

Los probióticos y su empleo en los rumiantes

**Ing. Alexey Díaz Reyes, Ing. Martha Laurencio Silva, Dr. C. Manuel Pérez
Quintana¹**

Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Facultad de Agronomía. Autopista a
Varadero km 3 ½ Matanzas, CP 44740, Cuba

Resumen

En el trabajo se describen los efectos de los aditivos probióticos en animales rumiantes. Se profundiza en la definición de probióticos, así como en la utilización y funciones de estos productos. Se describen los criterios de selección empleados para los microorganismos probióticos en rumiantes y en las características de las bacterias lácticas para estos animales. Asimismo, se analiza el empleo de los *Lactobacillus* y *Bacillus* como probióticos en poligástricos. Se destaca el empleo de levaduras como activadores de la fermentación ruminal. Se hace un análisis de los microorganismos del tracto digestivo y del rumen, así como del uso de los probióticos en terneros y otras categorías bovinos.

Introducción.

El crecimiento acelerado de la población mundial en los últimos años y sus perspectivas para el futuro son una problemática que preocupan a los gobiernos y organismos internacionales al constatar la difícil situación que tiene que enfrentar el mundo para poder satisfacer sus necesidades alimentarias.

La situación de las alteraciones climáticas, los problemas de la contaminación ambiental y la demanda cada vez mayor de que se obtenga un adecuado balance ecológico en los sistemas productivos son un desafío para los investigadores y productores de alimentos tanto de origen vegetal como animal.

En este sentido la ganadería mundial juega un gran papel en aliviar la necesidad alimentaria de la población mundial lo que nos obliga a establecer adecuados sistemas de crianza con fines productivos.

La producción animal en el mundo especialmente la de terneros enfrenta actualmente un sin número de desafíos. Los aspectos de bienestar animal tienden a predominar, pero en este camino la nutrición y la salud también resultan ser problemáticas. En la alimentación de estos, existe una búsqueda que va adelante tratando de encontrar consistentemente reemplazos efectivos para los antibióticos promotores del crecimiento, terapéuticos, los cuales puedan ser entregados a través de los sustitutos lácteos.

En la actualidad, el concepto clásico de nutrición equilibrada es aquella que aporta a través de los alimentos las correctas proporciones de los nutrientes básicos, tales como hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas, minerales así como las calorías suficientes para satisfacer las necesidades orgánicas particulares. Este concepto clásico tiende a ser sustituido por el de nutrición funcional, que además de hacer referencia a la capacidad de nutrir se refiere a la potencialidad que tienen algunos alimentos para promocionar la salud, mejorando el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar ciertas enfermedades. Tales alimentos son llamados "alimentos funcionales", entre los que destacan no solamente los fitonutrientes sino también los prebióticos y probióticos. La utilidad de los probióticos se remonta a miles de años, y esto se encuentra en las tablas sumerias. Hipócrates, médico griego dijo: "Permita que la comida sea su medicina, la medicina su comida". 1908.

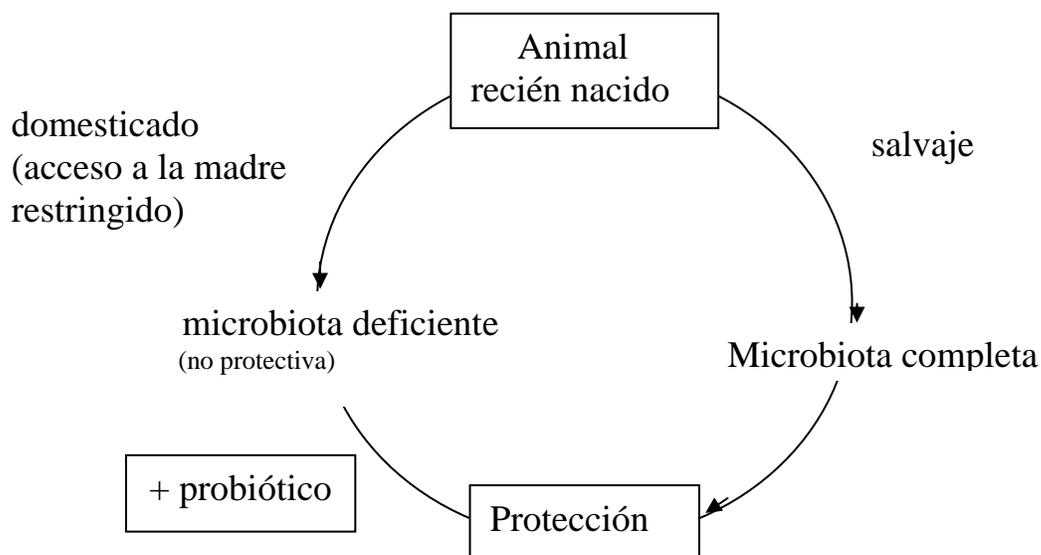
La salud de la generalidad de los animales está caracterizada por un buen funcionamiento del tracto gastrointestinal (TGI) lo que influye considerablemente en una conversión eficiente del alimento para el crecimiento y/o la producción. Para que el TGI tenga un buen funcionamiento es necesario que exista un adecuado balance de su microflora bacteriana.

El equilibrio de la flora gastrointestinal puede ser alterado por diversas causas, entre las más significativas se encuentran el estrés, la dieta y el uso de antibióticos todo lo cual conlleva a un balance a favor de los microorganismos patógenos y con ello a los procesos morbosos causantes de morbilidad y mortalidad.

Debido a los métodos de manejo intensivo de hoy, los animales de granja son muy susceptibles al desbalance bacteriano entérico, conduciendo a una insuficiente conversión de los nutrientes y a un retardo en el crecimiento. Para contrarrestar estas dificultades, las dietas son suplementadas con antibióticos los cuales han sido efectivos en la disminución de diarreas y para promover el crecimiento. (Armstrong, 1986; Parker y Armstrong, 1987) En décadas pasadas el método más común para prevenir enfermedades y aumentar la eficiencia alimentaria había sido el uso de dichos antibióticos como promotores del crecimiento, pero se ha comprobado que estos tienen influencias negativas en la composición de la microflora gastrointestinal, ya que los *Lactobacillus* son muy susceptibles a los antibióticos, además contribuyen a la antibiorresistencia bacteriana y a su presencia residual en las carnes, huevo, leche y otros productos de origen animal

En el estado salvaje los animales recién nacidos adquieren su microbiota intestinal a través de la madre ya sea directa o indirectamente. Sin embargo, con los métodos modernos de crianza frecuentemente se restringe el acceso de la cría a la madre y se previene por tanto la adquisición completa de la microbiota característica (Fig 1). Todo esto unido a varios factores de la dieta y el ambiente pueden desestabilizar el equilibrio natural en el ecosistema lo que trae consigo el desarrollo de un estado desbalanceado denominado disbiótico el cual favorece el desarrollo de microorganismos patógenos que producen disturbios gastrointestinales y afectan por tanto la salud del animal.

Figura: 1 - Fuentes de microorganismos intestinales en animales jóvenes salvajes y domesticados (Fuller, 1989).



Para eliminar estas dificultades, anteriormente se incluían antibióticos en la dieta como ya se ha mencionado anteriormente, los cuales eran efectivos en disminuir las diarreas y promover el crecimiento. Sin embargo, el desarrollo de cepas patógenas altamente resistentes entre otras dificultades ha conllevado actualmente a limitar e incluso en algunos países a prohibir el uso de los mismos (Fuller 1989; Bengmark, 1998).

Es en medio de este contexto es que se viene luchando por introducir en los sistemas de producción animal intensiva nuevos productos y tecnologías que permitan la obtención de alimentos más sanos y naturales y que al mismo tiempo permitan producciones con una sostenibilidad económica adecuada. El uso óptimo de los alimentos destinados para la producción animal requiere no sólo del empleo de fórmulas adecuadas para la satisfacción de los requerimientos nutricionales sino de un uso óptimo de los mismos y un mejoramiento en la salud de los rebaños. La consecución de ambos objetivos se puede lograr entre otras medidas con la aplicación y el empleo de los denominados promotores del crecimiento y/o aditivos alimentarios los que han cobrado fuerza en su uso por una parte y por la otra se ha estado haciendo énfasis en que tales aditivos cumplan con su requisito primario de elevar la eficiencia productiva de los animales y al mismo tiempo que no produzcan efectos residuales en los productos finales. En este contexto es que surgen los productos conocidos como probióticos, estos se han venido utilizando cada vez con mayor fuerza en los sistemas intensivos de producción animal y el éxito de su uso aunque variable en algunos casos permite afirmar que los probióticos se están convirtiendo cada día más en una herramienta indispensable para los productores. Estos constituyen una solución alternativa promisoría que cobra cada día mayor interés. (Linton *et al.*, 1988, Mulder, 1991).

Su utilización en la ganadería mundial por constituir productos biológicos ha alcanzado en la actualidad gran interés ya que estos no causan daños al medio ambiente y tampoco al animal,

Según Mattila-Sandholm, *et al.* (1999) estos productos pueden sustituir el uso de los antibióticos como promotores de crecimiento, por su acción negativa sobre la flora microbiana beneficiosa del animal y por su efecto residual en tejidos y productos de origen animal como carne, leche, huevos, etc.

Desarrollo:

1- Los probióticos.

1.1- Definición de probióticos.

El concepto de probióticos tiene ya un siglo de antigüedad ha evolucionado desde el trabajo de Metchnikoff, (1908) quien propuso que la aparente longevidad de los campesinos balcánicos estaba asociada a la ingestión de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, las cuales desplazan a las bacterias nocivas reduciendo la concentración de toxinas en el tracto intestinal y produciendo así una mejora en el estado de salud.

Recientemente el término probiótico se utilizó por primera vez por Lilley y Stillwell, (1965) y ha sido usado por varios otros investigadores en varios contextos hasta llegar al concepto actual según Fuller, (1989). (Citado por G Caja, 2003), aunque se ha visto sometido a múltiples definiciones, más o menos completas.

Según Walter y Henry (1988), los probióticos son contenidos viables de bacterias ácido lácticas, la mayoría compuestos de cepas de *L. acidophilo* y *S. faecium* o cepas de *Bacillus sp*, ellos son usados en dosis repetitivas en el alimento para prevenir los desórdenes digestivos y/o incrementar el desarrollo zootécnico.

Tal vez la definición más adecuada sea la propuesta por Havenaar y Huisin 't Veld (1992) (Citado por G Caja, 2003), según la cual los probióticos son: cultivos simples o mezclados de microorganismos vivos que, aplicados a los animales o hombre, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microflora intestinal original'. Van Eys y Den Hartog (2003) (Citado por G Caja, 2003), añaden que deben estar en una dosis suficiente para modificar (por implantación o colonización) la microflora de algún compartimiento del aparato digestivo del hospedador. En la práctica suelen presentarse bajo formas destinadas a ser administradas en el agua o en el pienso.

Gunther (1995), clasifica a los probióticos como aditivos alimentarios e incluye en esta clasificación a organismos microbianos vivos o muertos de las especies *Lactobacillus*, *Streptococos*, *Enterococcus*, *Bacillus*, y *Saccharomyces*, así como a otras especies, productos de la fermentación microbiana, nucleótidos y sus productos metabolizables, metabolitos de las proteínas y sustancias derivadas, ácidos orgánicos tales como el láctico, cítrico, acético, fumárico, etc., así como enzimas principalmente de tipo hidrolíticas.

Aunque Mulder (1996), retomó la definición de probióticos como cepas de microorganismos viables que proliferan en el TGI del hospedero, resultando en una microflora balanceada, este autor plantea que existieron confusiones años atrás con respecto al concepto, por tanto se realizó la sugerencia por un panel de científicos europeos de que a estos productos se les llamara "Productos Ecológicos Controladores de la Salud". Estos productos están compuestos mayormente de *Lactobacillus*, *Streptococos*, *Bifidobacterias*, *Bacillus*, y Levaduras. En varios productos son usadas mezclas de estos microorganismos.

También Laiho *et al*, 2002 define a los probióticos como suplementos alimentarios de microorganismos vivos o componentes derivados de estos los cuales tienen un efecto beneficioso sobre la salud humana, lo que es extrapolable a la salud del resto de los animales.

Vera (2005), Los probióticos son microorganismos vivos, que al usarse como suplementos alimenticios en la cantidad suficiente, producen un beneficio en el estado de salud del consumidor. Según los estudios clínicos y las evidencias de investigación, los probióticos muestran uno o varios efectos favorables para la salud de los cuales sobresalen: la mejora de la salud del tracto intestinal; la reducción de los síntomas de intolerancia a lactosa, y el estímulo del sistema inmunológico, entre varios otros. Su efecto benéfico depende de su viabilidad metabólica y de su crecimiento en el tracto intestinal. Una alternativa para promover su proliferación en el intestino y estimular su metabolismo, es la adición de ciertos oligosacáridos complejos (fibra soluble) conocidos como prebióticos. Estos son ingredientes alimenticios no digeribles que tienen la capacidad de beneficiar al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento de uno o varios organismos probióticos y de la flora microbiana favorable en el tracto intestinal.

