Diseases* 46: 198–202.
- Hofacre, C. L.; Primm, N. D.; Vance, K.; Goodwin, M. A.; Mark, A. G.; Brown, J. 2000. Comparison of a lyophilized chicken-origin Competitive Exclusion Culture, a lyophilized probiotic, and fresh turkey cecal material against *Salmonella* colonization. *Applied Poultry Science* 9: 195-203.
- Hofacre, C.L.; Beacorn, T.; Collett, S.; Mathis, G. 2003. Using competitive exclusion, mannan-oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. *Journal Applied Poultry Research* 12: 60–64.
- Holzappel, W.H.; Haberer, P.; Snel, J.; Schillinger, U.; Huis in't Veld, J.H.S. 1998. Overview of gut microbiota and probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 41, 85 -101.
- Huang, M.K.; Choi, Y. J.; Houde, R.; Lee, J.W.; Lee, B.; Zhao, X. 2004. Effects of *Lactobacillus* and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poultry Science* 83: 788–795.

- Inbarr, J. 2000. Swedish Poultry Production Without In-feed Antibiotics - A testing ground or a model for the future? *Australian Poultry Science Symposium* 12: 1-9.
- Jeffrey, J. S. 1999. Use of Competitive Exclusion products for poultry. *Poultry Fact sheet* No 30. Cooperative Extension, University of California.
- Jonsson, H.; Strom, E.; Roos, S. 2001. Addition of mucin to the growth medium triggers mucus-binding activity in different strains of *Lactobacillus reuteri* in vitro. *FEMS Microbiology Letters* 204: 19–22.
- Kalavathy, R.; Abdullah, N.; Jalaludin, S.; Wong, M.C.V.L.; Ho, Y. W. 2006. Effects of *Lactobacillus* feed supplementation on cholesterol, Fac. content and fatty acid composition of liver, muscle and carcass of broiler chickens. *Animal Research* 55: 77-82.
- Kaldhusdal, M.; Schneitz, C.; Hofshagen, M.; Skjerve, E. 2001. Reduced incidence of *Clostridium perfringens*-associated lesions and improved performance in broiler chickens treated with normal intestinal bacteria from adult fowl. *Avian Diseases* 45: 149–156.
- Kandler, O. & Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus*. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams & Wilkins (eds.), Baltimore, p. 1208-1234
- Kim, T. W.; Kim, K. I. 1992. Effects of feeding diets containing probiotics or antimicrobial agent on urease activity and ammonia production in the intestinal contents of rats. *Korean Journal Animal Science*. 34: 167–173.
- Koščová, J.; Nemcová, R.; Gancarčíková, S.; Jonecová, Z.; Sciranková, L., Bomba, A.; Vuelca, V. 2006. Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enterica* var. Düsseldorf in chicks. *Biología* 61 (6): 775-778.
- Laurencio, M.; Pérez, M.; Piad, R.; Milián, G.; Rondón, A. J.; Díaz, M. 2005. Actividad probiótica de una mezcla de exclusión competitiva en indicadores microbiológicos en pollos de ceba. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5 (1): 48-53.
- Lázaro, R.; García, M.; Medel, P.; Mateos, G. G. 2003. Influence of enzymes on performance and digestive parameters of broilers fed rye-based diets. *Poultry Science* 82: 132–140.
- Lilly, D.M.; Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147: 747-748.
- Lima, E.T. 2003. Avaliação da atividade inibitória in vitro de bacteriocinas extraídas de *Lactobacillus* spp. isolados de aves (*Gallus gallus*, 1758). En: Lima, E.T.; Andreatti R.L. 2005. Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 3 (2): 62-66.
- Lima, E.T.; Andreatti Filho, R.L.; Okamoto, A.S.; Noujaim, J.C.; Barros, M.R.; Crocci, A.J. 2007. Evaluation in vitro of the antagonistic substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from chickens. *Canada Journal Veterinary Research* 7(2): 103-107.
