

EFFECTO DE LACTOBACILOS PROBIÓTICOS EN LA REDUCCIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS EN EL TRACTO DIGESTIVO DE POLLOS.

Dra Ana J. Rondón¹, Dra Grethel Milián Florido, Dra Luz M. Samaniego, Dr. Ramón Bocourt Salabarría², Ing. Marta Laurencio Silva¹, Ing. Marvelys Socorro¹, Dr. Manuel Pérez Quintana¹

*1. Universidad de Matanzas, Carretera Vía Blanca a Varadero Km 3.5 . CP: 40100.
Matanzas, Cuba*

2. Instituto de Ciencia Animal. Apartado 24, San José de Las Lajas, La Habana, Cuba.

Resumen.

Los microorganismos patógenos son fuente de grandes pérdidas en la producción avícola, además de los problemas de salud que trae consigo la contaminación de productos avícolas destinados al consumo humano. Durante años se utilizaron los antibióticos como aditivos para contrarrestar los efectos de los microorganismos patogénicos; sin embargo, éste uso indiscriminado contribuyó a la generación de genes de resistencia, los cuales se han transmitido a bacterias patógenas del hombre y los animales. Como alternativa al uso de los antimicrobianos se han evaluado los probióticos, cultivos de microorganismos vivos que mejoran el estado fisiológico y la salud de los animales. En el presente trabajo se exponen los principales efectos y mecanismos de los probióticos compuestos por lactobacilos, frente a la colonización de microorganismos patógenos en pollos.

Palabras claves: Probióticos, actividad antimicrobiana, microorganismos del tracto gastrointestinal, aves, bacteriocinas.

Introducción

En Cuba, las principales afecciones patológicas de la avicultura desde hace varios años son: las enterobacteriosis y la enfermedad de Gumboro. El programa y esquema de inmunización en vigor constituye un factor determinante para la prevención y control de la mayoría de las principales enfermedades que afectan a la avicultura nacional. No obstante, para algunas enfermedades, cuyo control no es posible solamente con métodos inmunoprolácticos se han elaborado programas complejos más específicos en los cuales se combinan medidas de profilaxis general y específicas, métodos de diagnóstico y de vigilancia epizootológica, así como se establecen las estrategias generales para su enfrentamiento (Trujillo, 2003).

Algunas instituciones científicas cubanas tienen dentro de sus objetivos de trabajo el desarrollo de tecnologías económicamente viables para la obtención de cultivos probióticos que disminuyan la incidencia de microorganismos patógenos, productores de las enterobacteriosis en aves.

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

Entre los microorganismos que más se utilizan como Probióticos se encuentran las bacterias ácido lácticas (BAL), específicamente los del género *Lactobacillus*, los cuales se caracterizan por producir diferentes sustancias que inhiben a los microorganismos patógenos. Estos últimos poseen la capacidad de adherirse a la mucosa intestinal de los

animales y causar enfermedades entéricas (Edelman et al., 2003 y Ma et al., 2004). En tal sentido se desarrolla el presente trabajo que tiene como objetivo analizar los resultados del empleo de lactobacilos probióticos en la disminución de los agentes causales de enfermedades en pollos.

Las bacterias ácido lácticas. Género *Lactobacillus*

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

Los lactobacilos se caracterizan por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos y comúnmente forman cadenas. Entre las principales vías metabólicas que utilizan están: la fermentación para las hexosas o de Embden-Meyerhof, donde se convierte 1 mol de hexosa en 2 moles de ácido láctico por fermentación homoláctica y la vía del 6-fosfogluconato, cuyo resultado es 1 mol de CO₂, 1 mol de etanol (o de ácido acético) y 1 mol de ácido láctico, por fermentación heteroláctica.

Los lactobacilos desarrollan actividad antimicrobiana a partir de diferentes mecanismos los cuales se detallan a continuación:

Producción de sustancias antimicrobianas

Las BAL homo y hetero-fermentativas producen ácidos orgánicos, los cuales disminuyen el pH del intestino y previenen la colonización por bacterias indeseables que no proliferan ante tal efecto (Van der Wielen et al., 2000, Forestier et al., 2001 y Nazef et al., 2008).

Las BAL se caracterizan por la producción de ácido láctico a niveles elevados (Kandler y Weiss, 1986 y Garrity et al., 2004). Apuntes bibliográficos refieren que las BAL, específicamente las bacterias homofermentativas se emplean como Probióticos, ya que éstas presentan un predominio en la producción de ácido láctico. Este ácido es altamente palatable e incide directamente en la eliminación de bacterias indeseables a nivel del tracto gastrointestinal (Mendoza, 2001).