A continuación se presenta un resumen cronológico de la definición de Probióticos. (Cuadro: 1)

#	Autor y año	Definición de Probióticos.
1	Lilly y Stillwell (1965)	“sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otro”
2	Sperti (1971)	“extractos de tejidos que estimulan el crecimiento microbiano”.
3	Parker (1974)	“organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal.”
4	Fuller (1989)	“ un aditivo alimentario microbiano vivo que afecta beneficiosamente al animal hospedero mejorando su equilibrio microbiano intestinal.”
5	Vanbelle <i>et al.</i> (1990)	“microorganismos intestinales naturales que después de dosis orales efectivas son capaces de establecerse y eventualmente colonizar el tracto gastrointestinal y de esa forma mantener o incrementar la flora natural para prevenir la colonización de organismos patógenos y asegurar una utilidad óptima del alimento”
6	Kahrs (1991),	“microorganismos o sustancias las cuales en la forma de aditivos alimentarios tienen un efecto favorable en el animal hospedero mediante el mejoramiento del balance microbiano intestinal y con efectos secundarios de crecimiento y desarrollo”.

7	Andrews (1992a)	Incluye a los probióticos y a otras sustancias tales como antibióticos, vitaminas minerales, ácidos orgánicos, enzimas, oligosacáridos entre otros en un mismo grupo con el nombre de agentes profilácticos, los cuales, son utilizados para promover la supervivencia y el crecimiento de los animales recién nacidos y jóvenes.
8	Havenaar <i>et al.</i> (1992)	“cultivo viable puro ó mixto de microorganismos que aplicado al animal o al hombre, afecta beneficiosamente al hospedero mejorando las propiedades de la microflora intestinal indígena”.
	Sainsbury (1993)	Microorganismos vivos, los cuales al ser suministrados a los animales, ayudan en el establecimiento de una población intestinal, la cual se convierte en beneficiosa para el animal y antagonista para los microorganismos patógenos.
	Gunther (1995)	Aditivos alimentarios. Organismos microbianos vivos o muertos de las especies de <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Saccharomyces</i> , así como productos de la fermentación microbiana, nucleótidos, metabolitos de las proteínas, oligosacáridos, ácidos orgánicos tales como el láctico, cítrico, acético, entre otros.
9	Salminen (1996) y Schaafsma (1996)	“un cultivo microbiano vivo o un producto microbiano lácteo que influye beneficiosamente sobre la salud y la nutrición del hospedero” y según Schaafsma, “un probiotico oral son microorganismos vivos que después de su ingestión en ciertos números, ejerce efectos de salud más allá de la nutrición básica inherente.”
10	Lyons (1997)	“productos naturales, los cuales se utilizan como promotores del crecimiento en los animales de forma tal que su empleo permite obtener mayores rendimientos, elevada resistencia inmunológica, reducción o eliminación de patógenos en el tracto gastrointestinal y menores residuos de antibióticos u otras sustancias de usos análogos en los productos finales”.

	Guillot (2000)	Microorganismos vivos que cuando son suministrados a través de la ruta digestiva favorecen la salud del hospedero.
11	Schrezenmeir y de Vrese (2001)	“una preparación de o un producto que contiene microorganismos viables, definidos en suficiente concentración para alterar la microflora (por implantación o colonización) en un compartimiento del hospedero y que ejercen efectos beneficiosos en la salud de hospedero”
12	Salminen (2002)	Ingrediente alimenticio microbiológico vivo que implica un beneficio para la salud y la nutrición del huésped
13	Hoa <i>et al</i> (2000) y Duc <i>et al</i> (2003).	Sustancias de carácter aditivo a las dietas. Incluso incluyen a los antibióticos producidos por los propios microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal entre las sustancias probióticas.
14	Vera (2005)	Microorganismos vivos, que al usarse como suplementos alimenticios en la cantidad suficiente, producen un beneficio en el estado de salud del consumidor

Además del término probiótico, se emplea actualmente en la literatura el termino prebiótico introducido por Gibson *et al.* (1995) quienes los definieron como: ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped por una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o limitado grupo de bacterias en el colon. Esta selectividad fue demostrada para bífido bacterias, la cual puede ser promovida por la ingestión de sustancias tales como fructooligosacaridos e inulina. (Anderson *et al.* 2001).

1.2- Utilización de probióticos.

La utilización de microorganismos probióticos se ha dirigido a dos áreas fundamentales: la salud y la alimentación humana, y la sanidad y producción animal. En el área de la sanidad humana se han detectado estudios que implican el papel de la microbiota intestinal en el mantenimiento de la salud basado en el efecto protector de estos microorganismos. (Smoraguiewicz *et al.*, 1993; Gruzza *et al.*, 1994; Fons, 1994; Bengmarck, 1998)(Citados por Rosmini *et al.*, 2004)

La tendencia actual a sostener el efecto beneficioso de la microflora por el uso de los probióticos y quizás en el futuro cercano por el uso de los inmunoestimulantes abrirá una nueva y próspera esperanza en el campo de la ciencia y la salud animal.

A partir de evaluaciones clínicas muchos investigadores plantean que determinados microorganismos con efecto probiótico muestran su efecto de salud a concentraciones altas de bacterias, en ocasiones el efecto es limitado y en otras el efecto no existe.

El empleo de los probióticos se ha asociado con los siguientes efectos benéficos potenciales: Mejoran la digestión de lactosa, reducen la inflamación intestinal, la flatulencia, reducen la incidencia de diarrea después del tratamiento con antibióticos, estimulan el sistema inmune, mejoran la resistencia a las infecciones, reducen la incidencia de reacciones alérgicas, protegen contra algunos tipos de cáncer, reducen los niveles de colesterol y la incidencia de enfermedades cardíacas, etc. (Salminen, 2002)

El equilibrio de la flora intestinal esta asociado al estado de salud, pues su oscilación afecta la susceptibilidad a infecciones, y/o la presencia de sustancias tóxicas o carcinogénicas. En la vida cotidiana este balance puede modificarse por factores diversos tales como, edad del individuo, dieta pobre, estado inmunológico, uso de antibióticos, estrés, consumo de alcohol, pH intestinal, y la presencia de fibra soluble no digerible en el intestino. Los materiales fermentables en el intestino regulan no solo, las especies de bacterias y su concentración, sino también su influencia y actividad metabólica. (Collins y Gibson, 1999).

La característica clave de las bacterias saludables es su habilidad para antagonizar bacterias no deseables, mediante la competencia nutricional, producción de metabolitos tóxicos (peróxidos, ácido láctico, etc.), absorción de minerales, estímulo del sistema inmunológico, o la síntesis de bacteriocinas.

El uso de probióticos tiene una serie de exigencias según la especie que se trabaje, debido a que las condiciones del sistema digestivo en los animales varía entre especies, por eso el uso de probióticos se hace selectivo al suministrársele al bovino, equino, ovino y aves diferenciándose del tipo de probiótico a utilizar en cada una de ellas. (Tartar y Vargaz, 1997).

En la ganadería se introduce la utilización de probióticos por primera vez por Richar Parker profesor de microbiología de la Facultad de Medicina de Potland durante los años 60, aunque este proceso bacteriológico ha tenido gran impacto a lo largo de la historia por el efecto terapéutico de las bacterias lácticas (Vilenchik, 1989). Estas proporcionan nutrientes digeribles y enzimas digestivas, además producen sustancias antibacterianas contra bacterias nocivas (Vignolo *et al.*, 1996; Tahara *et al.*, 1996).

Los microorganismos que constituyen los probióticos son principalmente bacterias capaces de producir ácido láctico, que son las más conocidas, pero también se incluyen bacterias no lácticas, levaduras y hongos (cuadro 2). Es importante destacar que ésta es una primera e importante diferencia entre monogástricos y rumiantes, en lo que se refiere a las posibilidades de utilización de los probióticos. Esto es debido a que los rumiantes son capaces de producir importantes cantidades de lactato y *Lactobacillus* en el retículo-rumen en condiciones naturales de acidez (raciones con elevado concentrado). Resulta así que uno de los puntos de mayor interés del empleo de probióticos en rumiantes es controlar la acumulación de lactato en el rumen, lo que se intenta conseguir por medio de la estimulación de los microorganismos utilizadores de lactato y estimuladores de la síntesis de propionato. En este papel, pocos probióticos han sido todavía estudiados en el caso específico de los rumiantes. A efectos prácticos los pre-rumiantes deberían

considerarse como monogástricos, aunque este concepto debe entenderse como temporal o funcional ocasional.

Cuadro 2: Microorganismos utilizados como probióticos en los animales y el hombre (R = especial interés en rumiantes) (Tomado de G Caja, 2003)

Microorganismos	Género	Especies
Bacterias lácticas no esporuladas (Gram +)	Lactobacilos (<i>Lactobacillus</i>)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosum</i> , <i>L. GG</i> , <i>L. delbrueckii bulgaricus</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. cellobiosus</i>
	Bífidobacterias (<i>Bifidobacterium</i>)	<i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilus</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. adolescents</i> , <i>B. animalis</i>
	Estreptococos (<i>Streptococcus</i>)	<i>S. thermophilus</i> , <i>S. lactis</i> , <i>S. cremoris</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. leuconostoc</i>
	Enterococos (<i>Enterococcus</i>)	<i>E. faecali</i> , <i>E. faecium</i>
	Lactococos (<i>Lactococcus</i>)	<i>L. lactis</i>
	Pediococos (<i>Pediococcus</i>)	<i>P. acidilactici</i>
	Leuconostoc (<i>Leuconostoc</i>)	<i>L. mesenteroides</i>
Bacterias lácticas esporuladas (Gram+)	Sporolactobacilos (<i>Sporolactobacillus</i>)	<i>S. inulinus</i>
Bacterias no Lácticas esporuladas	Bacilos (<i>Bacillus</i>)	<i>B. subtilis</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. cereus</i> (var. <i>toyoi</i>), <i>B. licheniformis</i> ,
	Bacterias propiónicas (<i>Propionibacterium</i>)	<i>P. freudenreichii</i>
Levaduras	Sacaromicetos (<i>Saccharomyces</i>)	<i>S. cerevisiae</i> (R), <i>S. Boulardii</i> (R)
Hongos	Aspergilos (<i>Aspergillus</i>)	<i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i> (R)

En general las especies utilizadas como probióticos son bacterias Gram +, mientras que las patógenas suelen corresponder a géneros Gram - (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*). Por otro lado, a efectos prácticos, las bacterias esporuladas resultarán

mas fáciles de manejar y resistentes a las condiciones industriales de fabricación de pienso.

La tabla anterior coincide con lo planteado por Guillot, (2000) quien relaciona como especies microbianas más utilizadas como probióticos en animales a las:

Bacterias Gram + : *L.acidophilus, farcimis, rhamnosus, reruteri, salivarius.*

E.faecium, mundtii

Pediococcus acidilacti.

B.cerus, licheniformis, subtilis.

S. cerevisiae.

La introducción de un probiótico es un evento no natural el cual actuara sobre las interacciones naturales y complejas de la flora microbiana. Los efectos globales positivos observados son mejores resultados zootécnicos en la ganancia de peso vivo y la conversión.

Los efectos positivos pueden ser el resultado de un efecto nutricional directo, similar al efecto obtenido con antibióticos, o un efecto sanitario o de salud donde el probiótico actúa como un biorregulador de la microflora intestinal y refuerza las defensas naturales del hospedero.

El objetivo principal de administrar probióticos es establecer una microbiota intestinal favorable antes de que los microorganismos productores de enfermedades puedan colonizar los intestinos.

Aunque existe controversia sobre los mecanismos de actuación de muchos de los probióticos, éstos trabajan fundamentalmente por competencia de exclusión e incluyen la:

- 1-Competición por los receptores que permiten la adhesión y colonización de la mucosa intestinal.

- 2- Competición por determinados nutrientes.

- 3- Producción de sustancias antimicrobianas.

- 4- Estimulación de la inmunidad de la mucosa y sistémica del hospedador.

Dentro de los microorganismos más utilizados como probióticos se encuentran las Levaduras (*Saccharomyces spp.*) han sido utilizadas en la alimentación animal, tanto en monogástricos como en rumiantes. Existe un relativo consenso de que las mejores respuestas en rumiantes se han observado en el caso de vacas lecheras, y los efectos reconocidos en estos se atribuyen al aumento de la celulólisis ruminal y del flujo de proteína microbiana al intestino (Newbold, 2003; Van Vuuren, 2003).

Según Salminen, 1996 (citado por Brizuela, 2003) la habilidad de adherirse a la mucosa intestinal es uno de los criterios más importantes para la selección de microorganismos probióticos ya que esta capacidad es considerada un requisito previo para la colonización.