- López, R. 1997. Biosíntesis del β (1,3)-glucano. *Journal Biochemistry*. 20: 212.
- Lu, J.; Hofacre, C.; Lee, M.D. 2006. Proliferation of *Clostridium perfringens* in poultry. *Journal Applied Poultry Research* 15, 145-153.
- Ma, Y.-L.; Xu, Z.R.; You, P. 2004. Adhesion of some bacteria to broiler intestinal mucus. *ACTA Microbiol Sinica* 44: 361–364.

- Macfarlane, G.T.; Macfarlane, S. 1995. Proteolysis and amino acid fermentation. In Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology, and Pathology. (GR Gibson and editor). London. P: 75-100.
- Maguiña-Vargas, C.; Barrionuevo, L. 2002. Actualización en probióticos. *Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna* 15 (3).
- Maiolino, R.; Fioretti, A.; Menna, L. F.; Meo, C. 1992. Research on the efficiency of probiotics in diets for broiler chickens. *Nutr. Abstr. Rev.* B62: 482–486.
- Mathlouthi, N.; Juin, H.; Larbier, M. 2003. Effect of xylanase and beta-glucanase supplementation of wheat or wheat- and barley-based diets on the performance of male turkeys. *British Poultry Science* 44: 291–308.
- Mattar, A. F.; Teitelbaum, D. H.; Drongowski, R. A.; Yongyi, F.; Harmon, C. M.; Coran, A. G. 2002. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatr. Surg. Int.* 18: 586–590.
- Metchnikoff, E. 1903. The nature of man. Studies in optimistic philosophy. English Translation (Ed by P. Charmers Mitchell). Revised by Beadnell, C.M. 1938. Watts and Co., London.
- Mohan, B.; Kaclirvel, R.; Natarafan, A.; Bhaskaran, M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *British Poultry Science* 37(2): 395-401.
- Mountzouris, K. C.; Tsirtsikos, P.; Kalamara, E.; Nitsch, S.; Schatzmayr, G.; Fegeros, K. 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, and Pediococcus Strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and Metabolic Activities. *Poultry Science* 86 (2): 309-317.
- Murakami, M.; Yoo, J. K.; Teramura, S.; Yamamoto, K.; Saita, H.; Matuo, K.; Asada, T.; Kita, T. 1990. Generation of ammonia and mucosal cell lesion formation following hydrolysis of urea by urease in the rat stomach. *Journal Clinical Gastroenterology* 12: S104–S109.
- Nahashon, S.N., Nakaue, H.S. & Mirosh, L.W. 1994. Production variables and nutrient retention in single comb white leghorn laying pullets fed diets supplemented with direct fed microbials. *Poultry Science* 73:1699-1711
- Nazef, L., Belguesmia, Y., Tani, A., Prévost, H. & Drider, D. 2008. Identification of lactic acid bacteria from poultry feces: evidence on anti-Campylobacter and anti-Listeria activities. *Poultry Science* 87:329-334
- Nomoto, K. 2005. Prevention of infection by probiotics. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 100 (6): 583 – 592.
- Nurse, I. 1997. Control of salmonella. *Kraftfutter* 10: 415-22.
- O’Dea, E. E.; Fasenko, G. M.; Allison, G. E.; Korver, D. R.; Tannock, G. W.; Guan, L. L. 2006. Investigating the effects of commercial probiotics on broiler chick quality and production efficiency. *Poultry Science* 85(10): 1855-1863.
- Ouwehand, A. C; Kirjavainen, P.V.; Short, C.; Salminen, S. 1999a. Probiotics: mechanism and established effects. *International Dairy Journal* 9: 43-52.
- Ouwehand, A.C.; Kirjavainen, P.V.; Grönlund M.-M.; Isolauri, E.; Salminen, S.J. 1999b. Adhesion of probiotic micro-organisms to intestinal mucus. *International Dairy Journal* 9: 623-630.
