

## **COMPONENTES DE LA PARED DE LAS LEVADURAS: ACTIVIDAD PROBIÓTICA.**

**Dra.MV. Marlen Rodríguez Oliva<sup>1</sup>, Dr. Manuel Pérez Quintana<sup>2</sup>, Dr. Ramón Bocourt Salabarría<sup>2</sup>.**

1. *Universidad de Matanzas, Carretera Vía Blanca a Varadero Km 3.5 CP: 40100.  
Matanzas, Cuba*
2. *Instituto de Ciencia Animal. Apartado 24, San José de Las Lajas, La Habana, Cuba.*

## Resumen

Se realizó una revisión bibliográfica acerca de la actividad probiótica que desarrollan los componentes de las paredes celulares de las levaduras. Se demuestra que los oligosacáridos de glucanos y mananos presentes en las paredes de *Saccharomyces cerevisiae* poseen actividad probiótica al mejorar la respuesta inmunológica, inhiben a microorganismos patógenos, incrementan la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales traen como consecuencia una mejora de los indicadores productivos y de salud en los animales de granja.

**Palabras claves:** Levaduras, *Saccharomyces cerevisiae*, mananos, glucanos, probiótico.

---

## Introducción

Durante las últimas dos décadas han surgido un conjunto de productos que no crean los problemas de resistencia microbiana o efecto residual que producen los antibióticos, estos se han agrupado genéricamente bajo la denominación de *probióticos*. 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). Además son capaces de estimular la producción de anticuerpos y producir enzimas que destruyen sustancias tóxicas o cancerígenas y presentar acción antibacteriana (Teo *et al.*, 2005).

Dentro de las sustancias consideradas con actividad probiótica se encuentran algunos componentes estructurales de la pared celular de las levaduras; señalándose entre las fuentes más abundantes cepas pertenecientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Estos polisacáridos y sus productos de hidrólisis producen efectos probióticos, principalmente por el estímulo a la respuesta inmunológica y la prevención de enfermedades infecciosas en animales y el hombre (Rodríguez *et al.*, 1996; Spring *et al.*, 1996, Stanley *et al.*, 1996 y Savege *et al.*, 1996).

Pérez (2000) obtuvo un hidrolizado *S. cerevisiae* con el uso de un crudo enzimático de *Bacillus sp* que por sus niveles en oligosacáridos de glucanos y mananos posee actividad probiótica mediante una mejora del sistema inmune, así como del estado fisiológico y microbiológico del tracto digestivo en animales de interés económico. Sin embargo, no se conoce si este crudo enzimático tiene actividad antimicrobiana y si esta actividad se encuentra presente en el hidrolizado de levadura.

Por lo que se propone como objetivo profundizar en la composición química de las paredes celulares de las levaduras y analizar los mecanismos a través de los cuales estos componentes ejercen actividad probiótica en los animales.

### Las levaduras, su clasificación.

Las levaduras son hongos unicelulares de los cuales existen unas 600 especies agrupadas en 60 géneros. Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, pero el género *Saccharomyces* es el que ofrece mayor

interés industrial y aunque consta de 41 especies, *S. cerevisiae* es la levadura que más se emplea en numerosos procesos fermentativos (Schreuder *et al.*, 1996). Los cultivos de esta especie son capaces de sobrevivir bajo las condiciones más adversas, comportándose de hecho, como anaerobios facultativos, de manera que aunque no aparecen como inquilinos habituales del tracto digestivo, mantienen su viabilidad en el tiempo, después de introducirse en este ecosistema.

Resultan fáciles de cultivar, tanto en el laboratorio como a escala industrial, con un medio de cultivo que contenga azúcares, sales minerales y una pequeña cantidad de extracto de levaduras o peptona. Las células de levaduras incorporan a su estructura nutrientes del medio y desarrollan una masa fúngica cuya composición química aproximada es de 40 % de proteínas, 15 % de ácidos nucleicos, 25 % de polisacáridos, 15 % de lípidos y 5 % de compuestos hidrosolubles como nucleótidos, aminoácidos, azúcares, factores de crecimiento y enzimas entre otras (Pérez, 2000).