Además de ácidos, las BAL producen otros compuestos como el peróxido de hidrógeno, que inhibe a las bacterias patógenas por su fuerte efecto oxidante, mediante la peroxidación de los lípidos de la membrana y la destrucción de la estructura básica molecular de proteínas celulares (Price y Lee, 1970 y Stanier et al., 1996). Por otra parte, un aspecto que cobra gran importancia en la actualidad en la actividad antimicrobiana, es la producción de bacteriocinas (Aymerich et al., 2000 y Powell et al., 2007).

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

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

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

Adherencia a los sitios de colonización de patógenos

La capacidad de adherencia de las bacterias al epitelio del tracto digestivo involucra diferentes mecanismos, entre los que se destaca la presencia de adhesinas en la superficie de las células bacterianas. Las adhesinas son mayoritariamente proteínas, que pueden unirse a los carbohidratos que se encuentran en el glicocalix de las células epiteliales. Estos carbohidratos funcionan como sitios receptores o sitios de anclaje para las bacterias (Savage, 1992).

Las bacterias Gram-negativas como *E. coli* utilizan las fimbrias para adherirse a las células dianas, pero en el caso específico de los lactobacilos, la adherencia puede deberse a la producción de sustancias extracelulares que contienen polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos lipóicos, las cuales, en su conjunto, poseen una alta hidrofobicidad (Gusils et al., 2003).

La capa de mucina que recubre el intestino es el sitio donde ocurre, en un alto nivel, la adhesión de las bacterias, fundamentalmente *Lactobacillus* (Fuller 1989). Jonsson et al. (2001) demostraron *in vitro* que la presencia de mucina en un medio de crecimiento estimuló la propiedad de aglutinación de diferentes cepas de *Lactobacillus reuteri*. En contraste, en el TGI pueden presentarse bacterias (enteropatógenas) que producen enzimas (glicosidasas y glicosulfatasas) que degradan la mucina (Variyam y Hoskins, 1981 y Deplancke et al., 2002).

Estimulación del sistema inmune

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

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

Según Edens (2003) los probióticos estimulan la respuesta inmune en las aves, ya que incrementan la producción de inmunoglobulinas (IgA, IgM, e IgG), la fagocitosis y la producción de citoquinas y también promueven la generación de linfocitos T, las células natural killer, CD3, CD4 y CD8.

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

Efecto de cultivos Probióticos frente a microorganismos patógenos en pollos

Los microorganismos que residen en el TGI interactúan con el animal hospedero. Esta microbiota varía con la especie animal, el sitio del TGI donde se aloja, la edad del animal, la dieta que éste recibe y el ambiente. Los animales saludables mantienen una población microbiana balanceada, lo que se corresponde con el estado eubiótico del ecosistema gastrointestinal. Se conoce que esta condición se relaciona estrechamente con la productividad y la salud de los animales (Yeo y Kim, 1997 y Patterson y Burkholder, 2003).

El establecimiento de la población microbiana en el tracto digestivo de las aves se inicia inmediatamente después del nacimiento y los diferentes microorganismos colonizadores son sensibles a cambios que puedan ocurrir en el TGI del hospedero, por lo que en éste deben existir factores adecuados de pH, temperatura, nutrientes y fluidos esenciales. Con la llegada de los microorganismos conjuntamente con los alimentos, se inician procesos metabólicos de gran importancia para el animal (Jernigan et al., 1985).

La disminución de los coliformes en el contenido intestinal se corresponde con el aumento de los AGCC y del ácido láctico en el ciego; también interviene aquí, la colonización y proliferación de los lactobacilos que se adicionan en el TGI de los pollos, los que provocan la exclusión competitiva frente a otros microorganismos de la microbiota normal o microorganismos patógenos. Rada et al. (1995) comprobaron que, cuando *Lactobacillus salivarius* se administra en el alimento en dosis de 10^6 UFC g⁻¹, las células manifiestan una buena colonización del intestino y ciegos en los pollos de engorde.

La actividad inhibitoria de las bacteriocinas frente a diferentes microorganismos patógenos se demostró por Bradley et al. (2005), quienes comprobaron la producción de una bacteriocina por *Lactobacillus plantarum*, que impide el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* y *Pseudomonas aeruginosa*. Lima (2003) también informó la inhibición de *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* y *Listeria monocytogenes* por bacteriocinas que produjeron cepas de *Lactobacillus* aisladas de ciegos e intestino de pollos.

