

# **LOS PROBIÓTICOS Y SU INCIDENCIA EN LA FISIOLÓGÍA ANIMAL.**

**Ing. Grethel Milián Florido<sup>1</sup>, Lic. Ana. J. Rondón Castillo<sup>1</sup>, Dr. C. Manuel Pérez Quintana<sup>1</sup>.**

*1. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, Autopista Varadero Km3 <sup>1</sup>/<sub>2</sub>, CP 44100, Matanzas, Cuba.*

## **Resumen.**

El empleo de endosporas de *Bacillus* como probióticos constituye una alternativa al uso de aditivos promotores del crecimiento en la producción animal. En el presente trabajo se presentan algunos de los elementos referentes a la temática de los probióticos tales como: concepto de probióticos, mecanismos de acción de los probióticos, la microecología del tracto gastrointestinal de las aves, papel de la microbiota gastrointestinal, características generales de las bacterias del tracto intestinal, efectos de las bacterias en el tracto gastrointestinal; las características distintivas del género *Bacillus* spp. y sus endosporas lo que las hace candidatas para ser usadas en la obtención de biopreparados con fines probióticos en la salud animal, desde el punto de vista morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e inmunológicas, así como las perspectivas futuras de los mismos y lo que se trabaja en Cuba.

*Palabras claves:* *Bacillus* spp.; probióticos; producción animal.

---

## **Introducción.**

El crecimiento acelerado de la población mundial en los últimos años y sus perspectivas para los próximos preocupa a organismos internacionales, por la necesidad de satisfacer las crecientes exigencias alimentarias frente a una crisis mundial, donde 854 millones de personas mueren de hambre y desnutrición cada año. En medio de este contexto se trabaja por introducir, en los sistemas de producción animal, nuevos productos y tecnologías para la obtención de alimentos sanos que, permitan altas producciones con una adecuada sostenibilidad económica (Alexopoulos, 2001 y Grau, 2006).

La producción animal intensiva representa una de las principales fuentes de alimentos a nivel mundial, sin embargo, estos sistemas de manejo conllevan a constantes situaciones de estrés en los animales. Este estado provoca desbalances en la microbiota intestinal, retardo en el crecimiento, inmunosupresión y frecuente aparición de enfermedades, que conducen a una ineficiente conversión de los alimentos y a una disminución de la respuesta zootécnica (Patterson y Burkholder, 2003 y La Ragione *et al.* 2004).

Históricamente, para atenuar esta problemática, se incorporaron los antibióticos en las dietas como aditivos promotores de crecimiento animal (APC), los cuales mostraron ser efectivos en la disminución de los trastornos diarreicos y en el aumento del comportamiento productivo de los animales (Correa *et al.* 2003, Jones *et al.* 2003 y Coppola y Gil– Tuners, 2004).

En contraste, existe la preocupación del riesgo potencial que trae consigo, el uso de los antibióticos en la producción animal y su eventual contribución a la aparición de microorganismos resistentes, que conduzcan a serias implicaciones médicas (Carro y Ranilla, 2004 y Lima *et al.* 2004).

El Consejo de la Unión Europea (2006) prohibió el uso de los APC en las dietas de los animales, por la capacidad de estas sustancias de crear resistencias cruzadas con los antibióticos que se utilizan en la medicina humana. Determinó además, que los APC pueden causar daños a los consumidores, a través de alteraciones de las características de los productos animales con residuos inaceptables de compuestos relacionados o de sus metabolitos en la carne, leche o huevos (Barbosa *et al.* 2005).

Como una solución a la necesidad de reducir el uso de antibióticos en el alimento animal para promover el crecimiento, se trabaja en la incorporación de cultivos de bacterias probióticas en calidad de aditivos promotores de la respuesta productiva, en la producción animal (Kalavathy *et al.* 2006, Faria *et al.* 2006 y González *et al.* 2006). El objetivo de la siguiente monografía es presentar algunos de los mecanismos y acción de los probióticos y su incidencia en la salud animal.

## **I. Probióticos.**

### **I. 1. Concepto de probióticos.**

La fundamentación del uso de los probióticos comienza a desarrollarse a principios del siglo XX con los estudios de Metchnikoff (1903 y 1908) quien fuera el primero en describir que la ingestión de bacterias ácido lácticas podía tener efectos beneficiosos en la flora intestinal del hombre.

El término probiótico procede del griego y significa *a favor de la vida*. Fue definido por Fuller (1992) como: “suplementos microbianos vivos o alimentos que afectan positivamente al animal hospedante, al mejorar el equilibrio microbiano intestinal”.

En las últimas décadas son numerosas las definiciones de probióticos, recientemente el concepto que se trabaja es el dado por González *et al.* (2006) afirmaron que los probióticos son microorganismos vivos, que al ser ingeridos en cantidades adecuadas, ejercen influencia positiva en la salud a través de una mejora de la fisiología del hospedero.

En la actualidad el concepto no varía sino que se desarrolla al incorporar nuevos cultivos de microorganismos de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* y *Saccharomyces*, así como productos de la hidrólisis y la fermentación microbiana, tales como nucleótidos, metabolitos de las proteínas, oligosacáridos, así como ácidos orgánicos tales como el láctico, cítrico y acético, entre otros.