### **Pared celular de las levaduras**

Las paredes celulares de las levaduras pueden constituir aproximadamente el 30 % del peso seco de la célula y representa por tanto, una importante inversión de ésta en su síntesis (Valentín, 1987; Fleet, 1991). En *Saccharomyces cerevisiae*, aproximadamente el 90 % de la pared está compuesta por polisacáridos, de 5-10 % de proteínas y no rebasa 1 % de lípidos; aunque la porción proteica es relativamente pequeña, 50 % de la pared celular está compuesta por glicoproteínas (Klis, 1994 y Kollár *et al.*, 1995).

Los principales componentes de la pared celular de *S. cerevisiae* son manano-proteínas y  $\beta$ - glucanos en proporciones más o menos iguales y pequeñas cantidades de N-acetilglucosamina (Conzelmann *et al.*, 1988; Ballou, 1990; Rinsum *et al.*, 1991). A la pared de *S. cerevisiae* se le atribuyen dos tipos de manoproteínas: una que puede ser extraída de la pared por dodecilsulfato de sodio (SDS) y otra que tiene que ser aislada por digestión enzimática con  $\beta$  (1,3) glucanasa (Elorza *et al.*, 1985; Pastor *et al.*, 1990; Rinsum *et al.*, 1991). La capa de glucano tiene la función de soportar y mantener la rigidez de la pared, mientras que la de manoproteínas determina su permeabilidad (Zlotnik *et al.*, 1984; Blagoeva *et al.*, 1991).

Estos oligosacáridos ( $\beta$  1-3 glucano y manano-proteínas), derivados de la pared celular de las levaduras realizan un papel muy activo en el incremento de la inmunidad no específica de los animales, además son capaces de inhibir la colonización por patógenos en el tracto digestivo, absorben micotoxinas, etc (Savage *et al.*, 1996; Stanley *et al.*, 1996; Acevedo y Pedroso, 1999).

### **Oligosacáridos de manano**

Dentro de los productos con actividad probiótica-inmunoestimulantes están los oligosacáridos de mananos (MOS). Éstos tienen diversos efectos fisiológicos en los animales, como son el estímulo del sistema inmune, la adhesión selectiva de los microorganismos patógenos y de aflatoxinas. Se considera que cuando estos azúcares se juntan entre sí para formar oligosacáridos de manano tienen propiedades que favorecen el crecimiento (Savage y Zakrzewska, 1996; Lyons, 1997).

Una de las funciones del manano en el sistema inmune es su participación como molécula que interviene en la expresión de los receptores de los macrófagos y esto a su vez está relacionado con el papel de estas células en la presentación de antígenos para la producción de anticuerpos (Philip, 1992). Los MOS muestran un alto grado de antigenicidad al variar de acuerdo a la capa de levadura utilizada los tipos de enlaces presentes y el grado de fosforilación. Estos productos de paredes de levadura influyen también en el sistema inmune por el estímulo de la secreción de una proteína que se conjuga con la manosa del hígado, la cual se une a la cápsula de las bacterias invasoras y desencadena el sistema de fijación del complemento (Devegowda *et al.*, 1997).

Los MOS son capaces de captar varios patógenos en el TGI debido a la propiedad de unirse a los puntos específicos de adherencia de la pared celular bacteriana, previniendo la colonización. Esta propiedad manano - aglutinadora la presentan varios patógenos entéricos como son cepas de *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, entre otros (Newman, 1998)

### **Oligosacáridos de glucanos**

Otro de los productos derivados de la pared de la célula de levadura con actividad probiótica- inmunoestimuladora son los glucanos cuyo uso como modificadores de la respuesta inmune contribuye a la prevención de enfermedades infecciosas y consecuentemente a la mejor expresión de los caracteres productivos en los animales de granja (Pedroso *et al.*, 1993).

Los glucanos, particularmente los  $\beta$ -1-3-glucanos han demostrado tener una variedad de actividades farmacológicas tales como anticolesterolémica, hipoglicémica, aceleración de la excreción de metales pesados y la estimulación del sistema inmune. La actividad inmunoestimuladora de los glucanos conduce a sugerir que éstos son útiles como agentes anticancerígenos y para el tratamiento de diversas infecciones o como agentes anti - infecciosos para ser usados solos o en conjunción con antibióticos (Langeris *et al.*, 1997).

