

Los probióticos y su futuro

Violeta T. Pardo Seda¹, Krzysztof N. Waliszewski Kubiak² y Guadalupe Robledo López²

RESUMEN. Se realizó una revisión bibliográfica de los últimos conocimientos científicos sobre los probióticos, su composición microbiológica, características generales, función y métodos de acción, así como los factores que afectan su actividad. Se discute también sobre los principales productores de probióticos y su futuro en la alimentación humana y animal.

SUMMARY. Probiotics and their future. This review examines recent scientific information about probiotics, their microbiological composition, general characteristics, function and methods of action as well as factor which determine their activity. The principal producers of probiotics and their future in human and animal nutrition are also discussed.

INTRODUCCION

Aunque los productos fermentados lácticos han sido conocidos por muchas décadas, no fue hasta 1908 cuando el famoso científico ruso Metchnikoff enfatizó los beneficios que proporcionaba el consumo de yogurt a los campesinos búlgaros, relacionándolo con la longevidad de las personas y su salud (1). Sin embargo, este conocimiento no fue aplicado realmente por mucho tiempo, hasta que en 1965, Lilly y Stillwell utilizaron por primera vez el término probiótico, enfocándolo a los productos de fermentación láctica, donde el producto de ésta se consideraba como un estimulante para otras bacterias (2). La palabra probiótico surgió precisamente por su significado real, ya que se deriva de dos vocablos, del latín «pro» que significa por o en favor de y del griego «bios», que quiere decir vida, de allí que se les haya llamado probióticos.

A través del tiempo la definición de Lilly y Stillwell fue modificada por Parker, que definió al término probióticos como los microorganismos y compuestos que participan en el balance y desarrollo microbiano intestinal. Después de algunos años esta definición resultó obsoleta, ya que era demasiado amplia para lo que originalmente significaba y como consecuencia podían ser incluidos no sólo los microorganismos, sus metabolitos y nutrientes, sino también los antibióticos (3).

Finalmente, Fuller definió los probióticos como los microorganismos vivos, principalmente bacterias y levaduras, que son agregados como suplemento en la dieta y que afectan en forma benéfica al desarrollo de la flora microbiana en el intestino. En este caso, se hace énfasis sobre las células vivas, como componentes indispensables de los probióticos (4).

Composición microbiológica de probióticos

A la fecha los productos probióticos que se encuentran en el mercado pueden ser de un solo tipo de bacteria, principalmente las bacterias productoras de ácido láctico de la cual la especie

Lactobacillus acidophilus es la más utilizada (4). También pueden encontrarse probióticos compuestos de dos o más bacterias, pero siempre llevando como componente principal una bacteria productora de ácido láctico, donde las bacterias más frecuentes son diferentes especies de *Lactobacillus*, principalmente *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* y *L. lactis*, así como también otras bacterias no lácticas como *Bacillus subtilis* y *Streptococcus faecium* (5). La combinación más empleada es la de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus faecium* (6).

En el caso de *Bacillus subtilis* es muy difícil de explicar como puede activarse esta bacteria en el intestino, siendo un aerobio estricto y que no es precisamente un microorganismo intestinal. Fuller encontró que las especies que se utilizan con más frecuencia en probióticos son el *Lactobacillus bulgaricus*, *acidophilus* y *plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium* y *faecalis* y diferentes especies de *Bifidobacterium* (4). Sin embargo, Hoier considera que las bacterias que probablemente pueden llegar a sobrevivir en estómago e intestino son solamente el *Lactobacillus acidophilus* y alguna especie de *Bifidobacterium*, tales como *Bifidobacterium*, *bifidum*, *longus* e *infantis* (7).