En sentido general, los probióticos se consideran aditivos compuestos por microorganismos vivos, que en suficiente número colonizan y modifican la microbiota del tracto digestivo, lo cual contribuye a mejorar la fisiología y la salud del hospedero (Lata *et al.* 2006 y Mutus *et al.* 2006).

## I. 2. Mecanismos de acción de los probióticos.

Una vez que los probióticos se ingieren, ocurren cambios en la microbiota intestinal que repercuten positivamente en el estado de salud del animal (Rondón, 2008).

El efecto benéfico de los microorganismos probióticos se produce cuando se ingieren en cantidades adecuadas y modifican el ecosistema de billones de microorganismos que habitan en el intestino. Esta situación genera un balance microbiano beneficioso que se manifiesta en un mejor estado de salud, al establecerse competencia por los nutrientes entre los microorganismos beneficiosos y los patógenos que se ingieren por accidente, también por la ocupación de los sitios de adhesión de los agentes patógenos y por el reforzamiento de los mecanismos de defensa, con la consecuente estimulación del sistema inmune. Cuando los probióticos se incorporan en el alimento como aditivo, se genera un estado de eubiosis y se promueve un efecto fisiológico en el organismo, más allá de su valor nutritivo (Khasefidi *et al.* 2006).

Los probióticos tienen una marcada incidencia en la actividad metabólica intestinal. El aumento de la capacidad de utilización de la lactosa es de los efectos conocidos de las bacterias ácido lácticas (Rousseau *et al.* 2005 y Liong *et al.* 2005). Los probióticos intervienen en la reducción de sustancias tóxicas como el amoníaco (NH<sub>3</sub>), aminas, indol, mercaptanos y sulfitos y aseguran la protección de las sales biliares y ácidos grasos contra su biotransformación en productos tóxicos y nocivos. Tienen efecto hipocolesterolémico y anticarcinogénico, cuyos mecanismos no son conocidos completamente (Eamon *et al.* 2005).

Los probióticos son capaces de estimular la producción de anticuerpos y producir enzimas que destruyen sustancias tóxicas o cancerígenas, además producen sustancias con acción antibacteriana (Shumí *et al.* 2004). Entre estas últimas se incluyen bacteriocinas, biológicamente activas con acción contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora. Sin embargo, recientemente este concepto se modificó, encontrándose acciones bactericidas contra cepas distanciadas filogenéticamente de la cepa productora como la nisina y la lactalina y destructores de toxinas (Sablon *et al.* 2000). La subtilisina es una bacteriocina que producen las cepas de *Bacillus subtilis* cuya estructura y modo de acción es similar al de la nisina (Lim Teo *et al.* 2005).

Los *Bacillus* se reconocen por su efecto bactericida o bacteriostático; tal es el caso de los productos Biosporin y Bio Plus 2B, los que actúan al inhibir el crecimiento de cepas patógenas como *Enterococcus faecium*, *Shigella flexneri*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella.spp*, *E.coli* y otras (Hua *et al.* 2005 y Utimaya *et al.* 2006).

Los efectos positivos de los probióticos no sólo se presentan a nivel del TGI, sino que se reflejan en resultados zootécnicos tales como la ganancia de peso vivo y la mejora de la conversión alimenticia (Fooks y Gibson, 2002, Herzig *et al.* 2003 y Coppola y Gil-Turnes, 2004).

### I. 3. Microecología del TGI de las aves.

El número y la composición de la microbiota varían considerablemente a lo largo del TGI de las aves. El conteo de bacterias totales, está por debajo de  $10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> en el estómago debido al pH ácido presente en este órgano. En el intestino delgado, el número oscila desde  $10^4$  en el duodeno hasta  $10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> en la región ileocecal. Los principales factores limitantes del crecimiento en el intestino delgado son el rápido tránsito de la digesta y la secreción de bilis y jugo pancreático. El intestino grueso constituye el sitio ideal para el crecimiento microbiano. Varios cientos de especies se encuentran presentes en número que varían desde  $10^{11}$ -  $10^{14}$  UFC.g<sup>-1</sup> (Piad 2001).

Apajalahti y Kettunen (2002) realizaron cultivos independientes de flujo citométrial de pollos, después del primer día del nacimiento de las aves. Estos autores observaron que la densidad de bacterias en el íleon y el ciego alcanzaron valores de  $10^8$  y  $10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup> de digesta, respectivamente. A partir del tercer día del nacimiento, el número de microorganismos, sobrepasó las  $10^{11}$  UFC.g<sup>-1</sup> en el contenido cecal y  $10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> de contenido ileal, y permanece relativamente estable durante los 30 días siguientes.

Después del sistema respiratorio, el TGI constituye la mayor superficie del cuerpo que comunica a éste con el mundo exterior, donde existe una rica microbiota con más de 500 especies bacterianas diferentes, muchas de las cuales ejercen diferentes funciones. Estas bacterias se clasifican en dos tipos: Unas nativas que se denominan indígenas y otras capaces de vivir, por cortos períodos de tiempo en dicho ecosistema, conocidas como microorganismos de tránsito (Kalavathy *et al.* 2006).