- Patterson, J. A.; Burkholder, K. M. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science* 82: 627–631.
- Pelicano, E.R.L.; de Souza, P.A.; de Souza, H.B.A.; Oba, A.; Norkus, E.A.; Kodawara, L.M.; de Lima, T.M.A. 2003. Effect of different probiotics on

- broiler carcass and meat quality. *Brazilian Journal of Poultry Science* 5 (3): 207–214.
- Perdigón, G.; Agüero, G.; Alvarez, S.; Gaudio, L.; De-Ruiz, A. 1995. Effect of viable *Lactobacillus casei* feeding on the immunity of the mucosae and intestinal microflora malnourished mice. *Milchwissenschaft* 50: 251-256.
- Pérez, M. 2000. Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana. Cuba
- Pérez, M.; Laurencio, M.; Piad, R.; Milián, G.; Rondón, A. J.; Amigo, S.; Bocourt, R.; Savón, L. 2002. Evaluación de la actividad probiótica de un producto de exclusión competitiva sobre indicadores microbiológicos en el ciego de pollos de ceba. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola* 26: 29-35.
- Powell, J.E.; Witthuhn, R.C.; Todorov, S.D.; Dicks, L.M.T. 2007. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *International Dairy Journal* 17: 190–198.
- Preston, C. M.; McCracken, K. J.; Bedford, M. R. 2001. Effect of wheat content, fat source and enzyme supplementation on diet metabolisability and broiler performance. *British Poultry Science* 42: 625–632.
- Price, R.J.; Lee, J.S. 1970. Inhibition of *Pseudomonas* species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. *Milk Food Technology* 33: 13-18.
- Revolledo, L.A.; Ferreira, J. P.; Mead, G. C. Prospects in *Salmonella* Control: Competitive Exclusion, Probiotics, and Enhancement of Avian Intestinal Immunity. *Journal Applied Poultry Research* 15:341–351.
- Ricke, S.C. 2003. Perspectives on the Use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science* 82: 632–639.
- Roberfroid, M. 1993. Dietary fibre, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Review Food Science Nutrition* 33 (2): 103-148.
- Rondón, A.J. & Laurencio, M. 2008. Utilización de las mezclas de Exclusión Competitiva en la avicultura moderna. *Revista Ciencias Agrícolas*. (42): 1
- Rosmini, M. R.; Sequeira G. J.; Guerrero-Legarreta, I.; Martí, L. E.; Dalla-Santina, R.; Frizzo, L.; Bonazza, J.C. 2004. Producción de probióticos para animales de abasto: importancia del uso de la microbiota intestinal indígena. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 3:181-191.
- Sablon, E., Contreras, B. & Vandamme, E. 2000. Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of Action, Genetic and Biosynthesis. En: González, B. E., Gómez, M., Jiménez, Z. 2003. Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición* 4 (2):1-6.
- Salminen, S., Laine, M., von Wright, A., Vuopio-Varkila, I., Korhonen, T. & Mattila-Sandholm, T. 1998. Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential in functional foods: a nordic and european approach. *BioSci. Microflora* 15:61-70
- Salminen, S., Laine, M., von Wright, A., Vuopio-Varkila, I., Korhonen, T. & Mattila-Sandholm, T. 1996. Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential in functional foods: a nordic and european approach. *BioScience Microflora* 15:61-70
- Saloff-Coste, C. 1994. Fermented milks: effects on the immune system. *Danone World Newsletter* 9:2-8
- Samaniego, L.M.; Pérez, M.; Laurencio, M.; Milián, G.; Piad, R. E.; Rondón, A.J.; Medina, E.; González, L.M.; Sánchez, A.I.; Amigo, S. 2004. Comprobación de

- la actividad probiótica de una mezcla de exclusión competitiva sobre algunos indicadores productivos y microbiológicos del tracto digestivo de pollos de ceba. *Revista Cubana de Ciencia Avícola* P: 59-67.