La caracterización de la adherencia puede ser un importante método para evaluar la estructura de la superficie de las bacterias probióticas y los efectos de barrera del intestino relacionados con su acción. En varios estudios se ha demostrado que la adherencia está relacionada con la reducción de duración de diarrea, con la activación del sistema inmunológico, con la exclusión competitiva y con algunos otros efectos sobre la salud (Isolauri *et al.*, 1991, Saavedra *et al.*, 1994, Salminen *et al.*, 1996, Molin, *et al.*, 1996). La importancia de caracterizar esta propiedad radica en el hecho de que muchas cepas probióticas no colonizan a sus hospederos. De hecho, entre las cepas probióticas

más reportadas actualmente como disponibles, sólo *L. rhamnosus GG* permanece dentro del tracto gastrointestinal por un periodo significativo de tiempo.

Existen diferentes productos comerciales los cuales constituyen mezclas de microorganismos probióticos y anticuerpos de origen natural para la alimentación de Bovinos y Cerdos un ejemplo de esto lo constituye el Biofeed el cual es una mezcla de bacterias y anticuerpos de origen natural extraídos de huevos deshidratados benéficos para cerdos y animales bovinos. Está diseñado con el objeto de proporcionarle al animal una microflora adecuada y anticuerpos específicos contra los agentes patógenos predominantes en cada especie.

Los animales recién nacidos asimilan estos anticuerpos creando así una inmunidad pasiva inmediatamente. En animales más viejos, los anticuerpos desplazan a los agentes patógenos en el tracto intestinal, resultando así en una expulsión de dichos agentes a través del excremento. Generalmente, los animales necesitan una mínima cantidad de bacteria benigna (microflora) para absorber los nutrientes en el tracto intestinal y para producir las sustancias necesarias para una digestión normal y para la protección de sí mismo contra agentes patógenos predominantes.

Normalmente, cuando los agentes patógenos entran al tracto digestivo, tienden a competir con la microflora para ocupar la superficie intestinal interna (Exclusión Competitiva). Esto produce un desequilibrio en la microflora intestinal, reduciendo la presencia de ácido láctico que producen las bacterias. De esta manera, la bacteria benigna (microflora), ha sido reemplazada por los agentes patógenos predominantes, resultando así en una infección en el animal.

1.3- Funciones de los probióticos.

Dentro de las funciones atribuidas actualmente a los probióticos se pueden citar las siguientes (Según Havenaar y Huis int'veld, 1992 y Sainsbury, 1992,1993 y Fooks *et al*, 1999):

1. Efecto hipocolesterolémico.
2. Actividad antienzimática relacionada con los sistemas que producen o activan sustancias carcinógenas (efecto antitumoral).
3. Incrementan la utilización digestiva de los alimentos a través de sus propias enzimas.
4. Reducen la absorción de sustancias tóxicas como NH₃, aminos, indol, mercaptanos, y sulfitos.
5. Producen H₂O₂, previniendo la adhesión de las bacterias patógenas.
6. Protegen contra la biotransformación de las sales biliares en productos tóxicos y nocivos.
7. Son detoxificadores de los metabolitos perjudiciales de la flora.
8. Poseen una probada habilidad para promover el crecimiento y la productividad en la ganadería en forma perfectamente natural.
9. Los probióticos son considerados como biorreguladores nutricionales y realizadores del desarrollo y la salud animal.
10. Mejoran la actividad enzimática del huésped por la persistencia de un pH ácido en el TGI.

11. Los ácidos orgánicos actúan como agentes quelantes, mejorando así la absorción de minerales.

12. Los probióticos participan en la síntesis de vitaminas y en la predigestión de las proteínas.

Según la bibliografía especializada una de las principales diferencias entre los probióticos y los antibióticos es el lapso de tiempo en el cual su acción ocurre. Los antibióticos actúan inmediatamente, mientras que los efectos de los probióticos pueden durar varios días o semanas.

Otro efecto importante en el uso de los probióticos es el que ejercen sobre la calidad de los productos animales. Se ha comprobado que estos no contaminan los productos animales comestibles, por lo que no se altera la calidad de los mismos. Es importante conocer que el uso continuo de los probióticos puede reforzar la inmunidad no específica de los animales y consecuentemente los tratamientos infecciosos pueden ser reducidos (Nguyen, 1991).

Estimulación de la respuesta inmune:

Los probióticos juegan un papel muy importante en la respuesta inmunológica, siendo esta una de las funciones más importantes de dichos aditivos en la producción animal. Según Havenaar y Huis int'veld, (1992) y Sainsbury (1992,1993) estas funciones son:

1. Neutralización de toxinas bacterianas (principalmente de *E. coli*).
2. Prevención de la colonización de patógenos mediante la adhesión a la superficie intestinal, saturando los receptores en el epitelio y previniendo que los patógenos se unan a esos sitios.
3. Estimulación de la inmunidad mediante la activación de los macrófagos, niveles altos de inmunoglobulinas, estímulo de células inmunocompetentes, lo que favorece la diferenciación de células supresoras o estimuladoras y diferenciación de linfocitos. Ejemplo de esto, el consumo de yogur incrementa los niveles de λ -interferón y estimula el nivel de las células killer naturales. Asimismo, se ha comprobado que algunas cepas de *L. casei* pueden actuar como adyuvantes orales.

La microflora intestinal puede influir en el estado inmunológico del hospedero y a su vez éste puede ejercer control sobre la composición de la microflora (Kimura *et al.*, 1997; Pulverer *et al.*, 1997). La ingestión de probióticos específicos puede estimular la fagocitosis y las células inmunocompetentes del intestino asociadas al tejido linfoide, además de presentar propiedades adyuvantes. Por lo tanto una de las funciones más importantes de los probióticos podría ser la activación del sistema inmune (Wang *et al.*, 1995).

Los probióticos son capaces de producir anticuerpos o antimetabolitos. Esta clase de sustancias incluye: bacteriocinas, nisina, lactalina y destructores de toxinas (Polonelli y Morace, 1986; Gedek 1991; Avila *et al.*, 1995). Algunas cepas de *Bacillus licheniformis* producen un antibiótico en ratones que inhiben fuertemente el *Clostridium perfringens* (Konz *et al.*, 1997). Después de su establecimiento en el intestino este Bacilo establece una drástica barrera contra el *C. perfringens*. Sin embargo, después de la inoculación con otras cepas de *Lactobacillus*, el *B. licheniformis* cesa de producir el antibiótico. Por tanto en las mezclas de probióticos es necesario considerar estos aspectos de naturaleza biológica (Polonelli y Morace, 1986; Gedek, 1991).

Existen diferentes factores que se deben de tener en cuenta para seleccionar a los microorganismos probióticos y su empleo directo en las mezclas alimenticias.

Los productos probióticos no siempre se han evaluado correctamente en las difíciles condiciones de campo por lo que los resultados esperados no se han puesto de manifiesto y en muchos casos se han producido pérdida de confiabilidad en los mismos.

1.4-Criterios de selección de los probióticos

Entre las principales causas por las cuales un producto probiótico no puede ser efectivo se encuentran las siguientes (según Andrews, 1992):

- Inadecuada identificación y selección de los microorganismos.
- Producción de ácidos u otros antimicrobianos
- Falta de tolerancia a los ácidos y a la bilis.
- Supervivencia y colonización *in vivo*.
- Especificidad de la especie animal.
- Sitios de multiplicación.
- Actividad *in vivo* para la enfermedad.
- Actividad *in vivo* para la producción.
- Efecto de la dieta.

Según Gunther (1995) las sustancias probióticas deben poseer las siguientes demandas de calidad:

1. Especies microbianas específicas del hospedero.
2. Número mínimo de microbios por gramo de producto comercial.
3. Propiedades tecnológicas para una alta estabilidad por procedimientos especiales como el secado y el recubrimiento.
4. Habilidad de los microbios para adherirse a la mucosa del intestino y con un buen nivel de reproducción.
5. Secreción de sustancias bacteriostáticas y bactericidas por los microbios probióticos.
6. Efectividad óptima en un espectro de dosis definida.
7. Buenas propiedades para mezclarse en cualquier mezcla alimenticia.

Otro problema con la aplicación de los probióticos es aquel relacionado con la sensibilidad de los microbios vivos contra las altas temperaturas. Las formas vitales de microbios tales como Bacteroides y Bacilos son dañados por temperaturas más altas que los 60⁰C. Por lo tanto en los procesos tecnológicos de elaboración de alimentos para consumo animal tales como la peletización, expansión o extrudición, no se recomienda el uso de las mezclas alimenticias con probióticos como aditivos alimentarios con la excepción de productos con esporas. Tampoco se recomienda su uso con las premezclas minerales y elementos trazas. Algunas pérdidas de actividad pueden ocurrir probablemente sobre estas condiciones. La utilización de las nuevas tecnologías de revestimiento para proteger los microbios contra estas influencias dañinas, mejorara sustancialmente los efectos esperados de las mezclas probióticas.

De acuerdo a los aspectos analizados anteriormente se pudiera sugerir que un probiótico ideal es aquel que cumple con los siguientes requisitos (Según Andrews, 1992):

1. No puede ser patogénico a los animales y al hombre.
2. Tener alta tolerancia a la bilis y a los bajos niveles de acidez.
3. Producir ácido láctico durante la fermentación y otras sustancias.

4. Prolifera fácilmente *in vitro*.
5. Prolifera fácilmente *in vivo*.
6. Tener alto nivel de supervivencia después del pasaje a través de los distintos procesamientos.
7. Son viables a temperatura ambiente mientras están mezclados en el alimento
8. Carencia potencial para el apareamiento con organismos patógenos.

Junto a esto deben ser fácilmente identificables de los organismos patogénicos y también probablemente contener cepas definidas de organismos vivos o sus productos y ser indígenas al hospedero en particular. Esto requerirá dosis adicionales, probablemente a diario con los animales recibiendo una dieta apropiada para permitir la viabilidad y multiplicación del probiótico.

2- Características y aplicaciones de algunos microorganismos probióticos.

2.1- Las bacterias ácido lácticas como probióticos. Características.

Como se ha relacionado anteriormente las bacterias ácido lácticas (LAB) han sido una de las especies más utilizadas como probióticos. Aunque el uso de las LAB para la fermentación y preservación de alimentos y otros productos se reporta desde hace 4000 años, las bases científicas de su acción no han estado nunca muy bien esclarecidas. Sin embargo, en el pasado siglo, los avances logrados en el campo de la microbiología permitieron la selección de cepas con características específicas para la confección de productos fermentados y preparados probióticos de mayor calidad, así como, el perfeccionamiento y estandarización de métodos adecuados para el cultivo y producción a gran escala de estos microorganismos (Fil, 1992).

Agrupan un gran número de bacterias Gram positivas que poseen características fisiológicas y metabólicas comunes, pero a veces con poca homología en sus ácidos nucleicos. Su principal característica es la de poseer un metabolismo exclusivamente fermentativo con producciones importantes de ácido láctico a partir de la glucosa, acompañado de ciertas cantidades de otros metabolitos (etanol, CO₂ y otros ácidos orgánicos)

El grupo de las bacterias ácido lácticas comprende una gran variedad de géneros y especies, se clasifican atendiendo a que producen como producto final de su metabolismo ácido láctico. El grupo incluye a los *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Sporolactobacillus* y *Bifidobacterium*.

Tienen un metabolismo fermentativo estrictamente sacarolítico y de acuerdo a la producción de ácido se clasifican en homofermentativas y heterofermentativa. Las LAB homofermentativas estrictas producen fundamentalmente ácido láctico como producto principal (entre 70-80%) de su metabolismo, mientras que las heterofermentativas facultativas producen además ácido acético. Las que producen ácido acético, CO₂, y etanol con un 50% de producción de ácido láctico se clasifican como heterolácticas estrictas. Pueden producir diferentes isómeros ópticos del ácido láctico que incluyen la forma D, L, ó DL (Saloff-Coste, 1995).

Es importante señalar que tanto el tipo de ácido láctico producido como la ruta metabólica empleada son características distintivas de las diferentes especies, aunque las

condiciones medio ambientales pueden influir en el balance de los productos finales de la fermentación.

Un aspecto que caracteriza a las bacterias ácido lácticas es su amplio rango de temperatura óptima de crecimiento, que permite clasificarlas en mesofílicas y termofílicas. Las LAB clasificadas como mesofílicas presentan su mejor crecimiento a temperaturas entre 25-30°C, mientras las termofílicas tienen su mejor crecimiento entre 36-44°C, presentando estas últimas mayores velocidades de crecimiento (Salminen *et al.*, 1993).

Según De Roissart *et al.*, 1994, estas bacterias toleran moderadas concentraciones de acidez (pH entre 3 y 4) por varias semanas, sin sufrir grandes alteraciones en su viabilidad y fisiología. Sin embargo, valores de pH por debajo de estos pueden provocar afectaciones en sus características e inclusive hasta su muerte.

Su capacidad biosintética es débil por lo que tienen una elevada exigencia de suministro de ciertos factores de crecimiento como son: aminoácidos, bases nitrogenadas, ácidos grasos, vitaminas, etc. (Hammes, 1995, Cotaign-Bousquet *et al.*, 1995, Loubiereet *et al.*, 1997)

Muchas LAB son normalmente encontradas en la leche, la carne y diferentes vegetales, mientras que un gran número de géneros y especies forman parte de la flora normal del cuerpo humano (Saloff-Coste, 1994).