La microbiología del TGI forma un ecosistema altamente complejo que, a pesar de ser abierto, es muy estable. Existen interacciones entre el animal y su microbiota, así como entre los microorganismos que componen esta última. Aquí se cumplen los dos postulados de la ecología bacteriana (Fuller, 1989):

- la inoculación de especies exóticas no debe cambiar el número y la composición de un sistema abierto.
- el número y la composición de la microbiota puede afectarse por variaciones en el ambiente.

El TGI de los pollos posee numerosas especies bacterianas. Estudios recientes se basan en Técnicas de Biología molecular que muestran nueva información acerca de la microbiología del TGI de muchas especies de animales. Se trabaja en la proporción de G+C, así como en secuenciación de ADNr 16S. Este análisis filogenético revela la presencia de 200 especies microbianas con diferentes secuencias, los resultados parecen indicar que existen alrededor de 65 géneros bacterianos (Apajalahti *et al.* 2002 y Fasoli *et al.* 2003).

Las bacterias más abundantes presentes en el TGI de pollos pertenecen al género *Clostridium*, con el 18 % de todas las bacterias cecales. Sin embargo, la taxonomía de los clostridios no está dilucidada ya que este género es muy heterogéneo. Por ejemplo, *Clostridium perfringens* no se relaciona con la mayor parte de los miembros del género que habitan en el TGI de los pollos. Los restantes géneros, por sus números son: *Bacteroides* (11 %), *Bifidobacterium* (10 %), *Fusobacterium* (5 %), *Strepto / enterococcus* (5 %), *Lactobacillus* (17 %) y otros (34 %) (Apajalahti *et al.* 2002 y Holben *et al.* 2002).

#### **I. 4. Papel de la microbiota gastrointestinal.**

La microbiota gastrointestinal desarrolla un amplio rango de actividades metabólicas en los que se utilizan sustratos tales como alimentos ingeridos, mucus, secreciones digestivas y células reemplazadas. Los productos finales de la fermentación microbiana son los AGCC, fundamentalmente acetato, propionato y butirato, los cuales constituyen los principales aniones del intestino. Otros productos finales de la fermentación de los carbohidratos incluyen lactato, etanol, succinato, etc. Los AGCC son rápidamente absorbidos del intestino y estimulan la absorción de sales y agua. Ellos se metabolizan, principalmente por el epitelio intestinal, el hígado y los músculos con poca aparición en la orina y pequeñas cantidades en las heces. Una de sus propiedades más importantes la constituye su efecto trófico en el epitelio, donde el butirato es el más efectivo (Piad, 2001).

Las funciones de los AGCC se asocian con el efecto probiótico de los microorganismos que los sintetizan e intervienen en un estrecho proceso interconectivo en las funciones de recambio y mantenimiento celular, metabólico y microbiano en el TGI, principalmente a nivel de ciego e intestino grueso (Caja *et al.* 2003).

#### **I. 5. Características generales de las bacterias del tracto intestinal.**

Normalmente, las bacterias que habitan en el tracto digestivo no sólo son beneficiosas, sino también esenciales. En las aves, las bacterias crecen activamente en el buche, intestino y ciegos. Entre las aves silvestres, los recién nacidos obtienen sus primeras bacterias de la boca, buche o excremento de la madre. Por consiguiente, una población beneficiosa de bacterias se establece rápidamente en el ave joven. Los polluelos que nacen en plantas incubadoras comerciales no tienen esa oportunidad (Smith *et al.* 1999).

La población deseable o el equilibrio entre las bacterias pueden ser quebrados por infección viral, ciertos estresantes, falta de alimento, bacterias patogénicas virulentas, desbalances en el sistema inmunológico, alteración en la peristalsis y el uso de antibióticos para combatir infecciones bacterianas. El resultado es una menor cantidad de bacterias beneficiosas y un incremento de las bacterias indeseables tales como las de la Familia *Enterobacteriaceae* y *Clostridium* spp. (Jones y Ticket, 2003).

Algunas de las bacterias más comunes presentes en las aves son *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, eubacterias, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus* y otras. Las bacterias patogénicas más comunes son algunas especies de *Clostridium*, *E.coli* toxigénica y *Salmonella*. También se incluyen *Pseudomonas*, *Proteus*, *Staphylococcus* y algunos *Enterococcus* y *Streptococcus*, así como algunos cultivos de *Bacteroides* spp. (Apajalahti *et al.* 2002).