- Santomá, G.; Pérez de Ayala, P.; Gutiérrez del Álamo, A. 2006. Producción de broilers sin antibióticos promotores del crecimiento. Conocimientos actuales. <<http://www.wpsa-aeca.com/img/información/wpsa1161771886a.pdf>> [Fecha de consulta: 23 de Junio del 2007].
- Santos, F.L.; Ferreira, C.L.L.F.; Costa, N.M.B. 2003. Modulação da colesterolemia por meio de prebióticos e probióticos. *Prebióticos e Probióticos: Atualização e prospecção*. Editor: Célia L.L.F. Ferreira. Viçosa, Minas Gerais. P: 61-77.
- Satbir, S.; Sharma, V. P.; Panwar, V. S. 1999. Effect of different levels of probiotic and microbial population in broiler chicks. *Indian Veterinary Journal* 76 (11): 1026-1028.
- Savón, L. 2005. Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibras. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. UNELLEZ, GUANARE, Venezuela. p. 30
- Schneitz, C. 2005. Competitive exclusion in poultry - 30 years of research. *Food Control* 16: 657-667.
- Schneitz, C.; Kiskinen, T.; Toivonen, V.; Nasi, M. 1998. Effect of BROILAC on the physiochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 77: 426-432.
- Schrezenmeir, J. & De Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics—approaching a definition. *American Journal Clinical Nutrition*. 73:361S
- Segura, A.; De Bloss, M. 2000. La alternativa a los promotores del crecimiento. III Congreso Nacional de Avicultura. Memorias. Centro de Convenciones Plaza América. Varadero. Cuba. P: 37-44.
- Sieo, C. C.; Abdullah, N.; Tan, W. S.; Ho Y. W. 2005. Influence of β -glucanase-producing *Lactobacillus* strains on intestinal characteristics and feed passage rate of broiler chickens. *Poultry Science* 84: 734-741.
- Silva, E.N. 2000. Prebióticos e probióticos na alimentação de aves. In conferencia Apinco 2000 de Ciencia e Tecnología Avícolas. Campinas Anais. Campinas. *Fundação Apinco de Ciencia e Tecnologia Avícolas*. P: 241-251.
- Simmering, R.; Blaut, M. 2001. Pro- and prebiotics—the tasty guardian angles? *Applied Microbiology Biotechnology* 55: 19-28.
- Singer, S.M.; Nash, T.E. 2000. The role of normal flora in *Giardia lamblia* infections in mice. *Journal Infection Disease* 181: 1510-1512.
- Smirnov, A.; Perez, R.; Amit-Romach, E.; Sklan, D.; Uni, Z. 2005. Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. *Journal Nutrition* 135: 187-192.
- Smith, H. W. 1965. The development of the flora of the alimentary tract in young animals. *Journal Pathology Bacteriology*. 90:495-513.
- Snel, J.; Harmsen, H.J.M.; Van Der Wielen, P.W.J.J.; Williams, B.A. 2002. En: Nutrition and health of the gastrointestinal tract. M.C. Block *et al.* (Ed). Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Soerjadi, A. S.; Rufner, R.; Snoeyenbos, G. H.; Weinack, O.M. 1982. Adherence of *Salmonella* and native gut microflora to the gastrointestinal mucosa of chicks. *Avian Disease* 26: 576-584.
- Spring, P.; Wenk, C.; Dawson, K.A.; Newman, K.E. 2000. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric

- bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science* 79: 205–211.
- Stanier, R.Y., Ingraham, J.L., Wheelis, M.L. & Painter, P.R. 1996. *Microbiología*. Ed. Reverté S.A. p. 195
- Stavric, S.; Gleeson, E. M.; Buchanan, B.; Blanchfield, B. 1992. Experience of the use of probiotics for *Salmonella* control in poultry. *Letters in Applied Microbiology* 14: 69-71.