2.2- Características del género *Lactobacillus*:

Este género agrupa numerosas especies cuya heterogeneidad está dada por la variación en el % de bases C+G que va desde 32 a 53 %. La clasificación actualizada por Kandler y Weiss en 1986 las subdivide en tres grupos según el tipo de fermentación:

- Grupo I: Comprende las especies homofermentativas obligatorias, o sea las que producen mayoritariamente ácido láctico a partir de la glucosa. Son incapaces de fermentar las pentosas y los gluconatos. Este grupo está constituido por alrededor de 25 especies, la mayoría termofílicas (crecimiento a 45°C). Las especies más representativas dentro de este género son: *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus* y *Lb. helveticus*. La mayoría de estas especies se encuentran presentes en la leche y los productos lácteos, mientras que un gran número de ellas puede ser aislado del hombre y los animales (tracto digestivo, órganos genitales) y participan en el equilibrio de la microflora del organismo.
- Grupo II: Comprende las especies heterofermentativas facultativas, o sea aquellas capaces de utilizar la vía heterofermentativa en ciertas condiciones como puede ser una concentración de glucosa limitante. Está constituido por una veintena de especies donde las más representativas son *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* y *Lb. plantarum*, las cuales son mayoritariamente mesófilas. Son aisladas principalmente de los forrajes, los productos lácteos y los cárnicos.
- Grupo III: Comprende las especies heterofermentativas obligatorias, o sea aquellas que utilizan la vía de las pentosas fosfato para la fermentación de la hexosas y las pentosas. Es un grupo que reúne especies relativamente heterogéneas, sobre todo mesófilas como el *Lb. brevis*, *Lb. kefir* y *Lb.*

sanfrancisco. Además de estar presentes en los productos lácteos y cárnicos, ciertas especies se desarrollan en el tubo digestivo del hombre y participan en el equilibrio de la flora intestinal.

El interés que despierta este grupo de microorganismos debido a su amplia gama de propiedades y posibilidades de aplicación, ha conllevado a que su taxonomía sea cada día más estudiada e investigada (Schleifer, 1993).

2.3- Los *Lactobacillus* como probióticos:

Las cepas de *Lactobacillus* presentan altas potencialidades probióticas, son capaces de resistir a pH bajos, a concentraciones de bilis de 0.15 %, a altas concentraciones salinas y antibióticos y tienen una alta capacidad de recuperación después de la exposición a condiciones drásticas de temperatura y salinidad. (Brizuela *et al.* 1998).

Las bacterias ácido lácticas actúan también en el caso de patologías no tan habituales, protegiendo al organismo de los efectos secundarios de infecciones virales, bacterianas, fúngicas, aumentando la acidez por producción de ácido láctico lo cual provoca una disminución del pH intestinal creando condiciones desfavorables para el desarrollo de bacterias patógenas (Meller *et al.* 2000). Estas proporcionan nutrientes digeribles y enzimas digestivas, producen sustancias antibacteriana contra bacterias nocivas. (Vignolo *et al.*, 1996).

Dentro de las principales especies con actividad benéfica para el organismo se encuentran:

1. Los *Lactobacillus acidophylus*, que fermentan los azúcares hasta ácido láctico, acidificando el medio, siendo capaces de vivir en medios relativamente ácidos. Serían los eficaces guardianes de nuestro intestino delgado.
2. Las *bifidobacterias*, que de modo aún más eficaz que las anteriores producen diversas vitaminas del complejo B siendo una magnífica protectora de nuestro intestino grueso.
3. Los *Lactobacillus Bulgaricum* suelen ser bacterias viajeras transitorias que ayudan a las anteriores durante su paso por el sistema gastrointestinal.

El *L. Acidophylus* es capaz de producir varios tipos de antibióticos metabólicos, particularmente acidofilin, lactolin, y acidolin (Gerrero y Hoyos, 1991) y acidocin 8912 (Tahara *et al.* 1996). Otros *Lactobacillus* también producen sustancias antibacteriana como el bacteriocin (j46) por el *L. Ladis* (Barrera *et al.*, 1996) y la bacteriocina de *L. plantarum* (Olasupo, 1996). (Citados estos 3 últimos por Arzuaga, 2005).

Según Raibaud, 1992; Smoraguiewicz *et al.*, 1993 (Citado por Rosmini *et al.*, 2004) los lactobacilos son componentes normales de la microbiota normal del hombre y los animales, estos fueron identificados como responsables del control de las diarreas infantiles por Isolauri y col, 1991 (Citado por Rosmini *et al.*, 2004) y de la reducción del número de coliformes en el intestino de terneros por Ellinger y col. 1978 (Citado por Rosmini *et al.*, 2004), así como Collins y Carter en este mismo año determinaron que los microorganismos del género *lactobacillus* eran responsables del control de los efectos de los patógenos como *Salmonella* y *E. coli*.

En la actualidad está plenamente confirmado que la ingestión de *lactobacillus*, mejora la tolerancia a la lactosa y limita las colonizaciones en el intestino de patógenos, lo cual se puede traducir por un menor riesgo a desarrollar diarreas.

2.4-Las levaduras como probiótico en rumiantes.

Las levaduras son sin duda uno de los probióticos más utilizados en alimentación animal, tanto en monogástricos como en rumiantes, la especie más utilizada es *Saccharomyces spp.* Existe un relativo consenso de que las mejores respuestas en rumiantes se han observado en el caso de vacas lecheras, y los efectos reconocidos en rumiantes se atribuyen al aumento de la celulolisis ruminal y del flujo de proteína microbiana al intestino (Newbold, 2003; Van Vuuren, 2003).

Existen diferentes hipótesis acerca de los mecanismos de acción que emplean las levaduras para ejercer sus efectos en la digestión de los rumiantes (Howie, 1999). La mayor parte de las investigaciones dirigidas en este sentido, se han realizado con dietas con altos niveles de concentrado. Dentro de los mecanismos propuestos se encuentra el abastecimiento, por parte de las levaduras, de ácidos orgánicos o vitaminas que estimulan el crecimiento de bacterias y hongos (Nisbet y Martin, 1991; Martin y Nisbet, 1992; Chauchyras *et al.*, 1995 (a), Chauchyras y Fonty, 2001), y la producción de pequeños péptidos estimulantes (Dawson y Girard, 1997). (Citado por Marrero 2005)

Otros efectos que se encuentran, cuando se adicionan levaduras en dietas para rumiantes, se explican por la estimulación del crecimiento de *Selenomona ruminantium*. Esta bacteria consume lactato, lo que provoca una estabilización del pH en niveles cercanos a la neutralidad y favorece el crecimiento de las bacterias celulolíticas y por ende de sus acciones fermentativas, lo cual conlleva a un incremento del apetito y el consumo de materia seca.

Por otra parte, existen estudios que plantean que la inclusión de levaduras produce un reordenamiento del funcionamiento del rumen por la estimulación de las poblaciones acetogénicas que compiten con las metanogénicas por la utilización del hidrógeno (Chaucheyras *et al.*, 1995 (b)). La reducción de la actividad de las bacterias productoras de metano y una estimulación en la formación de los AGCC (Rader, 1999; García *et al.*, 2000) modifican el metabolismo de la energía glucosídica de la masa microbiana y consecuentemente de las proteínas digeribles (Anon, 1999). El uso de levaduras propone una opción para disminuir las grandes pérdidas económicas que por este concepto ocurren a nivel mundial, así como la contaminación ambiental que este gas provoca (Takahashi *et al.* 2002; Gamo *et al.*, 2002)

A las levaduras se les atribuyen además ciertas propiedades de control del pH del rumen, que ayuda a estabilizar, por lo que se recomiendan en raciones con mucho concentrado y riesgo de acidez, Este es el caso al inicio de la lactación, como consecuencia de cambio de ración, cuando es pequeñas la proporción de forraje y cuando la ración base la constituye el ensilado de maíz. Por otro lado, las levaduras pueden también considerarse como una fuente natural de vitaminas y ácidos orgánicos (en especial málico) para la población microbiana del rumen.

Según Cerchiari y Buratto (1989) las bacterias ácido lácticos presentes en el intestino de los animales tales como *Lactobacilus*, *Bifidobacterias*, y *Streptococcus* previenen los patógenos de la colonización intestinal compitiendo con ellos por nutrientes esenciales y sitios de adhesión y por la producción de ácidos orgánicos y otras sustancias que hacen el medio ambiente intestinal desfavorable a estas. La actividad de las bacterias ácido lácticas natural puede ser estimulada alimentando al animal con productos basados en

levaduras, las que contienen las enzimas y nutrientes que las bacterias necesitan. Según estos mismos autores esta posibilidad es considerada más promisoría que alimentando con los productos basados sólo en el empleo de las bacterias ácido lácticas, las cuales aun si sobreviven a los procesos industriales y la digestión gástrica y crecen lo suficientemente rápido en los intestinos, esto no es suficiente para que sea igual tal como ocurre con la flora natural óptima. Asimismo, otros autores plantean que la adición de levaduras a preparados probióticos formulados con *Lactobacillus* mejora la absorción de nutrientes por parte de estos microorganismos lo que provoca una alta formación de ácido láctico y un descenso en el pH intestinal, además de que se produce una estimulación del sistema inmunitario.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* ha demostrado ser muy útil en este tipo de mezclas de microorganismos con propiedades probióticas para reforzar el efecto esperado de tal producto o para obtener los propios beneficios derivados de su uso. Esta mezcla de bacterias ácido lácticas y levadura *S. cerevisiae*, así como otras sustancias como enzimas y ácidos orgánicos se conocen como las “mezclas probióticas” y se utiliza con éxito en sustitutos lecheros para terneros, cerditos, mezclas alimenticias para aves, vacas lecheras y cerdos (Gunther, 1995).

Otro ejemplo del empleo de productos con mezclas probióticas es el denominado YEASTURE, el cual está formulado a base de un cultivo de levadura *S.cerevisiae*, bacterias vivas de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, y *Bacillus*, así como por enzimas, constituyendo estos tres los promotores de crecimiento más importantes para el desarrollo del ganado bovino, porcino y de las aves. Las ventajas de este producto sobre el uso de los antibióticos radican en que no tiene efectos residuales y no causa mutaciones en los microorganismos, incidiendo de forma positiva sobre la protección del medio ambiente. El cultivo de levadura aumenta la proporción y calidad de la leche, así como el crecimiento del animal, mientras que las enzimas convierten los nutrientes indigeribles en nutrientes accesibles mejorando de esta forma la digestibilidad de los alimentos; por último, las bacterias vivas fundamentalmente las ácidas lácticas contribuyen a mantener el equilibrio de la flora intestinal y se favorece de esta forma la salud animal (Adachi, 1992).

Wu (1987), planteó que aunque la mayoría de los probióticos son bacterias, también es recomendable el uso de estos productos elaborados a partir de levaduras ya que se ha visto que las mismas juegan un rol importante en la producción. Estas aunque usualmente no son parte indígena del TGI, son capaces de crecer en este, principalmente al nivel de rumen y su modo de acción viene dado por un mejoramiento en la palatabilidad de la dieta junto con la producción de vitaminas del complejo B, aminoácidos esenciales, minerales quelatos, enzimas digestivas, acetatos y otras sustancias tales como lípidos, polipéptidos, glicolípidos, esteroides, y ergosterol.

2.5- *Bacillus* como Probióticos.

Como se ha mencionado anteriormente dentro de las especies de bacterias que se pueden utilizar como microorganismos con efecto probiótico podemos encontrar el género *Bacillus*, según Bortolozo (2002) los *Bacillus* en la actualidad son uno de los microorganismos más utilizados, los mismos son clasificados como transitorios del tracto gastrointestinal, pues no poseen la capacidad de adherirse al epitelio intestinal, su función es la de multiplicarse y favorecer la colonización de los *Lactobacillus* y

fortalecer el sistema inmune, a continuación haremos mención a determinadas características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de los mismos.

Las bacterias del género *Bacillus* según (Bergey's, 1957 y Jawets, 1996) microbiológicamente son consideradas como Gram positivas en general, aunque algunas especies presentan reacción negativa variable a esta técnica de tinción, tienen forma de bastoncillo, agrupadas en cadenas móviles y flagelación peritrica, formadoras de endosporas, son aerobias, anaerobias facultativas y aerotolerantes, no son adherentes, son productoras de sustancias antimicrobianas y producen enzimas hidrolasas, reacción positiva a la catalasa, hidroliza la gelatina, fermentan algunos azúcares y en ocasiones producen gas, usualmente descomponen las proteínas produciendo amonio, generalmente crecen a 37 ° C, la mayor parte son saprofitas que se encuentran comúnmente en el suelo e incluso en el conducto intestinal de los animales, en algunos alimentos, ciertos miembros de dicho género han adquirido importancia como productores de antibióticos y para la elaboración de productos biopreparados como aditivos en la alimentación animal y humana (Casula y Cutting, 2002,a).