## **I. 6. Efectos de las bacterias en el tracto digestivo.**

Las investigaciones indican que hay 10 veces más células bacterianas en el tracto digestivo que células somáticas en el cuerpo del huésped. Por supuesto, las células bacterianas son mucho más pequeñas que las células animales. La microbiota intestinal puede tener efectos beneficiosos y perjudiciales en el hospedero (Le H Duc *et al.* 2004)

Los efectos beneficiosos incluyen:

1. Eliminación de bacterias potencialmente patogénicas.
2. Eliminación de hongos. Esto es evidente cuando la administración de un antibiótico no sólo elimina al patógeno, sino también a las bacterias que evitan la proliferación de hongos tales como *Candida*. La infestación fúngica puede ocurrir en la boca, buche, o en cualquier otra parte el hospedante.
3. Producción de ácidos grasos volátiles de cadena corta. Estos ácidos reducen el pH del tracto digestivo y ayudan en la eliminación de patógenos. Los ácidos acéticos y propiónico y fundamentalmente el butírico, se usan como fuente de energía por las células epiteliales en el colon y los ciegos.
4. Las bacterias metabolizan la arginina en diamina y putrescina, las cuales se usan por las células epiteliales para la síntesis de poliaminas espermina y espermidina, sustancias que se asocian con los ácidos nucleicos celulares en la división celular y la síntesis de proteína. El epitelio intestinal es un tejido muy activo que normalmente se reemplaza de tres a siete días.
5. Estimulan los tejidos linfáticos que se asocian al intestino. Estos incluyen las células M, las placas de Peyer y las amígdalas cecales. Hay también tejidos linfáticos difusos que producen linfocitos en la lámina propia mucosal y linfocitos intraepiteliales (LIE). Los LIE regulan la producción de IgA. La IgA la cual bloquea los sitios de adherencia en la superficie de las células bacterianas específicas, por lo tanto evita que se adhieran las bacterias a las células del epitelio intestinal.

Efectos dañinos de las bacterias en el sistema digestivo:

1. Enfermedades causadas por patógenos. Éstas van desde infecciones agudas, que dañan severamente el epitelio intestinal y producen diarrea con peligro de muerte, hasta las infecciones crónicas con efectos moderados, tales como aumento en la velocidad de pasaje del alimento y disminución en la absorción de calcio, grasa y vitaminas solubles en grasa. Las aves pueden alojar patógenos que causan enfermedades serias en humanos. Estos incluyen *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*, entre otras.
2. Alteraciones del metabolismo del hospedero e incremento de la actividad del tejido linfoide asociado con el intestino. Las citoquinas, que se liberan en la circulación general del hospedero, provocan un aumento en la tasa metabólica basal, un aumento en la tasa de degradación de proteínas y una disminución en la tasa de síntesis de proteínas. La actividad metabólica que se incrementa en estos tejidos hospederos reduce la energía metabólica disponible para el crecimiento y por consiguiente, reduce la eficiencia alimentaria.
3. Producción de sustancias tóxicas a partir de aminos biogénicos y otras toxinas. Las proteínas que no se digieren se metabolizan mediante las bacterias putrefactivas en el íleon, colon y ciegos, donde producen amoníaco y aminos biogénicos. Estos productos se destoxifican en el hígado y el amoníaco se convierte en ácido úrico para ser excretado por los riñones. Este proceso requiere energía metabólica que se usa para el crecimiento del ave. Las especies bacterianas más importantes en la producción de toxinas que reducen el crecimiento en la avicultura son *Clostridium perfringens* y algunas cepas de *Enterococcus*.

## **II. Género *Bacillus*. Características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e inmunológicas.**

### **II. 1. Características morfológicas y fisiológicas del género *Bacillus*.**

Según Stanier (1996), Jawets (1996) y Buchanan y Gibbons (1997) las bacterias del género *Bacillus* son generalmente Gram positivas, aunque algunas especies presentan reacción variable a esta técnica de tinción. Estas bacterias tienen forma de bastoncillo, se agrupan en cadenas, son móviles con flagelación peritrica, forman endosporas, son aerobias, anaerobias facultativas y aerotolerantes. Por otra parte, no son adherentes, son productoras de sustancias antimicrobianas y producen enzimas hidrolasas. Tienen reacción positiva a la catalasa, hidroliza la gelatina, fermentan algunos azúcares y en ocasiones producen gas. Usualmente descomponen las proteínas para producir amonio. Generalmente crecen a 37 °C, la mayor parte son saprofitas y están presentes comúnmente en el suelo e incluso en el conducto intestinal de los animales, así como en algunos alimentos.

Las bacterias de este género se agrupan en la familia *Bacillaceae*. Las especies tipo son: *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. macerans*, *B. polymyxa*, *B. thuringiensis*, *B. pasterii*, *B. fastidiosus*, *B. sphaericus* y *B. anthracis* (Mayea 1997). Se conoce que existen 69 especies identificadas y reconocidas por *International Journal of Systematic Bacteriology*. La diversidad polimórfica a nivel cromosomal 16S RNAr tipo es la que permite su diferenciación (Oggioni *et al.* 2003).

La producción de endosporas es una característica típica de todas las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Las endosporas son pequeñas estructuras ovoides o esféricas, en las que se pueden transformar estas bacterias y constituir formas celulares muy resistentes al calor y al medio adverso. Su síntesis se produce frente a condiciones de limitación de nutrientes, agua y oxígeno. Constituye un sistema de protección frente a condiciones ambientales adversas (Stanier, 1996, Madigan *et al.* 1997 y Huang- Mo *et al.* 2000).