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

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

Zacconi et al. (1999) comprobaron in vivo que la cepa de *Lactobacillus salivarius* A23 fue capaz de colonizar y adherirse a la mucosa intestinal de pollos y se demostró por estos mismos autores, que esta cepa predominó sobre otros grupos bacterianos, al influir positivamente en la población de lactobacilos, y negativamente en el grupo coliformes en el intestino. Los resultados de la evaluación in vivo del presente trabajo corroboraron estos antecedentes, ya que con la adición de los cultivos de *Lactobacillus salivarius*, desde los primeros días de vida de las aves, se produjo un balance microbiano a favor de bacterias beneficiosas como los lactobacilos en el ciego y una disminución notable a este nivel de los coliformes, grupo reconocido como indicador de las enterobacteriaceas.

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

Fukata et al. (1991) informaron una baja mortalidad en pollos de engorde, cuando éstos se inocularon con *L. acidophilus* o *Streptococcus faecalis* y además se desafiaron con *Clostridium perfringens*. Estos investigadores observaron una supresión en la producción

de α -toxina al cultivar el contenido intestinal de los pollos en mezcla con *C. perfringens*. Por otra parte, Hofacre et al. (2003) observaron que, cuando se aplicó un cultivo de BAL en pollos al primer día de edad, se redujeron las lesiones por enteritis necrótica y la mortalidad, debido a la enfermedad, disminuyó significativamente de 60 a 30 %.

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

Los lactobacilos también pueden mostrar actividad antagónica frente a infecciones parasitarias. Al respecto, se demostró in vivo la reducción de *Cryptosporidium parvum* (Alak et al. 1999 y Waters et al. 1999) y *Giardia lamblia* (Singer y Nash 2000) cuando se aplicaron aditivos probióticos con estas bacterias a pollos. Otros estudios revelaron que especies de *Lactobacillus* aisladas del TGI de pollos fueron capaces de inhibir in vitro a *Eimeria tenella*, causante de la coccidiosis en las aves (Bautista, 2003 y Tierney et al., 2004).

Conclusiones

Si se provee a los animales de cepas de *Lactobacillus* autóctonas del TGI mediante el uso de probióticos desde las primeras horas del nacimiento de las aves, estas bacterias colonizarán la mucosa intestinal y la protegerán de forma natural contra el crecimiento de otros microorganismos, especialmente de aquellos que son dañinos o indeseables.

Bibliografía

- Alak, J.I., Wolf, B.W., Mdurvwa, E.G., Pimentel-Smith, G.E., Kolavala, S., Abdelrahman, H. & Suppiramaniam, V. 1999. Supplementation with *Lactobacillus reuteri* or *L. acidophilus* reduced intestinal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cell. Molecul. Biol.* 45: 855–863
- Aymerich, T., Artigas, M.G., Monfort, J.M. & Hugas, M. 2000. Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* 88:686-694
- Bautista, C.R., Arriola, M.T., Trejo, L., Rodríguez, O.I. & Rojas, E, 2003. Comparación entre el efecto de *Lactobacillus casei* y el de una vacuna comercial en pollos contra la coccidiosis. *Rev. Técnica Pecuaria de México* 41 (3):317-327
- Bradley, W.L., Mysliwiec, T.H. & Gourama, H. 2005. Detection and partial characterization of a broad-range bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014). *Food Microbiol.* 22:199-204
- Chikindas, M.L., García-Garcera, M.J., Driesessen, A.J.M., Ledebøer, A.M. Nissen-Mejer, J., Nes, I.F., Abee, T., Konings, W.N. & Venema, G. 1993. PediocinPA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:3577-3584
- Collins, J.K., Thornton, G. & Sullivan, G.O. 1998. Selection of probiotic strains for human applications. *Internat. Dairy J.* 8:487-490
- Deplancke, B., Vidal, O., Ganessunker, D., Donovan, S.M., Mackie, R.I. & Gaskins, H.R. 2002. Selective growth of mucolytic bacteria including *Clostridium perfringens* in a neonatal piglet model of total parenteral nutrition. *Amer. J. Clin. Nutr.* 76:1117-1125
- Edelman, S., Leskela, S., Ron, E., Apajalahti, J. & Korhonen, T.K. 2003. In vitro adhesion of an avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain to surfaces of the chicken intestinal tract and ileal mucus. *Vet. Microbiol.* 91:41-56
- Edens, F.W. 2003. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. *Rev. Bras. Ciência Avícola* 5:1-40
- Eijssink, V.G.H., Axelsson, L., Diep, D.B.L., Havarstein, S., Holo, H. & Nes, I.F. 2002. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria, an example of biological warfare and communication. *Antonie Leeuwenhoek* 81:639-654
- Forestier, C., Champs, C.D., Vatoux, C. & Joly, B. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res. Microbiol.* 152:167-173
- Fukata, T., Hadate, Y., Baba, E. & Arakawa, A. 1991. Influence of bacteria on *Clostridium perfringens* infections in young chickens. *Avian Disease* 35: 224-227
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. *J. Appl. Bacteriol.* 66 (5):365-378