- Stavric, S.; Kornegay, E. T. 1995. Microbial probiotics for pigs and poultry. En: *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. R. J. Wallace, and A. Chesson, ed. VCH, New York. p.205–231.
- Steidler, L. 2003. Genetically engineered probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 17 (5): 861–876.
- Stern, N. J.; Cox, N.A.; Bailey, J. S.; Berrang, M. E.; Musgrove, M. T. 2001. Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Colonization in broiler chickens. *Poultry Science* 80: 156–160.
- Sun, X.; McElroy, A.; Webb, K. E.; Sefton, A. E.; Novak; C. 2005. Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. *Poultry Science* 84: 1294–1302.
- Tannock, G.W. 1995. Microecology of the gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 5: 1059 -1070.
- Taranto, M.P.; Sesma, F.; Holgado, A.P.R.; Valdez, G.F. 1997. Bile salts hydrolase plays a key role on cholesterol removal by *Lactobacillus reuteri*. *Biotechnology Letters* 19: 845-847.
- Tierney, J.; Gowing, H.; Van Sinderen, D.; Flynn, S.; Stanley, L.; McHardy, N.; Hallahan, S.; Mulcahy, G. 2004. In vitro inhibition of *Eimeria tenella* invasion by indigenous chicken *Lactobacillus* species. *Veterinary Parasitology* 122: 171–182.
- Timmerman, H.M.; Koning, C.J.M.; Mulder, L.; Rombouts, F.M A.; Beynen, .2004. Monostrain, multistain and multispecies probiotics—A comparison of functionality and efficacy. *International Journal of Food Microbiology* 96: 219– 233.
- Tsai, C.C., Hsieh, H.Y., Chiu, H.H., Lai, Y.Y., Liu, J.H., Yu, B. & Tsen, H.Y. 2005. Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *International Journal Food Microbiology*. In Press
- Tuomola, E.; Crittenden, R.; Playne, M.; Isolauri, E.; Salminen, S. 2001. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *American Journal Clinical Nutrition* 73 (suppl): 393S–8S.
- Van der Wielen, P.W. J.J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P. & Van Kapen, F. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Appl. Environm. Microbiol.* 66 (6):2536-2540.
- Vargas, J.R.; Toledo, R.S.; Albino, L.F.T. 2000. Uso de probióticos e prebióticos em rações de frango de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 2: 31.
- Variyam, E. P.; Hoskins, L. C.1981. Mucin degradation in human colon ecosystems. Degradation of hog gastric mucin by fecal extracts and fecal cultures. *Gastroenterology* 81: 751–758.

- Vaughan, A.; Eijsink, V. G. H.; van Sinderen, D. 2003. Functional Characterization of a composite bacteriocin locus from malt isolate *Lactobacillus sakei* 5. *Applied Environmental Microbiology* 69 (12): 7194–7203.
- Visek, W. J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *Journal Animal Science* 46: 1447–1469.
- Waters, W.R.; Harp, J.A.; Wannemuehler, M.J.; Carbajal, N.Y.; Casas, I.A. 1999. Effects of *Lactobacillus reuteri* on *Cryptosporidium parvum* infection of gnotobiotic TCR-alpha-deficient mice. *Journal Eukaryote Microbiology* 46, 60S–61S.
- Watkins, B. A.; Kratzer, E. H. 1984. Drinking water treatment with a commercial preparation of a concentrated *Lactobacillus* culture for broiler chickens. *Poultry Science* 63: 1671–1673.
- Xu, Z. R.; Hu, C. H.; Xia, M. S.; Zhan, X. A.; Wang, M. Q. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science* 82:1030–1036.
- Yeo, J.; Kim, K. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poultry Science* 76: 381–385.
- Zulkifli, I.; Abdullah, N.; Mohad Azrin, N.; Ho, Y. W. 2000. Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. *British Poultry Science* 41: 593–59.