Normalmente no se forman endosporas durante el crecimiento activo y la división celular. Generalmente, se forma una endospora por cada célula vegetativa. La endospora madura se libera por lisis de la célula vegetativa donde se desarrolló, a partir de este momento pierde su característica de bacteria Gram + y se puede decir que es Gram -. Las endosporas libres no tienen metabolismo detectable, pero mantienen durante años (a menudo décadas) su capacidad potencial para germinar y crecer en forma vegetativa. Este estado de latencia total se conoce como criptobiosis (Gálvez, 2004).

Esta estructura se reconoce fácilmente al microscopio por su lugar intracelular de formación, su extrema refringencia y su resistencia a la tinción por colorantes básicos de anilina que tiñen, fácilmente a las células vegetativas. La estructura de las endosporas es compleja y poseen varias capas que, del exterior al interior, se nombran exosporio (cubierta fina y muy delicada), cutícula (con una o varias capas de material similar al de la pared celular) y córtex (compuesta por varios anillos concéntricos, los cuales están compuestos por glucopéptidos y contienen las estructuras normales de la célula (Stanier, 1996).

Según Gálvez (2004) los cambios citológicos y los acontecimientos bioquímicos que suceden en el transcurso de la formación de la endospora bacteriana están bien definidos y permiten reconocer distintos estadios, desde el 0 hasta el VI, con una duración de 6 a 8 horas.

El proceso de formación de la endospora se estudió extensivamente como un modelo simple, lo cual ha permitido en años recientes, su uso como probióticos (Barbosa *et al.* 2005 y Khaksefidi *et al.* 2006).

## **II. 2. Características bioquímicas del género *Bacillus*.**

Otro de los elementos característicos del género *Bacillus* es la producción de enzimas hidrolíticas, más o menos específicas, para sus sustratos. Muchas reacciones biotecnológicas pueden llevarse a cabo gracias a la ayuda de las enzimas aisladas a partir de microorganismos o por las propias enzimas que éstos producen (Pérez, 2000).

Las enzimas que producen las especies de *Bacillus* spp. se usan en más del 59 % para llevar a cabo procesos biotecnológicos debido a la bioseguridad que brindan estos microorganismos (Pérez, 2000 y Shumi *et al.* 2004).

Entre las enzimas microbianas que se utilizan resaltan las proteasas, amilasas, manosidasas y glucosidasas que descomponen las complejas moléculas presentes en los alimentos y las transforman en nutrientes más simples, los que se absorben más rápidamente por el animal o pueden emplearse por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microbiota intestinal balanceada (Pérez, 2000).

En estudios recientes Pérez *et al.* (2007) evaluaron el comportamiento del crecimiento microbiano, la producción de endosporas y la producción de enzimas del tipo proteolíticas por una cepa de *Bacillus licheniformis*.

## **II. 3. Acción de las endosporas en el sistema inmunológico.**

Los avances de la inmunología en los últimos años se dirigen al estudio y lucha contra las principales enfermedades infecciosas que azotan a humanos y animales. Sin embargo, todavía existe un alto desafío para la inmunología en el campo de las enfermedades infecciosas, tal es el caso del VIH en el hombre y de varias enfermedades en los animales productivos (Iañez, 2001).

Hoy se plantea la necesidad de que el hombre y los animales tengan un adecuado funcionamiento del sistema inmunológico para responder con fuerza a los desafíos estresantes de la vida moderna y las prácticas de crianza intensiva animal. El uso de probióticos esporulados como inmunoestimulantes puede contribuir a cubrir estas necesidades y elevar el bienestar y las expectativas de vida de los seres humanos, así como la salud y capacidad probiótica en los animales (Duc *et al.* 2004).

Los microorganismos con actividad probiótica promueven la estimulación del sistema inmune en el TGI, con un efecto directo en las Placas de Peyer. Ellos son importantes en la producción de IgA e IgG y son estimuladores de la síntesis de linfocitos T y citoquinas para favorecer la destrucción intracelular de patógenos tales como *Salmonella* spp. y otros (Khaksefidi *et al.* 2006). La ingestión de probióticos específicos puede estimular la fagocitosis y las células inmunocompetentes del intestino asociadas al tejido linfoide, además de presentar propiedades adyuvantes (Luengo, 2004).

Se comprobó que no siempre los mecanismos, a nivel de la primera barrera de respuesta inmune, son todo lo efectivos para impedir que los antígenos traspasen la mucosa intestinal y penetren en el organismo a través de la sangre o la linfa. Si las bacterias probióticas logran traspasar los mecanismos de la primera barrera defensiva del organismo, activarán la segunda y tercera barrera a favor de la respuesta inmune (Granato *et al.* 2004).

Dentro del TGI, el intestino grueso es un importante órgano inmunológico que abarca entre 70-80 % del sistema inmunológico total del cuerpo. Este órgano posee una alta capacidad para modular la función de barrera y prevenir la translocación microbiana. La parte dominante del sistema inmunológico se encuentra en el intestino grueso, donde la flora microbiana, las células mucosas y el tejido linfoide, son inmunológicamente activos. En este sitio se producen citoquinas moduladoras, que a su vez se unen a los procesos fermentativos de la biota comensal, para producir localmente los nutrientes inmunorreguladores (Hoa *et al.* 2000).