- Garrity, G.M., Bell, J.A. & Liburn, T.G. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Release 5. P.190-195. <<http://141.150.157.80/bergeysoutline>> [Consultado Abril 2007]
- Gedek, B. 1991. Regulation of the intestinal flora through food. Zbl. Hyg. 191: 272-301. Public Works and Government Services Canada. Translation Services. Multilingual Translation
- González, B.E., Gómez, M. & Jiménez, Z. 2003. Bacteriocinas de probióticos. Rev. Salud Pública y Nutrición 4 (2):1-6
- Guarner, F. & Malagelada J. R. 2003. Gut flora in health and disease. Lancet 360:512-519
- Gusils, C., Opezzo, O., Pizarro, R. & Gonzalez, S. 2003. Adhesion of probiotic lactobacilli to chick intestinal mucus. Can. J. Microbiol. 49:472-478
- Hamman, L., El-Samalouti, V., Turner, A. J., Flad, H. D. & Rietschel, E.Th. 1998. Components of gut bacteria as immunomodulators. Intern. J. Food Microbiol. 41:141-154
- Hedouin, V., Neut, C., Lescut, D., Rambaud, J. & Colombel, J. 1995. Bacterial translocation of endogenous bacteria. Gastroenterol. Clin. Biolog. 19:393-401
- Higgins, S.E., Erf, G.F., Higgins, J.P., Henderson, S.N., Wolfenden, A.D., Gaona-Ramirez, G. & Hargis, B.M. 2007. Efecto del tratamiento probiótico en pollos de engorde sobre el número de macrófagos intestinales y la fagocitosis de *Salmonella enteritidis* por células abdominales exudadas. Poult. Sci. 86 (11):2322-2326
- Higgins, S.E., Higgins, J.P., Wolfenden, A.D., Henderson, S.N., Torres-Rodríguez, A., Téllez, G. & Hargis, B. 2008. Evaluation of a *Lactobacillus* based probiotic culture for the reduction of *Salmonella enteritidis* in neonatal broiler chicks. Poult. Sci. 87:27-33
- Hofacre, C.L., Beacorn, T., Collett, S. & Mathis, G. 2003. Using competitive exclusion, mannan-oligosaccharide and other intestinal products to control necrotic enteritis. J. Appl. Poult. Res. 12:60-64
- Jerningan, M.A., Miles, R.D. & Arafa, A.S. 1985. Probiotics in poultry nutrition- a review. World Poult. Sci. J. 41:99-107
- Jonsson, H., Strom, E. & Roos, S. 2001. Addition of mucin to the growth medium triggers mucus-binding activity in different strains of *Lactobacillus reuteri* in vitro. FEMS Microbiol. Letters 204:19-22
- Kandler, O. & Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Williams & Wilkins (eds.), Baltimore, p. 1208-1234
- Koščová, J., Nemcová, R., Gancarčíková, S., Jonecová, Z., Sciranková, L., Bomba, A. & Vuelca, V. 2006. Effect of two plant extracts and *Lactobacillus fermentum* on colonization of gastrointestinal tract by *Salmonella enterica* var. Düsseldorf in chicks. Biología 61 (6):775-778
- Lima, E.T. 2003. Avaliação da atividade inibitória *in vitro* de bacteriocinas extraídas de *Lactobacillus* spp. isolados de aves (*Gallus gallus*, 1758). En: Lima, E.T., Andreatti