Se ha encontrado que el  $\beta$ -1-3-glucano ejerce un marcado efecto inmunoestimulante. El empleo de éste en ratones estimula la respuesta de linfocitos a la fitohemoaglutinina (PHT) (Ríos *et al.*, 1994), la actividad de macrófagos (Pedroso *et al.*, 1993) y la proliferación de neutrófilos polimorfonucleares al nivel de la médula ósea y sangre periférica (Figueredo y Pedroso, 1993), así como la actividad reductora del nitro *blue* tetrazolium de los neutrófilos polimorfonucleares bovinos y la resistencia a las enfermedades infecciosas en esta especie (Pedroso *et al.*, 1995).

Hoy se conoce que los peptidoglucanos derivados de *Saccharomyces cerevisiae* se caracterizan por su habilidad para promover la formación de IgA en la pared del intestino delgado (Anon, 1998). Asimismo la administración oral incrementa la respuesta inmune mucosal y sistémica en ratones y pollos (Acevedo y Pedroso, 1999; Acevedo *et al.*, 2000).

El material aislado de las paredes de las células de levadura *S. cerevisiae* posee la capacidad de actuar como un inmunoestimulante no específico. La actividad biológica de la pared celular de levadura se atribuye a la presencia de los enlaces  $\beta$ -1-3-glucanos

ligados pero las otras formas de glucanos y los mananos tienen también la habilidad de estimular el sistema inmune (Glaims *et al.* 1993; Langeris *et al.*, 1997).

El  $\beta$ -1-glucano es capaz de incrementar los niveles de anticuerpos en el suero por la activación de los macrófagos que secretan  $\text{TNF}_\alpha$ . Este es un activador policlonal de los linfocitos B que también estimula a los fagocitos mononucleares a secretar una cascada de citoquinas dentro de la circulación, incluyendo la interleucina-1 y la interleucina-6 que más tarde serán parte importante para la expresión del isotipo del anticuerpo (Abel y Czop, 1992; Marca, 1999).

Se demostró que en la avicultura intensiva, el uso de los  $\beta$ -1-glucano como aditivo en el alimento puede reducir las infecciones de campo y consecuentemente promover el crecimiento, reduciendo de esta forma la necesidad del uso de los antibióticos (Langeris *et al.*, 1997).

Los  $\beta$ -1-3-glucanos activan las enzimas lisosomales ( $\beta$ -glucoronidasa) para la destrucción intracelular de los microorganismos en el macrófago y en sentido general juegan un papel en la inmunidad (Hashimoto *et al.*, 1991; Ozherelkov *et al.*, 1995). Pedroso *et al.*, (1993) confirmaron el efecto liberador que tiene el  $\beta$ -1-glucano sobre la  $\beta$ -glucoronidasa de los macrófagos peritoneales de ratones y la protección contra enfermedades infecciosas específicamente contra *Salmonella tiphymurium*.

Debido a la naturaleza polisacárida del  $\beta$ -1-glucano, la rápida inducción en la respuesta a la producción de anticuerpos pudiera responder a un mecanismo timo-independiente y a una alta persistencia para que estos polisacáridos se mantengan por períodos prolongados de tiempo sobre la superficie de la zona marginal de los macrófagos donde son reconocidos por los linfocitos B específicos (Abbdas *et al.*, 1991). Según Benda *et al.* (1986) emplearon el  $\beta$ -1-3-glucano derivado de *Saccharomyces cerevisiae* en pollos y encontraron que éstos provocaban estimulación de la producción de anticuerpos.

### **Las levaduras en mezclas probióticas**

Las levaduras, además de usarse de forma individual, pueden emplearse también en combinación con diferentes bacterias probióticas, estas son las llamadas mezclas probióticas (Sainsbury, 1993; Yadak *et al.*, 1994; Rani y Khetarpaul, 1998). Un ejemplo de mezclas probióticas con levaduras es el Protexin. Éste contiene *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y *Streptococcus faecium*, además *Aspergillus oryzae* y *Torulopsis sp.* La unión de estos organismos se ha evaluado en pollos de ceba contra cepas patógenas de *coliformes* y *Salmonella*, incluyendo *S. enteritidis* y *S. thiphymurium* y ha mostrado también, ser activo en la promoción del crecimiento por su efecto sobre los procesos intestinales e inmunológicos, además de combatir *Clostridium*, *Klebsiella* y otros patógenos potenciales (Sainsbury, 1993).