Las bacterias de este género se agrupa en la familia *Baillaceae* y las especies tipos son: *Bacillus subtilis*, *licheniformis*, *cereus*, *megaterium*, *macerans*, *polymyxa*, *thuringiensis*, *pasterii*, *fastidiosus*, *sphaericus* y *anthracis*.

Según Anon (1998) La FDA y la AAFCO (Association of American Feed Control Officials) reconocen a las siguientes especies del género *Bacillus* como microorganismos GRAS: (generalmente reconocidos como seguros)

- *Bacillus coagulans*
- *Bacillus licheniformis*
- *Bacillus pumilis*
- *Bacillus subtilis*

La producción de endosporas es una característica típica de todas las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Estas son pequeñas estructuras ovoides o esféricas, en las que pueden transformarse estas bacterias y constituyen formas celulares muy resistentes al calor y al medio adverso. Su síntesis se produce frente a condiciones de limitación de nutrientes, agua y oxígeno y constituye un sistema de protección frente a condiciones ambientales adversas (Stanier, 1996).

Esta estructura puede reconocerse fácilmente al microscopio por su lugar intracelular de formación, su extremada refringencia y su resistencia a la tinción por colorantes básicos de anilina que tiñen, fácilmente, las células vegetativas. Normalmente, no se forman durante el crecimiento activo y la división; su diferenciación comienza cuando una población de células vegetativas sale de la fase de crecimiento exponencial a consecuencia de una limitación de nutrientes. Generalmente, se forma una endospora por cada célula vegetativa. La espora madura es liberada por lisis de la célula vegetativa en la que se ha desarrollado. Las endosporas libres no tienen metabolismo detectable pero mantienen durante años (a menudo décadas) su capacidad potencial de germinar y desarrollarse dando células vegetativas. Este estado de latencia total se conoce como criptobiosis.

La capacidad de originar endospora, que normalmente no es expresada durante el crecimiento vegetativo de una bacteria productora de esporas, constituye un proceso complejo de diferenciación que se inicia cuando la población acaba el crecimiento exponencial y se acerca a la fase estacionaria. El proceso conduce a la síntesis dentro de la mayoría de las células vegetativas, de un nuevo tipo de célula totalmente diferente de la célula madre (en estructura fina, composición química y propiedades fisiológicas). Después de su liberación de la célula madre, la endospora entra normalmente en un largo período de letargo; sin embargo, si se le somete a estímulos apropiados puede germinar y crecer dando una célula vegetativa típica (Stanier, 1996).

La estructura de las endosporas es compleja y posee varias capas que, del exterior al interior pueden nombrarse como: 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, constituidos por glucopéptidos y contenedor de las estructuras normales de la célula (Samaniego, 2003).

El proceso de formación de la endospora se ha venido estudiando extensivamente como un modelo simple y de ahí que se están usando esporas de *Bacillus subtilis* como probióticos (Errington, 1993).

Desde hace varios años se vienen usando la elaboración de probióticos a partir de cepas de *Bacillus* y sus endosporas, (Casula y Cutting, 2002b), demostró que las esporas de bacilo pueden germinar en el tractogastrointestinal usando ratones como modelo experimental.

Según Anon, 2000 las esporas de *Bacillus* junto con otras especies de bacterias (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus*) contribuyen a disminuir la acidez del intestino favoreciendo los procesos digestivos y el control del crecimiento de *Enterobacteriaceae*.

Jiraphocakul *et al* (1990) indican que esporas viables de *Bacillus subtilis* en el alimento son estables en la acidez gástrica y actúan contra patógenos específicos en el intestino como *E. coli*. Su empleo incrementa los *Lactobacillus* del tubo intestinal por lo que puede tener un efecto promotor del crecimiento.

El empleo de las bacterias del género *Bacillus* y sus esporas viene dado por su capacidad para la producción de enzimas. Estas además de mejorar la digestión en el hospedero, son capaces de inhibir el crecimiento microbiano de bacterias dañinas y las esporas estimulan el sistema inmune contribuyendo a la resistencia contra el desafío de patógenos ambientales (Anon, 1998a).

Andrews (1992) incluye dentro de los microorganismos con actividad probiótica a las bacterias del género *Bacillus* y menciona con este fin a las especies *B. licheniformis*, *B. subtilis* y *B. toyoi*. Una de las actividades probióticas deseadas en los microorganismos que se utilizan con este fin es la síntesis de sustancias antimicrobianas. Se ha demostrado la producción de un producto antibiótico en una cepa de *Bacillus subtilis* mediante el estudio de la inhibición de la colonización de *Clostridium perfringes* en el intestino de ratones gnotobioticos. Es probable que los *Bacillus* a su vez sean capaces de promover estas sustancias en otras especies presentes en el TGI.

Los procesos metabólicos y transformaciones microbianos utilizados en biotecnología se basa en la función de determinadas enzimas, más o menos específicas, para sus sustratos. Muchas reacciones biotecnológicas pueden llevarse acabo gracias a la ayuda de las

enzimas aisladas a partir de microorganismos o las propias enzimas que producen los microorganismos (Frost y Moss, 1997 y Jagnow y Dawid, 1991).

Dentro de las enzimas microbianas con interés industrial resaltan, las obtenidas a partir de cepas de *Bacillus*, debido a la bioseguridad que brindan estos microorganismos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas y glucosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos son absorbidos más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microflora intestinal balanceada Anon(1998).

Según la Ross Tech (1999) dentro de la actividad enzimática específica de algunas de las especies de *Bacillus* se citan: producción de proteasa, amilasa, β - glucanasa y otras enzimas, el *B. subtilis*, produce proteasa, amilasa y otras enzimas, el *B. licheniformis* y produce β - glucanasa la especie de *B. coagulans*.

En sentido general podemos decir que el empleo de bacillus en la dieta de los animales puede traer consigo muchos beneficios dentro de los cuales tenemos:

- Balance de la microflora intestinal.
- Mejora la ingestión de alimentos.
- Mejora la digestión y la eficacia de la alimentación
- Se obtienen mejores rendimientos productivos en los animales.
- Mejora la respuesta inmunológica de los animales.

Los microorganismos probióticos como se ha señalado anteriormente en muchos casos ejercen un efecto sobre los mecanismos inmunes, presentando también las esporas de *Bacillus* acción inmunomoduladora.

El término inmunidad tiene su origen en un vocablo romano que significa privilegio de exención o “estar libre” y hace referencia a la capacidad que poseen los seres vivos de no sufrir continuamente enfermedades que ocasionan la agresión de los microorganismos.

Los avances de la inmunología en los últimos años estuvieron encaminados al estudio y combate de las principales enfermedades infecciosas que asotaron a los hombres y animales durante siglos, hoy puede decirse que gracias a esta ciencia, la humanidad controla un gran número de enfermedades, e incluso algunas han sido eliminadas en muchos países. 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 varias enfermedades en los animales productivos.

Hoy se plantea la necesidad de que el hombre y los animales tengan un adecuado funcionamiento del sistema inmune para responder con fuerza a los desafíos estresantes de la vida moderna y las prácticas de crianza intensiva. El uso de los probióticos y de los inmunoestimulantes puede contribuir a cubrir estas necesidades y elevar así el bienestar y las expectativas de vida de los seres humanos.

Una de las funciones más reconocidas de los probióticos es su función como activadores del sistema inmune a través de:

- Prevención de la colonización de patógenos mediante la adhesión y bloqueo a la superficie intestinal, saturando los receptores en el epitelio y previniendo que los patógenos se unan a esos sitios (principio de exclusión competitiva o efecto de barrera).

- Producción de ácido láctico y AGCC los que disminuye el pH del TGI, inhibiendo o manteniendo el crecimiento y proliferación de las bacterias patógenas en bajos niveles, no dañinos para el hospedero.
- Producción de sustancias de acción bacteriostática conocidas como bacteriocinas las que son capaces de inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas (acidolina, reuterina, lactolina y acidofilina).
- Producción de peróxido de hidrógeno, esta sustancia es tóxica e inhibidora del metabolismo de las bacterias enteropatógenas.
- Disminución del potencial redox (se inhiben las bacterias que requieren O₂ para crecer. Ejemplo: *Salmonella* y *Shigella*, etc).
- Las bacterias probióticas, dado su gran número, compiten por nutrientes con las bacterias enteropatógenas, poniéndolas en desventaja desde el punto de vista de su crecimiento y proliferación.

Esta comprobado que no siempre los citados mecanismos de la primera barrera son todo lo efectivo que se desea como para impedir que estos no traspasen la mucosa intestinal y penetren en el organismos a través de la sangre o la linfa. Si esto ocurre, es decir, si las bacterias probióticas logran traspasar los mecanismos de la primera barrera defensiva del organismo se activarían la segunda y tercera barrera.(Sainsbury,1993; Havenaar y Huis Int Veld, 1994 y Fooks *et al*, 1999).

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

3- El tracto gastrointestinal del ternero.

Antes de nacer, el sistema gastrointestinal de los mamíferos incluyendo al hombre, está libre de gérmenes, y nuestra flora intestinal característica la adquirimos, del entorno reproductor materno, en el proceso de nacimiento y el trayecto de salida, completándose, después, con la primera alimentación materna. (CAC, 1997).

Es importante señalar que cada especie animal presenta una composición microbiana intestinal distinta y específica, además de que la densidad de esta varía en las diferentes zonas del tubo digestivo.

La composición y el metabolismo de la microflora intestinal afecta el desarrollo de los animales de granja de muchas maneras, especialmente en aquellos sujetos a estrés ambiental.

En sentido general una vez establecida la microbiota gastrointestinal normal esta está compuesta por dos grupos:

- 1- Microbiota indígena.
- 2- Microbiota transitoria.

La flora indígena la cual es establecida después del nacimiento y compuesta por microorganismos que habitan en todos los integrantes de esa comunidad., interactúa con los sistemas digestivo e inmune del hospedero y sus actividades pueden ser tanto dañinas como beneficiosas. La colonización de las diferentes partes del tracto por bacterias comensales específicas, ya sea por asociación al mucus o adhesión a la superficie o células epiteliales, sirve de primera barrera de defensa contra microorganismos invasores o sustancias tóxicas presentes en la dieta.

La microbiota transitoria está formada por microorganismos no siempre presentes en todos los individuos de la comunidad. Pueden provenir del agua, los alimentos pero solo utilizan el TGI de forma temporal. (Tannock, 1995; Berg, 1996)

Al colonizarse el TGI de los animales, este se protege de forma natural por la microbiota indígena que lo coloniza a partir del momento de su nacimiento, se adapta al ambiente y dificulta la colonización del lumen por otros microorganismos, en especial por patógenos. (Ziemer y Gibson, 1998)(Citados por Rosmini, 2004). Este mecanismo ha sido probado por numerosos trabajos de investigación que demuestran la susceptibilidad de animales libres de microorganismos a las enfermedades intestinales como consecuencia de la acción de bacterias patógenas.

En los animales saludables cada parte del intestino es colonizado por una microflora típica, la cual se encuentra en un estado de balance denominado eubiosis, lo que le permite crecer en una simbiosis beneficiosa con el hospedero. Caracterizan a este estado eubiótico tres tipos de microflora.

- flora primaria: representada por las bacterias ácido lácticas principalmente y bacterias que producen ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC). Ambas representan alrededor del 90% del total de la flora.
- flora secundaria: está compuesta de enterococos y *E. coli*, representan menos del 1% en el estado eubiótico.
- flora remanente: está compuesta por bacterias tales como clostridios, estafilococos, géneros de hongos y especies proteus que ocupan menos del 0.01% del total de la flora.

Cualquier cambio del balance a favor de la flora secundaria o remanente, principalmente en la primera parte del intestino delgado, significa el paso a un estado desbalanceado denominado disbiótico. Cuando esto sucede, se alcanza una etapa crítica porque incrementa la formación de toxinas y sustancias tóxicas para el organismo por parte de estas bacterias, la pared intestinal se ve sometida a un gran estrés y esto trae consigo una pobre conversión del alimento, reducción en el crecimiento y por lo tanto poco desarrollo.

Según Pascual *et al.*, 1996 y Kurzak *et al.*, 1998 (Citados por Rosmini, 2004) del tuvo digestivo de terneros criados en condiciones artificiales se han aislado en mayores cantidades *Pediococcus acidilactis*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Con excepción de *L. farciminis*, estos microorganismos han sido reportados en otras especies animales.

3.1- Los microorganismos del aparato digestivo del Bovino. Su origen.

Como es conocido el tracto digestivo de los rumiantes se encuentra altamente poblado por microorganismos de las especies bacterias, protozoos, hongos, bacteriófagos y ocasionalmente, levaduras. Estos mantienen estrechas inter- relaciones entre sí, tanto sinérgicas como mutualistas, encontrándose estos en mayores proporciones en el Rumen.