En los últimos años han salido al mercado productos que contienen *Bifidobacterias* combinadas con bacterias lácticas como *Lactobacillus acidophilus*. Se calcula que existen en el mercado alrededor de 80 productos con *Bifidobacterias* generalmente destinados para consumo humano (8). Esta nueva generación de productos de leche fermentada contiene una selección de especies microbianas aisladas del intestino humano las cuales tienen la habilidad de establecerse en la flora intestinal. En estos productos fermentados se utilizan principalmente el *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, pero como consecuencia del largo período de fermentación de la leche, se obtiene un sabor picante debido a la producción de ácido acético, por lo que comúnmente se combinan con otras bacterias que produzcan ácido láctico. Las combinaciones más frecuentes son las siguientes (7):

- *Lactobacillus acidophilus* y/o *Bifidobacteria* combinado con bacterias de yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus lactis*).
- *Lactobacillus acidophilus* y/o *Bifidobacteria* combinado con *Streptococcus thermophilus*.

También se ha reportado que otro de los lactobacilos intestinales de aplicación futura es el *Lactobacillus casei*, utilizado como principal precursor de una bebida japonesa llamada Yakult. En Finlandia

1 Laboratorio de Control de Agua y Alimentos. Dirección General de Salud Ambiental. Secretaría de Salud.

2 Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. México.

se ofrece en el mercado un producto conocido como Cultura que puede ser considerado como un sistema modelo, donde se emplean las cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, desarrolladas en la leche en forma simbótica.

Con dos excepciones, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, todas las bacterias mencionadas son intestinales; estas bacterias se utilizan en la producción de yogurt y no pertenecen a la microflora intestinal nativa, por lo que su habilidad para sobrevivir en estómago e intestinos ha sido muy cuestionada (9). Por lo tanto, el yogurt puede ser considerado como un probiótico; sin embargo, sus efectos no dependen de la presencia de bacterias vivas.

Hutcheson postula que las bacterias de los probióticos deben tener las siguientes características (10):

1. Ser habitantes normales del intestino
2. Tener tiempo corto de reproducción.
3. Producir compuestos antimicrobianos (ácidos orgánicos, antibióticos, etc).
4. Ser estables durante el proceso de comercialización y distribución para que puedan ser vivos en el intestino.

Otro de los organismos utilizados para la producción de probióticos, son las levaduras esencialmente las del género *Saccharomyces* (11). Se ha hecho la observación que de las especies que componen el género, sólo *Saccharomyces cerevisiae* y *uvarum* son utilizadas con mayor frecuencia para la producción de cultivos de levadura.

Algunas cepas de *Saccharomyces* son aerobias y otras anaerobias facultativas, características que no tiene otro tipo de levadura. A diferencia de las demás levaduras, contienen enzimas y metabolitos presentes en el medio en que se desarrollan y representan una cepa seleccionada para la nutrición animal. La presencia de este medio de cultivo y de las levaduras es de vital importancia en la efectividad de un cultivo de levaduras. Así, cuando el medio de cultivo ha sido cuidadosamente secado, muchas enzimas activas y factores de crecimiento permanecen, las cuales estimulan el desarrollo de la flora bacteriana (12).

Se ha reportado que cuando la levadura que ha sido sometida a un proceso de esterilización en autoclave, pierde su capacidad para estimular las bacterias celulolíticas del rumen, mientras que las levaduras vivas incrementan 10 veces el número de estas bacterias (11). Por lo que se ha postulado que el crecimiento y las características metabólicas de la especie *Saccharomyces cerevisiae* que la convierten en la especie ideal para los cultivos de levaduras son (13):

1. Habilidad de producir ácido glutámico, el cual incrementa la palatabilidad.
2. Su crecimiento a pH 6.0-6.5 en el rumen es lento comparado con el que se obtiene a un pH óptimo de 4.5, lo que permite un incremento en la velocidad de excreción de micronutrientes al medio exterior.
3. Las células activas de levaduras tienen propiedades absorbentes muy fuertes a nivel de la pared celular y pueden actuar como una reserva de nutrientes y como un amortiguador del pH.
4. Su capacidad de eliminar oxígeno facilita el crecimiento de bacterias anaeróbicas estrictas.