La actividad de las bacterias ácido-lácticas naturales puede ser estimulada alimentando al animal con productos basados en levaduras, los que contienen enzimas y nutrientes que éstas necesitan. Mezcla de bacterias ácido-lácticas y levaduras *S. cerevisiae* se han usado con éxito en sustitutos lecheros para terneros y cerditos y en mezclas alimenticias para aves y vacas lecheras (Gunther, 1995).

Otro producto, donde se emplean las levaduras en mezclas probióticas, es el denominado YEASTURE (Adachi, 1992). Este es un cultivo viable de levadura *S. cerevisiae* y bacterias vivas de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus* y enzimas hidrolíticas, constituyendo promotores de crecimiento importantes para el desarrollo del ganado bovino, porcino y avícola.

### **Hidrolizados de levaduras. Métodos de hidrólisis.**

Existen diferentes métodos para realizar la hidrólisis de las levaduras pudiendo agruparse estos en métodos químicos (hidrólisis ácida y química) métodos físicos (hidrólisis térmica) y métodos biológicos (autólisis con o sin control, hidrólisis enzimática) (Otero, 1997).

Houng *et al.*, (1994) desarrollaron un método para extraer por hidrólisis los componentes de la pared de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, para ello utilizaron una combinación de hidrólisis básica con hidrólisis enzimática, alcanzando un alto rendimiento de  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,6 glucanos, quitina y mananoproteínas.

Rinsum *et al.* (1991) desarrollaron un método para la extracción de manoproteína de la pared de *S. cerevisiae* por hidrólisis básica y posterior separación de la mezcla de oligosacáridos por cromatografía de afinidad con sepharosa 6L unida a concanavalina A.

En Cuba se ha diseñado un método para la obtención del  $\beta$ - (1,3) glucano a partir de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* mediante la hidrólisis básica de las paredes de esta levadura. El proceso ha sido optimizado para la producción de adecuadas cantidades de dicho compuesto y procediendo a su purificación para ser usada como producto con acción farmacológica adyuvante e inmunoestimulante (Sánchez, 1997). Asimismo, a partir de este proceso de hidrólisis básica se han realizado estudios para la obtención de un producto inmunoestimulante para uso veterinario, el complejo fosfo-manano-proteína, realizándose la optimización experimental del proceso de producción hasta manano crudo mediante la metodología de superficie de respuesta. Para ello, emplearon 3 métodos de obtención, dando como mejor resultado el método de precipitación con solución Fehlings, realizando una dilución en HCl del sólido de la primera y reprecipitación en etanol dando lugar al manano crudo, el cual fue purificado con el empleo del cetavión (Iglesias *et al.*, 1995).

### **Conclusiones**

Las levaduras por su alto valor nutritivo son empleadas en la alimentación animal desde tiempos remotos, *Saccharomyces cerevisiae* es una de las especies de levadura mas empleada. Los oligosacaridos de glucanos y mananos son componentes de la pared celular de las levaduras que al ser utilizados como aditivos en la alimentación animal juegan un papel muy activo en el incremento de la inmunidad, inhiben la colonización por patógenos en el tracto digestivo y absorben micotoxinas.