En los sistemas de cría intensiva el animal se encuentra en condiciones estresantes y desde temprana edad son separados de la madre, siendo estos factores que provocan un estado de disbiósis en el tracto gastrointestinal que favorece el aumento de microorganismos patógenos (Collins y Gibson 1999).

Existen diversas fuentes de procedencia de los microorganismos del Tracto gastro intestinal (TGI) y el rumen de los bovinos ya que como se ha expresado anteriormente los animales si nacen sanos están estériles. Es precisamente su contacto con el medio ambiente a través del aire y los alimentos (Calostro) que se introduce los primeros microorganismos y estos van a ir estableciendo la actividad fermentativa del rumen a medida que el animal crece hasta alcanzar grandes volúmenes constituyéndose un medio especializado para la actividad microbiana.

Los microorganismos constituyen las fuentes principales que proporcionan la flora bacteriana. Grandes números de géneros aerobios facultativos y algunos esporógenos se introducen en el rumen. En la superficie de los alimentos tanto del heno, concentrados, forrajes etc. se encuentran millones de microorganismos que al llegar al rumen se adapta a las buenas condiciones mediante procesos de selección y utilización de mecanismos enzimáticos.

Es un factor importante en el establecimiento de determinados géneros el tipo de dieta siendo necesario para cambiar la misma hacerlo de forma paulatina y evitar afectaciones sensibles a la flora microbiana. Hay autores que plantean que la relación inversa entre los ciliados y los lacto bacilos siendo estos últimos estimulados por la dieta rica en concentrados y la primera en los forrajes. Existen dietas a bases de forrajes para terneros que ayudan a establecer los microorganismos característicos de los rumiantes adultos. (Palencia 2005)

La forma más rápida de establecimiento microbiano con una mayor diversidad de protozoo es sin dudas la inoculación procedente de otros animales puesto que los animales jóvenes criados en aislamiento carecen de protozoarios del rumen.

Como se ha referido anteriormente los bovinos como los demás animales nacen estériles y adquieren la flora normal a medida de su contacto con el medio ambiente, de ahí que en ella encontramos varias enterobacterias siendo representativo de ella la *E.coli*, también encontramos los *Enterococcus*, *Bacillus esporulados*, *Clostridium perringens*, esta población pequeña se debe a la acción de la bilis, en el yeyuno e ilion existe la misma microflora que en el duodeno pero más abundante que la microflora normal del intestino grueso. Aquí la microflora es sumamente abundante ya que el pH y las condiciones del sustrato permiten el crecimiento y desarrollo de muchos microorganismos estando fundamentalmente los que se encuentran en la primera parte del aparato digestivo.

4- Uso de probióticos en terneros y otras categorías bovinas.

Desde hace mucho tiempo la crianza de terneros se ha convertido en una ocupación muy especializada, y no hay dudas de que continuará esta tendencia, ya que como animal de reemplazo constituye el eslabón fundamental o primario en el desarrollo de la masa ganadera bovina. Los terneros como todos los mamíferos jóvenes nacen preparados para recibir una dieta a base de leche hasta que pasa a la fase de adultez o rumiantes, por lo que se hace necesario que consuma alimentos fibrosos lo más temprano posible para que tenga un buen desarrollo en sus cuatro compartimentos estomacales (Plaza *et al.*, 1986; Citado por Palencia 2005)

El fin productivo de la crianza de los terneros es el crecimiento y desarrollo que va desde su nacimiento hasta su adultez, el cual debe de alcanzar pleno desarrollo óseo, muscular, enzimático, digestivo, reproductivo, en fin es necesario un crecimiento gradual y armónico de todos sus sistemas. El calostro, después del nacimiento llena todas las exigencias alimenticias tanto en principios inmediatos como en vitaminas. Además es muy rico en defensas protectoras de infecciones. Esta protección es muy necesaria porque el ternero el primer día de nacido no dispone todavía de anticuerpos, y muy especialmente le falta las globulinas que es vehículo transportador de sustancias defensivas, por tales motivos los terneros que consumen calostro son más resistentes a las infecciones bacterianas y virales (Chongo *et al.*, 1985).

El uso de probióticos en la ganadería ha demostrado ventajas innumerables, ya que disminuye el costo de alimentación, aumentando la capacidad de asimilación de proteínas, energía y minerales. (Tartar *et al.*, 1997).

Las perspectivas de las bacterias prebióticas contribuyen al diseño de tratamientos a bases de estos microorganismos el cual tienen gran importancia por las aplicaciones en el manejo, lo preventivo, terapéutico y productivo en la crianza del ternero

Como se ha expresado con anterioridad la crianza de terneros constituye uno de los más importantes elementos en la producción ganadera tanto en Cuba como en el mundo, constituyendo esta un punto de partida en los distintos propósitos, tanto para la producción de leche como para la producción de carne.

Según Knudsen (2000) la administración de probiótico en terneros promueve el crecimiento como también reduce las muertes y debilidades causadas por situaciones estresantes.

La aplicación de los *Lactobacillus* por vía oral tiene efectos terapéuticos antes determinadas bacterias nocivas (Armuzi *et al.*, 2001). Varios autores han demostrado el efecto antagónico de los *Lactobacillus* frente a toxinas de *Escherichia coli* (Gopal *et al.*, 2001).

Otros autores plantean que las mayores incidencias de muertes en terneros son debido a las enfermedades entéricas y que estas pueden ser evitadas o disminuidas con el uso de la leche fermentada (Chongo *et al.*, 1985). Plaza (1986) señala que el valor de la leche de vaca es ampliamente conocida, pero se ha demostrado que cuando se introducen en ellas microorganismos específicos, los elementos formadores enriquecen las propiedades naturales de la misma y confieren al producto mejores cualidades dietéticas y medicinales.

Dentro de los productos que se pueden suministrar a los terneros como efecto probiótico se encuentra el Yogur frecuentemente recomendado después de tratamientos con

antibióticos, pues su consumo ayuda a recobrar la flora microbiana intestinal que es destruida por estos medicamentos.(Haller, 2000; Donnet, 1999).

El yogur contiene dos bacterias lácticas, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, que ayudan a poblar el intestino y protegen a infecciones gastrointestinales. (Saavedra *et al.*1994; Szajewska *et al.*, 2001) Estas bacterias son muy importantes durante el período neonatal. Su existencia favorece el desarrollo del sistema inmunológico sistémico y la tolerancia oral a los alérgenos, ejerciendo una acción de continuada sobre las defensas del organismo.(Kalliomaki *et al.*, 2001; Majamaa e Isolaurii, 1997) y mejora el papel enzimático de la digestión.(Deamen *et al.*, 1982)

La utilización de este producto (Yogur) en cantidad y frecuencia en la alimentación de los terneros proporciona ventajas en el peso vivo sobre lo que consumen leche fresca. Su consumo sistemático aporta al organismo bacterias que favorecen los procesos digestivos y contrarrestan el desarrollo de los agentes patógenos. (Dodd *et al.*, 1999). Además se ha observado que la absorción del calcio y magnesio en el intestino se ve incrementadas hasta un 65%.(Salminen *et al.*, 1998). Cuando las bacterias benéficas transforman la lactosa en ácido láctico, este funciona como un antiséptico del sistema digestivo y a su vez facilita la absorción del calcio, zinc, hierro y fósforo contenidos en la leche. (Knudsen, 2000).

El *Lactobacillus bulgaricus* el cual se puede encontrar en el yogur es capaz de prevenir enteropatías, se desarrollan bien en el intestino y evita la proliferación de bacterias nocivas como las colibacilosis. Ha sido señalado que la utilización de la leche fermentada en la alimentación de los terneros disminuye el costo por kg de aumento de peso vivo en un 10% comparado con los que consumen leche fresca (Dodd *et al.*, 1999)

La aplicación de bacterias lácticas benéficas a terneros a partir del primer día de nacido han permitido reducir la aparición de disturbios digestivos en el aparato gastrointestinal (Fuller y Gibsen 1997). Se ha manifestado disminución de la incidencia de diarreas en los terneros con tratamientos con *lactobacillus* (Owen *et al.*, 1987). El efecto beneficioso en la flora intestinal normal está determinado por la exclusión competitiva de los microorganismos potencialmente patógenos, la producción de nutrientes y vitaminas.

La *Echerichia coli* es una bacteria causante de diarreas en los terneros en los primeros días de nacidos sin embargo la utilización de probiótico permite su inhibición inmediatamente.(Mack *et al.* 1999; Guandalini *et al.*, 2000).

Se ha considerado que el concepto de probiótico para el tratamiento de la diarrea aguda y crónica es muy importante, demostrándose que algunos son muy efectivos, aportando ventajas costo –beneficio en los tratamientos. (Gardiner *et al.*, 2000).

Recientemente un amplio equipo de investigación holandés compuesto por científicos de la universidad y de la industria de la alimentación, usó un rango de especies del *Lactobacillus* para comparar su eficacia como promotores de crecimiento y la eficiencia alimentaria en general que esta tendría en los terneros.

Dichos investigadores realizaron una innovadora aproximación que buscaba contrastar el rendimiento de los terneros alimentados con microorganismos vivos provenientes de aditivos alimentarios de muy diversas fuentes – “un probiótico multi-especie” (MSPB) conteniendo diferentes especies probióticas de origen humano, y un “probiótico específico de ternero” (CSPB) conteniendo seis *Lactobacillus spp* aislados de heces de terneros y seleccionados sobre la base de una combinación de características. En una serie de experimentos con terneros de una semana de edad evaluaron la influencia de

estos microorganismos vivos o probióticos sobre los parámetros de crecimiento y de salud.

Compararon los suplementos líquidos del MSPB y del CSPB administrados en sustitutos lácteos diariamente en ambos casos bajo un sistema de producción “todo dentro, todo fuera” agrupados como un sistema de producción de “flujo continuo”. Los períodos experimentales estuvieron en el rango de los 1-15 días y 1-56 días.

Cuando los datos para los cuatro experimentos fueron obtenidos, se pudo ver que los probióticos elevaron la tasa de crecimiento durante las primeras semanas de producción.

Durante el período experimental de 8 semanas, la ganancia diaria promedio y la eficiencia alimentaria fueron significativamente mejor en los grupos tratados con probióticos.

El incremento inducido por MSPB en la ganancia de peso fue mayor cuando los terneros del grupo control fueron considerados menos saludables basados en una puntuación de salud, el cual consistía en un índice de frecuencia de diarrea y tratamientos terapéuticos. También, el tratamiento probiótico tendió a reducir mortalidad en los terneros. (Anon. 2006) Estos mismos investigadores correlacionaron las enfermedades respiratorias y digestivas con el uso de probióticos encontrando que el tratamiento terapéutico con antibióticos fue intensivo en los terneros del grupo control, los probióticos vía sustituto lácteo redujeron el porcentaje de becerros que requirieron terapia y el número de tratamientos necesitados en contra de ambas enfermedades digestivas y respiratorias.

La correlación de uso de microorganismos vivos en un alimento de consumo directo, con la reducción en la terapia de antibiótica contra enfermedades respiratorias ya había sido observada en medicina humana; sin embargo, este tipo de resultados en terneros no han sido reportados anteriormente.

En muchas de las tecnologías de producción de los terneros estos son separados de sus madres, lo cual limita su ingestión de flora intestinal potencialmente protectora, luego son transportados alguna distancia, mayormente mezclados con otros terneros, y algunas veces inadecuadamente alimentados. Se ha comprobado que la diarrea es la causa principal de morbilidad y mortalidad en las fases tempranas de la vida del ternero y que el primer pico de enfermedades respiratorias generalmente emerge a las 4 semanas de vida, causando pérdidas económicas sustanciales debido a medicación y al retraso en el crecimiento. Según Anon. 2006 esto puede estar dado por la disminución del consumo de leche, la pérdida de la función de barrera del intestino, y posiblemente el deterioro de la función inmune, planteándose que durante los eventos de stress, el *Lactobacillus* protectoro tiende a decrecer mientras que los coliformes patógenos tienden a aumentar lo que se puede corregir con el uso de preparados probióticos a base de *Lactobacillus spp.*

Milerman y col, 1980 plantean que los disacáridos u oligosacáridos, como la sacarosa, no son digeridos en los primeros días de vida por las enzimas intestinales de los terneros lactantes, pero si son aprovechados por los *Lactobacillus sp* y *Bifidobacterias* del TGI como recurso energético favoreciendo su desarrollo. Sin embargo patógenos como *E. coli* y *Salmonella* no pueden utilizar estos azúcares como nutrientes. La manosa reduce la adherencia y por lo tanto participa en el proceso de competencia.

Conclusiones:

El uso de antibióticos a pesar de ser efectivo en algunos tratamientos, ha provocado problemas tales como: afectación de la microbiota intestinal, predisposición a infecciones y aumento de cepas resistentes. Ante esta situación los probióticos constituyen una alternativa para evita enfermedades y desordenes intestinales.

Los aditivos probióticos son productos elaborados con microorganismos o sustancias que son capaces de ejercer su acción a través de un mejoramiento en el balance del TGI de las diferentes especies animal.