- R.L. 2005. Bacteriocins: nomenclature, detection, mechanism of action and potential use in poultry production. *J. of Food, Agriculture & Environment* 3 (2):62-66
- Lima, E.T., Andreatti Filho, R.L., Okamoto, A.S., Noujaim, J.C., Barros, M.R. & Crocci, A.J. 2007. Evaluation in vitro of the antagonistic substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from chickens. *Canada J. Vet. Res.* 7(2):103-107
- Ma, Y.L., Xu, Z.R. & You, P. 2004. Adhesion of some bacteria to broiler intestinal mucus. *ACTA Microbiol. Clín.* 44:361-364
- Mendoza, R. 2001. Fermentación de las excretas porcinas y su reciclaje en la alimentación de cerdos. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez"- Instituto de Ciencia Animal-Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales
- Nazef, L., Belguesmia, Y., Tani, A., Prévost, H. & Drider, D. 2008. Identification of lactic acid bacteria from poultry feces: evidence on anti-Campylobacter and anti-*Listeria* activities. *Poult. Sci.* 87:329-334
- Patterson, J.A. & Burkholder, K.M. 2003. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult. Sci.* 82:627-631
- Perdigón, G., Agüero, G., Alvarez, S., Gaudioso, L. & De-Ruiz, A. 1995. Effect of viable *Lactobacillus casei* feeding on the immunity of the mucosae and intestinal microflora malnourished mice. *Milchwissenschaft* 50:251-256
- Powell, J.E., Witthuhn, R.C., Todorov, S.D. & Dicks, L.M.T. 2007. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *Intern. Dairy J.* 17:190-198
- Price, R.J. & Lee, J.S. 1970. Inhibition of *Pseudomonas* species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. *Milk Food Technol.* 33:13-18
- Rada, V., Marounek, M., Rychlý, I., Šantrucková, D. & Vori, K. 1995. Effect of *Lactobacillus salivarius* administration on microflora in the crop and caeca of broiler chickens. *J. Animal Feed Sci.* 4:161-170
- Revolledo, L.A., Ferreira, J.P. & Mead, G.C. 2006. Prospects in *Salmonella* Control: competitive exclusion, probiotics, and enhancement of avian intestinal immunity. *J. Appl. Poult. Research* 15:341-351
- Samaniego, L.M., Pérez, M., Laurencio, M., Milián, G., Piad, R.E., Rondón, A.J., Medina, E., González, L.M., Sánchez, A.I. & Amigo, S. 2004. Comprobación de la actividad probiótica de una mezcla de exclusión competitiva sobre algunos indicadores productivos y microbiológicos del tracto digestivo de pollos de ceba. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola* 31:59-67
- Savage, D.C. 1992. Growth phase, cellular hydrophobicity, and adhesion in vitro of lactobacilli colonizing the keratinizing gastric epithelium in the mouse. *Appl. Environm. Microbiol.* 58:1992-1995
- Savón, L. 2005. Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibras. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. UNELLEZ, GUANARE, Venezuela. p. 30

- Singer, S.M. & Nash, T.E. 2000. The role of normal flora in *Giardia lamblia* infections in mice. *J. Infection Disease* 181:1510-1512
- Stanier, R.Y., Ingraham, J.L., Wheelis, M.L. & Painter, P.R. 1996. *Microbiología*. Ed. Reverté S.A. p. 195
- Steidler, L. 2003. Genetically engineered probiotics. *Best Practice & Research Clin. Gastroenterol.* 17 (5):861-876
- Tierney, J., Gowing, H., Van Sinderen, D., Flynn, S., Stanley, L., McHardy, N., Hallahan, S. & Mulcahy, G. 2004. In vitro inhibition of *Eimeria tenella* invasion by indigenous chicken *Lactobacillus* species. *Vet. Parasitol.* 122:171-182
- Tsai, C.C., Hsieh, H.Y., Chiu, H.H., Lai, Y.Y., Liu, J.H., Yu, B. & Tsen, H.Y. 2005. Antagonistic activity against *Salmonella* infection in vitro and in vivo for two *Lactobacillus* strains from swine and poultry. *Intern. J. Food Microbiol. In Press*
- Urrutia, S. 1997. Conversando en terreno. ¿Cuál es la función de los promotores del crecimiento? *Avicultura Profesional* 15 (8/9):6
- Van der Wielen, P.W. J.J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P. & Van Kapen, F. 2000. Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Appl. Environm. Microbiol.* 66 (6):2536-2540
- Variyam, E.P. & Hoskins, L.C. 1981. Mucin degradation in human colon ecosystems. Degradation of hog gastric mucin by fecal extracts and fecal cultures. *Gastroenterol.* 81:751-758
- Waters, W.R., Harp, J.A., Wannemuehler, M.J., Carbajal, N.Y. & Casas, I.A. 1999. Effects of *Lactobacillus reuteri* on *Cryptosporidium parvum* infection of gnotobiotic TCR-alpha-deficient mice. *J. Eukaryote Microbiol.* 46:60S-61S
- Yeo, J. & Kim, K. 1997. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. *Poult. Sci.* 76:381-385
- Zacconi, C., Scolari, G. & Sarra, P.G. 1999a. Colonisation of chicken intestinal tract by *Lactobacillus salivarius* A23 strain. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia* 49:117-123