## Bibliografía

- Abbas, A.K.; Litchman, A, H y Pober, J, S. 1991. Chapter nine: B cell activation and antibody production. Thymus independent antigens. In: Cellular and Molecular Immunology. P: 199.
- Abel, G. y Czop, J.K. 1992. Stimulation of human monocyte  $\beta$  glucan receptors by glucans particles induces production of  $\text{TNF}_\alpha$  and IL  $-\beta$ . Immunopharmacology 14: 1363-1373.
- Acevedo M; Ana y Pedroso, Miriam, 1999. Respuesta humoral en ratones ante la Administración oral del  $\beta$  -1-3- glucano particulado. Rev Salud Animal 21:91-96.
- Acevedo, Ana maría; Cuello, Sandra; Milanda, Ileana; Noda, Julia y Pedroso, Miriam. 2000.  $\beta$  (1,3) glucano. Influencia sobre la inmunidad humoral y mediada por células en pollos jóvenes. V Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. 19-23 de Julio. Palacio de las Convenciones. La Habana. Cuba . Pag. 257.
- 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.
- Anon 1998. Residues and Reassurance. International Pig Topic. 13 (7): 1-10.
- Ballou C. E. 1990. Yeast cell wall and cell surface molecular biology of the yeast *Saccharomyces*: Metabolism and gene expression cold spring. Harbor Laboratory.
- Benda V., Petrousky E, Hampl A. y Kalova J. 1986. Glucan stimulator the antibody response to a T dependent antigen in chicken. Acta Vet. Brno. 59:345-351.
- Blagoeva J., Stoev G. y Venov P. 1991. Glucan Structure in a Fragile Mutant of *S. cerevisiae*. Yeast. 7: 455-461.
- Conzelmann A., Puoti R. L. Lester L. y Desponds C. 1988. Two different types of lipid moieties are present in glycosyl phosphatidylinositol-anchored membrane proteins of *Saccharomyces cerevisiae*. EMBO J. 11: 457-466.
- Devegowda B. I. R. , Rajendra K. y Morton M. G. 1997. Inmunosupresión en aves causadas por aflatoxinas y su atenuación mediante *S. cerevisiae* (YEASACC 1026) y mananoligosacáridos (BIOMOS y Mycosorb). Séptima Ronda Latinoamericana y del Caribe de Alltech hacia el 2000. Soluciones viables para la industria de la Producción Animal.
- Elorza M., Rico H. y Setendreu R. 1985. Calcofluor white alters the assembly of chitin fibrils in *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans* cells. J. Gen. Microbiol. 129: 1577-1582.
- Fleet G. H. 1991. Cell walls. In Rose, A. H. and Harrison J. S. (eds.), the yeast. vol 4. Academic Press, Inc. , New York. p. 199-227.
- Glaims, J; Adbouer, L, I y Links, a, A. 1993. Effects of mannan in adsorption and phagocytosis in cells of immune system. Journal Of Leucocyte Biology. 54: 564-571.
- Gunther K. 1995. The role of Probiotics as feed additives in animal nutrition. Department of Animal Physiology and Animal Nutrition. Gottingen, Germany. Hashimoto, K; Susuki, I y Yadomae, T. 1991. Oral administration of SSG, a  $\beta$ - glucan obtained from *Sclerotinia sclerotiorum*, affects the function of Peyer's Patch cells. Int. Journal Immunopharmacol. 13: 437-442.
- Houng J., Chen K. y Hsu W. 1994. Optimization of cultivation medium composition for isoamylase production. Applied Microbiol. Biotechnol. 31:61-64.
- Iglesias, Diana, R; Gonzáles, Sandra, M y Azahares, Zaily. 1995. Optimización del proceso de obtención del complejo fosfo- manao- proteína. Seminario Científico Internacional. ICA. La Habana. Cuba. Pag. 32.