Son diversos los microorganismos que presentan actividad prebiótica destacándose entre estos:

Bacterias lácticas no esporuladas: con especial interés en el género *Lactobacillus*.

Bacterias esporuladas no lácticas: especial interés el genero *Bacillus*.

Bacterias lácticas esporuladas (Gram+)

Hongos: de interés *Aspergillus sp*

Levaduras: de interés *Saccharomyces sp*.

El uso de aditivos probióticos en rumiantes específicamente en terneros influye positivamente sobre parámetros fisiológicos, inmunológicos, y productivos.

Se hace necesario continuar profundizando en el empleo de los probióticos en las diferentes especies así como continuar profundizando en la aplicación de estos en los rumiantes específicamente en los animales jóvenes que aún no han logrado el completo desarrollo ruminal.

Bibliografía:

- Adachi S. (1992). In: The Lactic Acid Bacteria. Vol.1. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. (Wood, B. J. B. ed) pp: 233-262. Elsevier.
- Anderson, H, Asp N-G, Bruce A, Ross S, Wadstrom T, Wold AE 2001. Health effects of probiotic and prebiotic: A literature review on human studies. Scand J Nutr, 45:58-75.
- Andrews, A. 1992. Probiotics and other prophylactic agents. Occasional publication. No. 1 British Society of Animal Production.
- Andrews, A. . 1992(a). Probiotics and other prophylactic agents. Neonatal survival and growth. Ocaasional Publication. N^o 15. British Society of Animal Production.
- Andrews.A. 1992(b). Probiotics and other prophylactic agents. Ocasional Publication N^o 2. British Society of Animal Production. *Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers*. Lelystad.
- Anon, 1998 (a). Residues and Reassurance. International Pig Topic. (7): 1-10.
- Anon, 1998. CHR Hansen. Byo System. The World`s microbial experts. Probios: Disponible en: www.chrhansen.com En línea (mayo 1998), Consultado: Diciembre 2006.
- Anon, 2000. Antibióticos y otros promotores del crecimiento. Industria Avícola. Julio : 14-18.
- Anon. 2006. Sustitutos lácteos para terneros con especies de lactobacillus de fuentes diferentes. Disponible en: www.cuencarural.com/ganadería/bovinos/ . En línea: 22 septiembre 2006. Consultado: Enero 2007.

- Anon. 1999. BIOSAF Sc47 Referencias técnicas y económicas Eurotec nutrition, S.L.-c/ Uruguay, 31- 1ª 28016. Madrid. España.
- Armstrong, D. G. 1986. Gut active growth promoters. En: Control and manipulation of animal growth. Editado por: P. J. Buttery, D. Lindsay y N. B. Haynes. Butterworths, London, pp 21-37.
- Armuzzi, A; Cremonini, F; Bartolozzi, F 2001. The effect of oral administration of lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during Helicobacter pylori eradication therapy. Alimen pharmacol ther , 15(2):163-169.
- Arzuaga, A. 2005. La cepa del yogur como probiótico, una alternativa en la salud y mejora del ternero. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, Vol. VI, nº 09, Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> . En línea: 2005. Consultado: Enero 2007.
- Barrera , G. ;Hort C, E. 1996 It the manje mode of a bacterias(J46) Produced by lactobacillus lactics subsperamariss J4J. Of food protection 59, 559.
- Bengmarck, S. 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic microbiota . Gut 42, 2-7.
- Bengmark S. 1999. Gut microenvironment and immune function. To Current Opinion. February: 20-27.
- Bengmark, S.- 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic biota. Gut, 42: 2-7.
- Berg, R. D. 1996. The indigenous gastrointestinal microbiota. Trends in microbiology 4, 11, 430 – 435.
- Bergey's, R. 1957. Manual of determinative bacteriology. 7 ed, p 1094.
- Bortolozo, F; kira, K. K. 2002. Probióticos. Uso de los probióticos en la alimentación de pollos de ceba. File://A:/ probióticos 10. Htm.pp:1-
- Brizuela Herrada, María Antonia.; Pérez, Yovanka 1998. Mecanismo de acción de los probióticos. ACPA.2, Vol.17. p: 53-55.
- Brizuela Herrada, María Antonia. 2003. Selección de cepas de Bacterias Ácido Lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en Cerdos. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. ICIDCA. La Habana Cuba.
- CAC. 1997. General requirements (Food Hygiene). Supplement to vol. 1. B. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.
- Calzadilla Dodd, D.; Soto Márquez, Esteban; Hernández R., Marcelino, *et al.* 1999. Ganadería Tropical. Editorial Felix Varela. La Habana. Cuba. 383p.
- Casula, G., ; Cutting, S. M. .2002(a). *Bacillus* probiotics: spore germination in the gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 68: 2344-2352
- Casula, G; Cutting, S. M.. 2002(b). *Bacillus* Probiotics: Spore Germination in the Gastrointestinal tract. Applied and Environmental Microbiology. Vol.68 No.5, 2344-2352
- Cerchiari E., Buratto L. 1989. Microflora intestinale e produzione zootecnica. Obrettivi e Documenti Veterinari 10(11):19-24.Italia.
- Chaucheyras, F.; Fonty, G. ; Bertin, G. ; Gouet, P. 1995 (a). Effects of live *Saccharomyces cerevisiae* cells on zoospore germination, growth, and cellulolytic activity of the rumen anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis* MCH 3. Curr. Micro. 31, 201.

- Chaucheyras, F.; Fonty, G. ; Bertin, G. ; Gouet, P. 1995 (b). In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an Archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *S.cerevisiae*. *Applied and Env Microb*, sept, p 3466-3467.
- Chaucheyras, F.; Fonty,G. 2001. Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *S. cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod Nutr Dev*. 41:1, 57-68.
- Chongo, Bertha; Marrero, Dolores; Zamora, A. ; García, R. 1985 Avances en la crianza de terneras y novillas. Mesa Redonda. Evento científico 20 Aniversario del ICA. Rumiantes. Octubre p-13.
- Coccagn- Bousquet, M.; Garrigues, C; Novak, L.; Lindley, ND; Loubiere, P. 1995. "Rational development of a simple synthetic medium for the sustained growth of *Lactococcus lactis*". *Journal Appl Bacteriol*, 79, 108 – 116.
- Collins, F. M.; Carter, P. B. 1998. Grow of *Salmonellae* in orally infected germfree mice . *Infection and immunity* 21, 41-47.
- Collins, M.D. y Gibson, G.R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 69:1052S.
- Dawson, K.A. y Girard, I.D. 1997. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast preparations on ruminal bacteria. In: *Biotechnology in the Feed Industry*, ed T.P. Lyons & K.A. Jacques, Nottingham University Press, Nottingham, UK. p 293.
- Deamen, ALH; Van Der Stege, HJ. 1982 The destruction of enzymes and bacteria during spray drying of milk and whey. 2. The effects of the drying process. *Neth Milk and Dairy J*, 36: 211-229.
- Donnet-Huges, A; Rochat, F; Serrant, P. 1999 Modulation of non specific mechanisms of defence by lactic acid bacteria : Effective dose. *J Dairy Sci*, 82: 863-869.
- Duc le H; Hong, H.A; Cutting S.M. 2003. Germination of the spore in the gastrointestinal tract provides a novel route for heterologous antigen delivery: Vaccine. *Oct. 1: 21 (27-30): 4215-4224.*
- Ellinger, D. K.; Muller, L. D.; Glantz, P. J. 1998. Influence of Feeding fermented colostrum and *Lactobacillus acidophilus* on faecal microbiota selected blood parameters of young dairy calves. *Journal of Dairy Science* 61. (Suppl. 1), 119 – 122.
- Errington, J.1993. El sporulation de *subtilis* de bacilo: la regulación de expresión del gemy mando de morphogenesis. *Microbiol. Rev.*57:1-33
- Fil, L. 1992. " New Technologies for fermented milks". *Bul int Dairy Fed*, 277, 40p.
- Fons, M. 1994. Resistance to colonization. En : *Actes du Colloques Lactis 94, Les bacteries lactiques*. Caen Francia. Pp 7 – 9.
- Fooks, Laura; Fuller, R; Gibson, G, 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal* 9: 53-61.
- Frost, G. M. and Moss, D.A.1997. "Production of Enzymes by Fermentation ", Chapter 3 in *Biotechnology . Vol 7a*, pp 333 Ed. by H.J. Rehm. VCH Verlagsgassells chaft, weinheim
- Fuller, R. 1989 Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 66: 365-378.

- Fuller, R; Gibsen, GR 1997. Modification intestinal of microflora using probiotics and probiotics 222; 1 p 19-20.
- G. Caja, E; González, C; Flores, M.; D. Carro y E. Albanell. 2003. alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: Probióticos, Enzimas y Ácidos orgánicos. XIX curso de especialización FEEDNA. Madrid. 23 y 24 de octubre.
- Gamo, Y.; Koyama, A.; Zhou, X.; Chetra, S.; Santoso, B.; Kobayashi, T.; Shiozaki, S.; Mwenya, B.; Arai, I.; Mizukoshi, H.; Kimura, K.; Takahashi, J.; Ong, H.K.; Zulkifli, I. ; Tee, T.P.; Liang, J.B. 2002. Effects of monensin, nisin, probiotics and/or beta 1-4 galacto-oligosaccharide on in vitro rumen methane production. Global perspective in livestock waste management Proceedings of the Fourth International Livestock-Waste Management. Symposium and Technology Expo, Penang, Malaysia,19-23 May. 5, 161-163.
- García, C.G.; Mendoza, M.G.D.; Gonzalez, M.S.; Cobos, P.M.; Ortega, C.M.E.; Ramírez, L.R. 2000. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. Anim. Fd. Sci. Tech. 83, 165-170.
- Gardiner, G; Heinemann, C; Madrenas, J. 2001 The oral administration of the probiotic combination *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. Fermentum* RC-14 for human intestinal applications. Int Dairy J (in press). J Nutr, 125: 1401-1412.
- Gedek B. 1991. Regulation of the intestinal flora through food. Zbl. Hyg. 191: 272-301. Public Works and Government Services Canada. Traslation Services. Multilingual Translation.
- Gerrero, R; Hoyos, G. 1991. Utilización de los probióticos en pollos alimentados con dietas contaminadas con aflatoxinas. Bacteriología en la industria de la alimentación animal. Vol 2. P:108.
- Gibson, GR; Roberfroit, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the conceptof probiotics. Br J Nutr, 125:11401-12.
- Gopal, PK; Prasad, J; Smart, J;Gill, HS. 2001 In vitro adherence properties of *Lactobacillus rahnmosus* DR20 and *bifidobacterium lactic* DR10 strains and their antagonistic activity against and enterotoxigenic *Escherichia Coli*. In food Microbiol 67(3):207-216.
- Gruzza, M.; Fons, M.; Ouriet, M.F.; Duval-Iflah, y.; Ducluzeau, R. 1994. Microbial releases 2, 183 – 189.
- Guandalini, S; Pensabene, J; Lzikri, MA 2000 *Lactobacillus* GG administered fermentation. J. Dairy Sci. 75, 1736.
- Guillot, J. F. 2000. The pros and cons of probiotics. Make probiotics work for poultry. World Poultry 16 (7): 18-21.
- Guillot, J. F.(2000). The pross and cons of probiotics. Make probiotics work for poultry. World Poultry 16(7):18-21.
- Gunther, K. 1995. The role of Probiotics as feed additives in animal nutrition. Department of Animal Physiology and Animal Nutrition. Gottingen, Germany.
- Haller, D. 2000 Activation of human peripheral blood mononuclear calls by non pathogenic bacteria in vitro evidence of NK cells as primary targets. Infect inmun 68(2): 752-759.