Actualmente algunas compañías han combinado bacterias lácticas y cultivos de levaduras. Una de estas compañías Alltech Inc., combina dos especies de bacterias lácticas, el *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con la idea de obtener un máximo potencial para mejorar el crecimiento

animal y la eficiencia alimenticia de la dieta en el producto conocido comercialmente como Yea-Sacc (3,13). Para mejorar la acción de la levadura, esta se puede combinar también con el hongo *Aspergillus oryzae* (14).

Método de acción de los probióticos

Se han estudiado los diferentes métodos de acción por el cual las bacterias lácticas pueden inhibir la colonización de coliformes; estos mecanismos pueden ser (4):

- Disminución de la cuenta viables de las bacterias patógenas por:
 - Producción de compuestos antimicrobianos
 - Competencia por los nutrientes
 - Competencia por los sitios de adhesión
- Alteración del metabolismo microbiano por:
 - Aumento en la actividad enzimática
 - Disminución en la actividad enzimática
- Estimulación inmunológica por:
 - Aumento en el nivel de anticuerpos
 - Aumento en las actividades de macrófagos

La disminución del número de bacterias patógenas pueden ser resultado de la producción de agentes antimicrobianos, metabolitos primarios y secundarios como ácidos orgánicos y peróxido de hidrógeno. Los ácidos orgánicos como el ácido láctico pueden ayudar a mantener el perfil favorable de la microflora nativa, ejerciendo varios efectos. La disminución del pH por abajo de 4.5 provoca que el medio ambiente intestinal se vuelva adverso para ciertas bacterias incluyendo las coliformes inhibiendo así su desarrollo, lo cual es adecuado para el crecimiento del *Lactobacillus* (5,15,16); además, los ácidos orgánicos proporcionan recursos energéticos para las células epiteliales del intestino grueso. Así mismo, un ambiente ácido conduce a un aumento en la actividad enzimática dentro del sistema digestivo. Los *Lactobacillus* también tienen la propiedad de producir peróxido de hidrógeno que presenta actividad bactericida mediante la activación del sistema lactoperoxidasa - tiocianato (17,18).

Se ha señalado que las bacterias lácticas también producen metabolitos de actividad antibiótica que reducen la cuenta de bacterias patógenas (5,16). Se ha demostrado que cepas de *Lactobacillus acidophilus* producen antibióticos como acidophilin, lactarin y acidolin (19). La nicina y diplococcina se mencionan entre los metabolitos producidos por los *Streptococcus*. Los metabolitos antibióticos de los *Lactobacillus* han demostrado una actividad inhibitoria *in vitro* como *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Vibrio* y *Escherichia coli* enteropatógena (20). También se ha demostrado que la flora bacteriana produce sustancias a las que se ha denominado microcinas y bacteriocinas, las cuales poseen una actividad antibiótica que puede disminuir la cuenta viable de bacterias patógenas. Se ha observado que la población bacteriana estomacal compete con patógenos por los nutrientes en el intestino. Estudios *in vitro* demostraron una competencia por fuentes de carbono entre la flora intestinal y *Shigella flexneri*. Pero este efecto puede cambiar si se altera el medio ambiente para los microorganismos (21).

En el hombre el stress provoca una disminución de la cantidad de *Lactobacillus* en el estómago e intestino delgado y aumento de coliformes en el intestino grueso, lo cual se ha comprobado en ratas, ratones y cerdos. La explicación argumenta que la falta de nutrientes provoca condiciones limitantes y para adecuar el desarrollo de las bacterias lácticas se necesita la adición constante de nutrientes (15,22). Las evidencias son muy pequeñas ya que cambiando el medio, *in vitro* o *in vivo*, no existe la misma correlación entre las

bacterias específicas (23). La responsabilidad reside en determinados carbohidratos que participan en esta competencia, en la que siempre predominarán las bacterias lácticas (24).