- Klis, F. M. 1994. Review: Cell wall assembly in yeast. *Yeast*. 10: 851-869.
- Langeris, W, H; Kulandai, J; Gilbert, R,W; Smith, C,G. 1997. Production of beta-glucan-mannan preparations by autolysis of cells under certain pH, temperature and time conditions. Patente W9702356. Datos proporcionados por la base de datos de esp .cenet.test-12.
- Lyons, P. 1997. Opinan los hombres de negocio. *Avicultura Profesional*. 15 (7):22.
- Marca, J. 1999. Condicionantes físicos, químicos y biológicos de la respuesta inmune: inmunomoduladores, adyuvantes, adaptógenos. Seminario. Inmunoprofilaxis en producción animal. Organizado por: Calier, Nutreco. Madrid.
- Newman, E; Olivera, M,A; Cabral, C,P; Moura, L,N; Nicoli, J,R; Viera;L,Q y Cara, D,C. 1998. Probiotics , concepts and usage. *Brazilian Journal of Medical And Biological Research* 31: 1565-1573.
- Ozherelkov, S, U; Semenova, I, B y Vagin, V, V. 1995. An immunomodifier staphylococcal anatoxin prevents the development of immunosuppression caused by informational stress in mice. *Zh- Mikrobiol- Epidemiol- Immunobiol*. 41: 71- 74.
- Pastor F. I., Valentín E., Herrera E. y Sentendreu R. 1990. Structure of the *Saccharomyce cerevisiae* cell wall. *Biochem. Biophys. Acta*. 802: 292-300.
- Pedroso M. , Varela N. y Figueredo J. 1995.  $\exists$  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 ( $\exists$  1,3 glucano): Actividad sobre macrófagos peritoneales de ratón y la infección experimental de ratones con *Salmonella tiphyurium*. *Rev. Salud Animal*. 15: 9-12.
- 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.
- Philip D. S. 1992. The mannose receptor and other macrophage. *Current Opinion in Immunology*. 4: 49-52.
- Rani R. y Khetarpaul N. 1998. Probiotic fermented food mixtures: possible applications in clinical anti-diarrhoea usage. *Nutr. Health* 12 (2): 97-105.
- Rinsum J., Frans M. y Herman V. 1991. Cell Wall Glucomannoproteins of *S. cerevisiae* mnn9. *Yeast*. 7:717-726.
- Rios Miriam., Dos Santos N. J., Bello J. L. y Pedroso Miriam. 1994. Immunopharmacological studies of  $\beta$ - 1- 3.glucan. *Arch. Med. Res*. 25: 179-180.
- Rodríguez A., Nardi R., Bambirra E., Vieira E. y Nicoli J. 1996. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. *J. appl. Bacteriol*. 81 (3): 251-256.
- 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  $\exists$  (1,3) glucano con actividad inmunomoduladora. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. CENSA. La Habana. pp. 103.
- Savage T. y Elzbieta Z. 1996. The Effect of Feeding a Mannan Oligosaccharide on Immunoglobulins, Plasma IgG and Bile IgA of Wrolstad MW Male Turkeys. Seventeenth Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta. Georgia. P. 148.

- Savage, T y Zakrzewska, Elzbieta. 1996. Efectos de la suplementación con BIO- MOS en pavos. Investigación. Avicultura Profesional Vol 14 (4): 41.
- Schreuder M., Mooren A., Toschka H., Verrips C. y Klis F. 1996. Immobilizing proteins on the surface of yeast cell. Trends-Biotechnol. Apr, 14 (4): 115-120.
- Spring P. y Dawson K. 1996. Effect of Commercial competitive exclusion culture (AVIFREE) on cecal *Salmonella typhimurium* concentration in broilers chicks. Seventeenth Annual Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta, Georgia. pp:59
- Spring P., Dawson K., Newman K. y Wenks C. 1996. Effect of Mannan Oligosaccharide on Different Cecal Parameters and on Cecal Concentration on Enteric Bacteria in Challenged Broiler Chicks. Seventeenth Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta. Georgia. p. 60.
- Spring P., Dawson K., Newman K. y Wenks C. 1996. Effect of Mannan Oligosaccharide on Different Cecal Parameters and on Cecal Concentration on Enteric Bacteria in Challenged Broiler Chicks. Seventeenth Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta. Georgia. pp:60.
- Stanley V., Chukwu H., Gray C. y Dawson T. 1996. Effect of Lactose and BIO-MOS in Dietary Application on Growth and Total Coliform Bacteria Reduction in Broiler Chicks. Seventeenth Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta. Georgia. p. 61.
- Stanley V., Gray C. y Hygnius C. 1996. Effect of Mannan Oligosaccharide (BIO-MOS) on Liver and Egg Cholesterol and Tissue Protein Concentration in Chickens. Seventeenth Annual Meeting of the Southern Poultry Science Society. January 22-23. World Congress Center Atlanta. Georgia. p. 61.
- Teo, L.; Tan, H.. 2005. Inhibition of *Clostridium perfringens* by a novel strain of *Bacillus subtilis* isolated from the gastrointestinal tracts of healthy chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (8): 4185-4190.
- Valentín E., Herrero E., Pastor F. I. y Sentendreu R. 1987. Solubilization and analysis of mannoprotein molecules from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Gen. Microbiol. 130: 1419-1428.
- Yadak B., Srivastava R. y Shukla P. 1994. Effect of supplementation of the broilers ration with live yeast culture on nutrient utilization and meat production. Indian Journal of Animal Nutrition 11 (4): 225-227.
- Zlotnik H., Fernández M. P., Bowers B. y Cabid E. 1984. *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins form an external cell wall layer that determines wall porosity. J. Bacteriol. 159: 1018-1026.