- Hammes, WP. ; Vogel, RF. 1995. "The genus lactobacillus" En: The Lactic Acid Bacteria. Vol. 2. The Genera of Lactic Acid Bacteria, Chapter 3. B.J.B. Wood and W. H. Holzapfel (Ed). Blackie Academia, London, pp. 19 – 54.
- Havenaar R. y Huis in't Veld J. 1992. In the Lactic Acid Bacteria: Vol. 1. The Lactic Acid Bacteria in Health and disease (Wood B. J. b. ed.) pp. 151-170.
- Havenaar, R, Huis In't Veld MJH.1992(a). Probiotics: a general view. In:Lactic acid bacteria in health and disease. Vol 1. Amsterdam: Elsevier Applied Science Publishers.
- Hoa, NT; Baccigalupi, L; Huxham, A; Smertenko, A; Van, PH; Ammendola, S; Ricca, E; Cutting AS. 2000. Characterization of Bacillus species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. Applied Environ. Microbiol.Dec., 66 (12): 5241-5247.
- Howie, M. 1999. Mode of action needed for yeast, although benefits have been shown. Feedstuffs. 71: 42, 10. Disponible en: <http://edición-micro.usual.es/web/educativo/micro2/tema05.html>. y en : <http://edición-micro.usual.es/web/educativo/micro2/tema07.html>. En línea: Julio. Consultado: Diciembre 2006.
- Isolauri, E, Juutunen, M, Rautanen, T, Sillanaukee, P, Koivula, T. (1991). A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. Pediatrics:88:90–97.
- Isolauri, E; Juntunen, M.; Rautanen, T.; Sillanaukee, P; Koivula, T. 1991. Human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus* GG) promotes recovery from acute diarrhoea in Children. Pediatrics 88. 90-97.
- Jagnow, G. David, W. 1991. Productos del metabolismo microbiano utilizados para la síntesis química y combustible. P.77-113. En Biotecnología. Editorial S.A Zragoza. España
- Jawets. 1996. Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno.15 .Edición.pp:834-835
- Jiraphocakul, S; Sullivan, W. T; Shahani, M, K. 1990. Influence of dried B. Subtilis culture and antibiotics as performance and intestinal microflora in turkey. Poultry Science 69: 1966-1973.
- Kahrs, D. 1991. Improving the health and performance of sows and piglets with Toyocerin. En: aries of seminar lectures: Antibacterials y Bacteria. Control and prevention of disease. Their growth promotion. Hanover, Germany.
- Kalliomaki, M; Salminen, S; Arvilommi, H. 2001 Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo – controlled trail. Lancet, 357: 1076-1079.
- Kandler, O; Weiss, N. 1986. In *Bergey's Manual f Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams & Wilkins (eds), Baltimore, pp 1208-1234.
- Kimura K., McCartney A., McConell M. y Tannock, 1997. Analysis of fecal populations of bifidobacteria and lactobacilli and investigation of the immunological response of their human hosts to predominant strains. Ross Tech. Boletín Técnico 99/37
- Knudsen, H. 2000 Los Probióticos. Pardo Suizo Marketing, Associao brasileira de Criadores de Ganado Pardo Suizo. P 1- 23.

- Kong D., Klens A., Schorgendorfer K. y Marahiel M. 1997. The bacitracin biosynthesis operon of *B. licheniformis* ATCC 10716: molecular characterization of three multi-modular peptide synthetases. *Chem. Biol.* 4 (12): 927-937.
- Kurzak, P.; Ehrmann, M. A.; Vogel, R. 1998. Diversity of lactic acid bacteria associated with ducks. *Systematic Applied Microbiology* 21. 588 – 592.
- Laiho, K; Hoppu, U; Ouwehand, a, C; Salminen, S y Isolauri, E.2002. Probiotics: ongoing Research on atopic individuals. *British Journal of Nutrition* 88: 19-27).
- Lilly DM, Stillwell RH. (1965). Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms *Science*:147:747-8
- Linton,A. H.; Hedges, A. J.; Bennel, B. M.. 1988. Monitoring of resistance during the use of anquinox as a feed additive on commercial pig farms. *J Appl. Bact*, 64, 311 – 320.
- Loubiere, P; Cocaign- Bousquet, M; Matos, J; Goma, G; Lindley, ND. 1997. “Influence of end products inhibition and nutrient limitations on the growth of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*”. *Journal Appl Microbiol* 82, 95 – 100.
- Lyons, P. 1997. Opinión los hombres de negocio. *Avicultura Profesional*. 15 (7):22.
- Mack, DR; Michael, S; Wei, S 1999 Probiotic inhibit enteropathogenic *E coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* , 276:941-50.
- Majamaa, H; Isalouri, E 1997. Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 99:179-85.
- Marrero Rodríguez; Yoandra. 2005. Las levaduras como mejoradoras de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba.
- Martin, S.A. y Nisbet, D.J. 1992. Effect of direct-fed microbials on rumen microbial lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 69, 4628.
- Mattila-Sandholm, T.; Mättö, J.; Saarela, M. 1999. Lactic acid bacteria with health claims- interactions and interference with gastrointestinal flora. *Int. Dairy Journal* 9, 25-35.
- Meller, Carla; C., Jorge 2000. Los probióticos y la salud. Disponible en: <http://www.Caprove.com.ar/páginas/varias/probiotic.htm/> en línea: julio 2000. Consultado: Enero 2007.
- Milerman, D.; Altman, G.;Eshdat , Y. 1980. Screening of bacteria isolates for mannose specific lectin activity by agglutination of yeast. *Journal of Clinical Microbiology* 11, 328 – 332.
- Molin, G; Ahrné, S; Johansson, ML. 1996. “Comparative evaluation of plasmid profiling and ribotyping in the analysis of *Lactobacillus plantarum* strain heterogeneity in silage”. *J Appl Bacteriol*, 80 (1), 114 – 116.
- Mulder, R. 1991. Probiotics as a tool against *Salmonella* contamination. *World Poultry*, 7(3), pp 33-37.
- Mulder, R. 1996 .Probiotics and Competitive Exclusion Microflora Against *Salmonella*. *World Poultry. Special. Salmonella*. May, pp. 30-32.
- Newbold, C.J. 2003 En: International One-Day Seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers. Lelystad.

- Nguyen T. 1991. Probiotics a nutritional bioregulator. *World Poultry*. 7(2): 37.
- Nisbet, D.J. y Martin S.A. 1991. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* culture on in oral rehydration solution in children with acute diarrhoea: A multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 30: 54-60.
- Olasupo, N. A. 1996 Bacteriocin of *L. palntarum* strain from fermented food. *Folin microbiología*. 41, 155 2p:130-136.
- Owen f., O. ; Larson, L.L 1987. La adición de *Lactobacillus* reduce las incidencias de diarreas en terneros de razas lecheras *Rev. Información Express* p:44- 54.
- Palencia Socarras, S.; Céspedes Argote, Leopoldina; Nuviola Perez, Yordanis; Reyes Heredia, Inaudis; Miravet Rodríguez, R.; Vallejo Magallanes, O.; Rodríguez Ceballo, Y.; Soto Agüero, V.; Blanco Arzuaga, A. 2005. La cepa del yogur como probiotico, una alternativa en la salud y mejora del ternero. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. Vol. VI, n° 09, Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html> . En línea: Septiembre 2005. Consultada: Enero 2007.
- Parker, DS; Armstrong, D. G. 1987. Antibiotic feed additives and livestock production. *Proc Nutr Soc*, 46, pp 415 – 422.
- Parker, RB. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*; 29:4–8.
- Pascual, M.; Garriga, M.; Monfort, J. M. 1996. Los probióticos en la alimentación animal. *Eurocarne*. 44, 91 – 96.
- Perdigon, G., Agüero G., Alvarez S. Gaudioso L. y De-Ruiz A. 1995. Effect of viable *Lactobacillus casei* feeding on the immunity of the mucosae and intestinal microflora malnourished mice. *Milchwissenschaft* 50 (5): 251-256.
- Plaza, J; Abreu, Margarita; Fernández, Eunice. 1986. Efecto de la cantidad y forma de suministros de la leche en el comportamiento de los terneros. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*. Vol 20,no 1: 15-18.
- Polonelli L.y Morace G. 1986. *J. Clin. Microbiol.* 24:866.
- Pulverer G., Lioe K. y Beuth J. 1997. Microflora-associated defense stimulating factors. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 228(3): 107-111.
- Rader, V. 1999. Influence of the yeast culture (Yea-Sacc-1026) on the rumen metabolism in sheep. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 5: 4, 663- 668.
- Raibaud, P.1992. Bacterial interaction in the gut. En: *Probiotics: ScientificsBasic*, R. Fuller Ed Chapman y Hall, Londres, p 9-28.
- Rosmini, M. R.; Sequeiro, J. G.; 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* año/vol. 3. Número 002. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Distrito Federal, México. P 181-191.
- Saavedra, JM, Bauman, N, Oung, I, Perman, J, Yolken, R. 1994 Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet*: 344:1046–1049.
- Sainsbury D. 1992. Protecting Against Stress. *Probiotics Boots Natural Resistance*. *World Poultry*. 8(10): 59-61.
- Sainsbury D. 1993. Protecting against stress. *Probiotics boots natural resistance*. *Pigs*. January/February, pag. 32.

- Salminen S, MK; Järvinen, A; Saxelin M 1998. Increasing consumption of lactobacillus GG as probiotic and the incidence diarrhoea.Espania. edit Acribia p30 .
- Salminen, S 2002. Nuevo concepto de probióticos. Disponible en: www.probioticos.com.ar. En línea: mayo 2002. Consultado: Diciembre 2006.
- Salminen, S, Laine, M, von Wright, A, Vuopio-Varkila, J, 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. *Biosci Microflora*:15:61–7.
- Salminen, S; Deighton, MA; Gorbach, SL. 1993 Lactic acid bacteria in health and disease. In: Salminen S, von Wright A, eds. *Lactic acid bacteria*. New York: Marcel Dekker Inc.:199–225.
- Saloff-Coste C. 1995. Fermented milks: effects on the immune system. *Danone World Newsletter*;;9:2-8
- Saloff-Coste, C. 1994. “Lactic Acid Bacteria”. *Danone World Newsletter*, 5, 2 – 6.
- Samaniego, L. M 2003. Diplomado de probióticos. Microbiología del Tracto Gastrointestinal. Conferencia. “Universidad de Matanzas”.
- Schaafsma, G. 1996 State of art concerning probiotic strains in milk products.*IDF Nutr News Lett*;5:23–4.
- Schleifer, KM. 1993. “The Lactic Acid Bacteria”. En: *The genera of lactic Acid Bacteria*. Vol. 1. Wood BJB, Holzapel WH (eds). Elsevier, London – New Cork. Pp. 10 – 43.
- Schrezenmeir, J., de Vrese, M. (2001) Probiotics, Prebiotics,, and Synbiotics—approaching a definición. *Am J. Clin. Nutr.*:73(suppl):361S–4S.
- Smoraguiewiez, W.; Bieleka, M.; Babuchowski, A.; Dubeau, H. 1993. Les probiotiques. *Canadian Journal of microbiology* 39, 1089 – 1095.
- Sperti, GS.(1971). *Probiotics*. West Point, CT: Avi Publishing Co.
- Stanier, R, S. 1996. *Microbiología*. Barcelona. Editorial Revert. 2 ed, 750 p
- Stanier, R, S. 1996. *Microbiología*. Barcelona. Editorial Revert. 2 ed, 750 p
- Szajewska, H; Kotowska, M; Mrukowicz, JZ. 2001 Efficacy of lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhoea in infantis. *J Pediatr*, 138(3):361-365.
- Tahara, T; Kavetani, K 1996 Insolation partial colonization and made of action of acidocin js 229 a bacteriocin produced by lactobacillus jcm 1229. *LAppl Bacteral* 81: 16. 669- 677.
- Takahashi, J.; Mii, M.; Gamo, Y.; Kimura, K.; Umetsu, K.; Kishimoto, T.; Arai, I.; Ong, H.K.; Zulkifli, I.; Tee,T.P.; Liang, J.B. 2002. Nutritional options for abatement of methane emission from farm animals.Global perspective in livestock waste management. *Proceedings of the Fourth International Livestock Waste Management.Symposium and Technology.Expo*, Penang,Malaysia,19-23-May- 2002, 149-155.
- Tannock, G. W. 1995. Microecology of the gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria. *International Dairy journal* 5, 1059 -1070.
- Tartar, G; Vargas, I. M 1997. La biotecnología en la ganadería. *RV. Normando Colombiano* 25, 7-9.
- Vambelle, M.; Teller, E.; Focant, M.. 1990. Probiotics in animal nutrition. *Arch Anim Nutr Berlin*. 4(7).

- Van Eys, J. y Den Hartog, L. 2003 En: *International One-Day Seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers*. Lelystad.
- Van Vuuren, A.M. 2003 En: *International One-Day Seminar: Role of Probiotics in Animal Nutrition and their Link to the Demands of European Consumers*. Lelystad.
- Vera Solís, F.M. 2005. Aplicaciones de Prebióticos y Probióticos. Disponible en: <http://www.alfaeditores.com/carnilac/Agosto%20Septiembre%2005/TECNOLOGIA%20Aplicacion.htm> En línea: Septiembre 2005. Consultado: Octubre 2006.
- Vignolo, G; Fadders; Dekainz. MN; de Ruiz Holgado A.A. ;Oliver G. 1996 Control of listeria monocytogenes in ground beef by lactocin 705, a bacteriocin produced by lactobacillus casei CRL 705.29: 2-3, p 399-402.
- Vilenchik. 1989. Fundamentos biológicos del envejecimiento y la longevidad. Editorial M. Moscú p 259-273.
- Wang X., Ma G., Zheng B. y Tiam H. 1995. Effects of SL-probiotic preparation on the body weight and phagocytosis of white mice. *Wei Sheng Wu Hsueh Pao*. 35(6):455-459.
- Wu J. 1987. The Microbiologist Function in Developing Action Specific Microorganisms in: *Biotechnology in the Feed Industry*. pp 181-187. Ed. Alltech Technical Publication, Kentucky.
- Ziemer, Ch. J.; Gibson, G. R. 1998. An overview of probiotics, probiotics and symbiotics in the functional food concepts: perspectives and future strategies. . *International Dairy journal* 8, 473 – 479.