Después de la introducción de microorganismos, con efecto probiótico, se comprobó “in vivo” la actividad de macrófagos sobre la actividad fagocitaria inespecífica con resultados favorables (Braat *et al.* 2004 y Veckman *et al.* 2004).

Algunos microorganismos probióticos no relacionados a la microbiota intestinal autóctona (*Bacillus*) pueden actuar como antígenos y desencadenar cierta reacción inmunitaria que se traduce en una mayor producción, principalmente, de IgA a nivel intestinal (Rahmani y Speer, 2005).

Conceicao *et al.* (2002) demostraron que el probiótico CenBiot estimuló la respuesta humoral frente a *Escherichia coli* en ratones. Beliavskaia (2001) y Coppola *et al.* (2004) demostraron, que *B. subtilis* recombinante evitó la inmunosupresión que causan las vacunas replicantes contra Parvovirus canino. La aplicación de *Bacillus* aceleró la formación de clones de memoria y aumentó la respuesta inmune específica, todo debido a la acción del interferón  $\gamma$  el cual se secreta producto de la actividad de la bacteria en el interior del lumen intestinal.

Los biopreparados probióticos con cepas de *B. subtilis* son agentes inmuno estimuladores en una variedad de enfermedades “in vitro” y estimuladores “in vivo” de secreción de inmunoglobulina A (IgA) (Nava y Dávila, 2004 y Kanaminogawa y Nanno, 2004).

### **III. Perspectivas futuras.**

Los probióticos evolucionaron, en muy poco años, con nuevos productos a base de *Lactobacillus* spp. y cultivos de *Bacillus*, así como hongos y levaduras. La perspectiva futura de la aplicación de estos productos como una alternativa viable ha comenzado y su desarrollo lleva a cabo una mejora en los métodos de aplicación y administración de los probióticos. En las aves se incrementan su uso no solo como probiótico sino también

como agentes de exclusión competitiva para mejorar la composición bacteriana del TGI, prevenir enfermedades, mejorar la uniformidad del peso corporal, aumentar la absorción de nutrientes, mejorar la eficiencia en la conversión alimentaria y aumentar la ganancia de peso corporal. Nuestro país, no se ha quedado atrás, trabaja en la obtención y evaluación integral de cultivos de *Bacillus subtilis* en fase esporulada a través de la evaluación integral de indicadores fisiológicos y productivos en aves.

## **Conclusiones.**

Con el empleo de probióticos, a base de *Bacillus sp* y sus endosporas, en la aves, se mejora el balance microbiano del TGI, se inhibe el crecimiento de bacterias dañinas, se estimula la producción de enzimas hidrolíticas para mejorar la utilización de los alimentos, e incrementa los contenidos de bacterias ácido lácticas en el TGI, favoreciendo la acidez del intestino. Así mismo, los cultivos de *Bacillus sp* y sus endosporas, estimulan la respuesta inmunológica al favorecer la diferenciación de células supresoras o estimuladoras y, como resultado final, mejorar los rendimientos productivos.

## **Bibliografía.**

- Alexopoulos, C.; 2001. "Field evaluation of a bioregulator containing live *Bacillus cereus* spores on health status and performance of sows and their litters". *Journal of Veterinary Medicine*, 3 (48), pp. 137-145.
- Apajalahti, J.; Kettunen, A.; Bedford, M.; Holben, W.; Nurminen, P.; Rautonen, N.; Mutanen, M. 2002. Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. Curso de Especialización. *Applied Environment Microbiology*, 68, pp. 4986- 4995.
- Barbosa, T. Claudia R. S., La Ragione, R., Martí, J. W. & Adriano, H.O. 2005. Screening for *Bacillus* Isolates in the Broilers Gastrointestinal Tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (2), pp. 968-978.
- Beliavskaia, V. A. 2001. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii*, 6(78), pp. 77-82.
- Braat, H., Jong, E. C., Brande, J. M., Kapsenberg, M. L., Peppelenbosch, M. P., Van Tol, E. A. & Van Deventer, S. J. 2004. Dichotomy between *Lactobacillus rhamnosus* and *Klebsiella pneumoniae*, 82, pp. 197-205.
- Buchanan, R. E. & Gibbons, N. E. 1997. *Bergey Manual of Determinative Bacteriology*. 8<sup>th</sup> Edition. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. U.S.A.