Otro mecanismo previsor contra la colonización de patógenos es la competencia por los sitios de adhesión (4,5,25) y la colonización en la superficie epitelial del intestino (15). Por exclusión competitiva se entiende a la competencia que existe entre la flora benéfica del intestino (básicamente *Lactobacillus*) y la flora nociva (coliforme) por sitios receptores o espacios a lo largo de la pared intestinal. El modo de adhesión a la pared intestinal se presenta cuando existe un balance microbiano apropiado en el aparato digestivo. Las bacterias productoras de ácido láctico se acumulan normalmente en la superficie de la pared intestinal (26). Esta competitividad entre las bacterias lácticas y coliformes (exclusión competitiva) se comprobó en estudios realizados en lechones dosificados con *Lactobacillus lactis*, alcanzando un número más alto de *Lactobacillus* adheridos a las células epiteliales y un número más bajo de *Escherichia coli* comparado con lechones testigos (27,28). Pero esta habilidad de la bacteria para adherirse al epitelio escamoso de la célula intestinal depende de la relación existente entre un polisacárido ácido que se forma en la superficie de la pared de la bacteria y uno similar que se forma en la superficie de la célula epitelial. En este mecanismo, el glucocáliz de las bacterias y de las células epiteliales interactúan entre sí; en las fibras de los polisacáridos los monosacáridos terminales de cada glucocáliz reaccionan por polaridad mediante cationes divalentes o de manera específica por medio de lectinas, permitiendo una relativa conducción de exoenzimas y toxinas hacia el sitio de acción y nutrientes hacia la bacteria. La formación del glucocáliz es llevado a cabo enzimáticamente y puede llegar a ser muy específica (16). Se ha comprobado que un organismo puede establecerse (colonizar) por sí mismo en el estómago, ya sea adhiriéndose al epitelio o por crecimiento. También se ha observado que existen diferencias en las características del intestino de cada hospedador y en cada especie de los microorganismos utilizados como probióticos (26).

El rápido crecimiento de las bacterias puede compensar su incapacidad para adherirse a las células epiteliales. Cuando estas bacterias se le proporcionan al animal, pasan a través del estómago e intestinos donde ayudan a reestablecer una población microbiana normal, lo cual es favorecido por la habilidad de estas bacterias para colonizar sucesivamente el tracto intestinal (27,29). Especies como *Enterococcus faecium* y *Escherichia coli* tienen poca habilidad para adherirse, pero presentan un alto factor de reproductividad. Se ha demostrado que la colonización óptima del intestino por bacterias benéficas confiere un alto grado de protección contra *Salmonella*, cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* y *perfringes* (46). Sin embargo, la acidez gástrica es una barrera importante para la colonización del intestino, por lo que es indispensable que los probióticos tengan la habilidad de sobrevivir en las condiciones ácidas del estómago. Los factores que afectan el potencial de los probióticos para colonizar el intestino son:

- a) Adherencia al epitelio intestinal, lo que le permite colonizar organismos de lento crecimiento.
- b) Habilidad para crecer en el ambiente intestinal donde el colonizador exitoso puede utilizar el sustrato disponible y resistir a los agentes antimicrobianos en el medio ambiente.

La alteración del metabolismo microbiano a través de la disminución y aumento de la actividad enzimática es otro de los mecanismos de acción que se pueden presentar cuando se utilizan bacterias lácticas. Se demostró que cuando se alimenta con *Lactobacillus acidophilus*

a humanos, se observa una selección de enzimas, suprimiendo la actividad de la β -glucuronidasa, nitroreductasa y azoreductasa (30). Los probióticos también pueden ayudar a aliviar la intolerancia a la lactosa produciendo la enzima lactasa. Esta deficiencia de la digestibilidad de lactosa frecuentemente se produce en el hombre provocando dolor de estómago, producción de gases y diarrea acuosa; por carencia de la enzima lactasa, la lactosa que no es hidrolizada, es utilizada por las bacterias para producir gases como hidrógeno, bióxido de carbono y ácido grasos volátiles que se acumulan en el colon. Se ha descubierto que las bacterias del yogurt producen la enzima lactasa, por lo que este problema puede ser eliminado si se consume este producto (31,32,33).