- Caja, G., González, C., Flores, C., Carro, M. D. & Albanell, E. 2003. Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: probióticos, enzimas y ácidos orgánicos. FEDNA, España.
- Carro, M.D. & Ranilla, M. J. 2004. Los Aditivos Antibióticos Promotores del Crecimiento de los Animales: Situación Actual y Posibles Alternativas. *Revista digital Veterynari*. España.
- Conceicao, F. R., Zani, J. L. & Gil-Turnes, C. 2002. Effect of probiotic CenBiot on the humoral response to an *E. coli* bacterin. *Journal Food and Agricultural Immunology*, 2(14), pp. 135-140.
- Coppola, M. M., Conceicao, F. R. & Gil-Turnes, C. 2004. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. *Journal Food Agricultural Immunology*, 16
- Correa, G. S. S., Gómez, A. V. C., Correa, A.B. & Salles, A. S. 2003. Use of the antibiotic and probiotic as growth promoter for broilers. *Revista. Universidad Rural Servicio Científico Da Vida*, 22.(2), pp. 75-81.
- Duc le H., Hong, H.A., Barbosa, T. M., Henriquez, A. O. & Cutting S. M. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Applied Environment Microbiology*, 70, pp. 2161-2171.
- Eamonn, Q., Rodrigo, Q. P. & Ana María Madrid S. 2005. El rol de los prebióticos, probióticos y simbióticos en gastroenterología. *Journal Gastroenterology Latinoamerican*, 16 (3), pp. 218-228.
- Faria, F. 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. *Journal Poultry Science*, 8(2), pp. 89-98.
- Fasoli, S., Marzotto, M., Rizzotti, L., Rossi, F., Dellaglio, F. & Torriani, S. 2003. Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *Journal Food Microbiology*, 82, pp. 59–70.
- Fooks, L. J. & Gibson, G. R. 2002. Probiotics and modulators of the gut flora. *Journal Nutrition*, 88, pp. 39-49.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal Applied Bacteriology*, 66, pp. 365.
- Fuller, R. 1992. Probiotics: Concepts and functions. In: Probiotics. The Scientific Basis. Edited by Roy Fuller. *Published by Chapman and Hall. Boundary Row*. London, pp. 12-32.

- Gálvez, G. M. 2004. Microorganismos (bacterias, virus, hongos y levaduras). Características generales de las principales familias de microorganismos. Curso de Microbiología. España.
- González, F. & González-Martínez, B. E. 2006. Criterios de Calidad de los Microorganismos Probióticos y evidencias sobre efectos Hipocolesterolémicos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 7 (1).
- Granato, D., Bergonzelli, G. E., Pridmore, D. R., Marvin, L., Rouvet, M. & Theulaz, I. E. C. 2004. Cell surface-associated elongation factor tu mediates the attachment of *Lactobacillus johnsonii* NCC533 (La1) to human intestinal Cells and mucins. *Journal Infect Immunology*, 4 (72), pp. 2160-2169.
- Grau, R. 2006. *Usan bacterias para criar superpollos*. Revista. AXXON. disponible en <<http://axxon.com.ar>>.
- Herzig, I., Gopfert, E., Pisarikova, B. & Strakova, E. 2003. Testing of growth promoting and protective activity of the probiotic lactiferm in weaned piglets. *Acta Veterinaria Bron*, 72, pp. 331-338.
- Ho, H.T., Baccigalupi, I., Huxham, A., Smertenko, A., Van, S. & Ammendola, E. 2000. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacteriophylaxis of gastrointestinal disorders. *Applied Environment Microbiology*, 66, pp. 5241–5247.
- Holben, W. E., Sarkilahti, L. K., Williams, P., Saarinen, M. & Apajalahti, J. H. A. 2002. *Microbiology Ecology*, 44, pp. 175- 185.
- Hua, J.L., Yua, B., Yang, H. & Tsend, T. 2005. Antagonistic activity against *Salmonella* infection “in vitro” and “in vivo” for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *Journal of Food Microbiology*, y xxx– xxx.
- Huang, M. S. & Ronald, E. 2000. Transient Growth Requirement in *Bacillus subtilis* following the cessation of exponential growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (3), pp. 1220-1222.
- Iañez, P. E. 2001. *Introducción y base histológica*. disponible en <<http://fai.unne.edu.ar/inmunología/inmuno.htm>>.
- Jawets. 1996. Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno. 15. Edición, pp. 834-835
- Johnson, L. R. & McCormack, S. A. 1994. Regulation of gastrointestinal mucosal growth. Chapter 14 in Physiology of the Gastrointestinal Tract. Third edition. L.R Jonson ed. Raven Press, New York

- Jones, F.T. & Ticket, S.C. 2003. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Journal Poultry Science*, 82, pp. 613-617.
- Jones, F.T. & Ticket, S.C. 2003. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Journal Poultry Science*, 82, pp. 613-617.
- Kalavathy, A., Abdullah, N., Jalaludin, S., Wong, M. & Yin Wan Ho. 2006. Effects of *Lactobacillus* feed supplementation on cholesterol, fat content and fatty acid composition of the liver, muscle and carcass of broiler chickens. *Journal Animal*, (55), pp. 77-82.
- Kaminogawa, S. & Nanno, M. 2004. Modulation of immune functions by food. *Cam* (3), pp. 241-250.
- Khaksefidi, A. & Ghoorchi, T. 2006. Effect of Probiotics on Performance and Immunocompetence in Broiler Chicks. *Journal of Poultry Science*, 43, pp. 296-300.
- La Ragione, R., Narbad, A., Gasson, M. J. & Woodward, M.J. 2004. In vivo characterization of *Lactobacillus johnsonii* FI9785 for use as a defined competitive exclusion agent against bacterial pathogens in poultry. *Applied Microbiology*, 38 (3), pp. 197-205.
- Lata, J., Jurankova, J., Doubek, J., Pribramska, V., Fric, P., Dite, P., Kolar, M., Scheer, P., & Kosakova, D. 2006. Labelling and content evaluation of commercial veterinary probiotics. *Acta Veterinaria. BRNO*, 75, pp. 139-144.
- Le H. Duc., Huynh, A. H., Teresa M. Barbosa., Henriques, A. O. & Simo. 2004. Characterization of *Bacillus* Probiotics Available for Human Use. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (21), pp. 4215-4224.
- Lim Teo., Yeow, A. & Tan, M. 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), pp. 4185-4190.
- Lima, T. M. A., Lima, A. C. F., Harnich, F. A. R., Macari, M. & Pizauro, J. J. M. Av. 2004. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. *Journal Poultry Science*, 6 (4), pp. 231-236.
- Liong, M. T. & Shah, N. P. 2005. Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by using a response surface method: *Applied and Environmental Microbiology*, (71), pp. 1745-1753.

- Luengo, L. 2004. Prácticas de Biología. Ingeniería genética. Biología en zip. disponible <<http://www.arraskis.es//luengo/inmunologia.html>>.
- Mayea, S. S., Carone, M. D., Novo, R. S., Sardiñas, B. I., Silveira, E. P., Arteaga, M. S., Gómez, M. Y. & Valiño, A. A. 1997. *Microbiología Agropecuaria*. Tomo 1, pp. 15-52.
- Metchnikoff, E. 1903. *The nature of man. Studies in optimistic philosophy*. English Translation (ed by P. Charmers Mitchell). Revised by C.M. Beadnell. 1938. Watts and Co. London.
- Metchnikoff, E. 1908. *Prolongation of life*. New York: G. P. Putnam and Sons.
- Mutus, R., Kocabagh, N., Alp, M., Acar, N., Eren, M. & Genzen, S. 2006. The effect of dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics in broilers. *Poultry Science*, 85, pp. 1621- 1625.
- Nava, G. M. & Dávila, M. 2004. Nuevas perspectivas en la selección y evaluación de probióticos. *Journal Children Nutrition*, (21), pp. 184-185.
- Oggioni, M. R., Annalisa Ciabattini., Anna M. Cppone. & Pozzi, G. 2003. *Bacillus* spores for vaccine delivery. S2/96–S2/101. disponible <[www.elsevier.com/locate/vaccine](http://www.elsevier.com/locate/vaccine)>.
- Patterson, J. A. & Burkholder, K. M. 2003. Application of Prebiotics and Probiotics in Poultry Production. *Poultry Science*, 82, pp. 627-631.
- 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., Piad, R., Grethel Milian., María das Gracias Felipe., Adrienne Ferreira., Mancilha, I., Marta Laurencio. & Almeida, J. B. 2007. Preparation of a crude enzymatic from *Bacillus licheniformis* E-44 and its evaluation in the hydrolysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. *Enzyme and Microbial Technology*, 40, pp. 452–455.
- Piad, R. 2001. *Evaluación de la actividad probiótica de un hidrolizado de enzimático de crema de destilería en pollitas de reemplazo de ponedoras*. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana. Cuba
- Rahmani, H.R. & Speer. W. 2005. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. *Journal Poultry Science*, 4 (9), pp. 713-717.

- Rondón, A. J., Samaniego, L. M., Bocourt, R., Rodríguez, S., Milián, G., Ranilla, M. J., Laurencio, M. & Pérez, M. 2008. Isolation, identification and partial characterization of the probiotic properties of *Lactobacillus* spp. strains obtained from the gastrointestinal tract of broilers. *Journal Sciences Technological Aliments*, 6(1), pp. x-xx.
- Rousseau, V., Lepargneurb, J. P., Roquesc, C., Remaud-Simeond, M. & Paula, F. 2005. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Clinical microbiology Anaerobe*, 11, pp. 145- 153.
- Sablon, E., Contreras, B. & Bañadme, E. 2000. *Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of Action, Genetic and Biosynthesis*. In *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology*.
- Shumi, W., Towhid, H. M. D. & Anwar, M. N. 2004. Proteolytic Activity of a bacterial isolate *Bacillus fastidiosus* den Dooren de Jong. *Journal Biological Sciences*, 4 (3), pp. 370-374.
- Smith, K. E. 1999. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992- 1998. New England. *Journal of Medicine*, 340, pp. 1525-1532.
- Stanier, R. S. 1996. *Microbiología*. Barcelona. Editorial Revert. 2 ed, pp. 750.
- Utiyama, C. E., Oetting, L. L., Giani, P. A. & Urbano dos Santos Ruiz .2006. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. *Revista Brasileira Zootecnia*, 35(6), pp. 2359-2367.
- Veckman, V., Miettinen, M., Pirhonen, J., Siren, J., Matikainen, S. & Julkunen, I. 2004. *Streptococcus pyogenes* and *Lactobacillus rhamnosus* differentially induce maturation and production of Th1-type cytokines and chemokines in human monocytederived dendritic cells. *Journal Leukoc Biology*, 75, pp. 764-771.