La estimulación inmunológica es otro de los mecanismos que el animal necesita para protegerse, principalmente después del nacimiento. Durante éste el sistema inmune produce ciertos anticuerpos contra las bacterias patógenas y las proteínas alimenticias. Los animales que tienen bien desarrollada su flora intestinal se caracterizan por tener un aumento en la actividad fagocitaria y en el nivel del inmunoglobulina comparado con los animales libres de microorganismos (34). Se ha observado que después de inocular ratones por vía intraperitoneal con *Lactobacillus lactis*, se aumentó la actividad de macrófagos y linfocitos, lo que indica que las bacterias se encuentran implicadas en el aumento del sistema inmune del animal (35).

Otros estudios señalan que además de las diferencias morfológicas, también se presentan diferencias en la concentración de inmunoglobulina. A en el suero y secreciones intestinales entre animales libres de gérmenes y convencionales, concluyendo que existe una fuerte evidencia de una relación directa entre la presencia en el lumen intestinal de una microflora viva y el desarrollo de células sintetizadoras de inmunoglobulina A en la mucosa intestinal (36).

Acidificantes

La acidificación es otro mecanismo que ayuda a modificar la microflora intestinal y a lograr una mayor actividad enzimática en la producción animal, principalmente en las fases de destete y postdestete, ya que son los más drásticos y donde se presentan más casos de mortalidad por diarrea. Se ha sugerido que durante las fases de desarrollo del sistema digestivo (antes y después del destete) se llevan a cabo cambios importantes a nivel de producción enzimática y del pH en diferentes partes del tracto gastrointestinal, lo que sugiere que la inmadurez está asociada a una producción deficiente de ácido clorhídrico en el estómago (37).

En animales como rumiantes, cerdos y aves, la acidificación del contenido estomacal se debe al ácido clorhídrico y al ácido láctico. Algunos autores sugieren que la secreción de ácido clorhídrico es escasa en las primeras semanas después del nacimiento y que la secreción de este ácido no es suficiente tres o cuatro semanas postdestete. Por lo que en las primeras semanas de vida, el recién nacido depende del ácido láctico producido por las bacterias, principalmente *Lactobacillus* y *Streptococcus*, para controlar el pH evitando así el desarrollo de bacterias patógenas (38). Se demostró que los lechones y los rumiantes jóvenes no poseen un sistema enzimático capaz de digerir los carbohidratos presentes en la dieta hasta la sexta u octava semana de vida; al ser incrementada la acidez gástrica se puede mejorar la producción de enzimas presentes en cantidades insuficientes en los animales recién destetados (39).

Al acidificar el alimento y el agua la microflora intestinal se modifica; sin embargo, el mecanismo de acción de los acidificantes todavía es incierto, siendo sugeridas varias explicaciones (6,40):

- Los acidificantes suplementan la producción limitada de ácido en el estómago, particularmente en el animal joven.
- La disminución del pH en la dieta puede ayudar a disminuir el pH gástrico, aumentando la conversión del pepsinógeno a pepsina.
- Reduciendo el pH de la dieta disminuye el pH del estómago, el cual puede prevenir el crecimiento y proliferación de *E. coli* y estimular el crecimiento de la bacteria láctica en el estómago.
- Los ácidos orgánicos pueden actuar como agentes quelantes y resultar en un aumento de la absorción de minerales en el intestino grueso (ciego).
- Ciertos ácidos orgánicos son importantes intermediarios en las rutas energéticas y pueden jugar un papel directo en el metabolismo.

Cultivo de levadura

Los cultivos de levadura actualmente se utilizan en la producción animal y se ha observado que ayudan a obtener beneficios en rumiantes, tales como incremento en la digestibilidad de la materia seca especialmente fibra, lo cual estimula el apetito, aumentando la producción de la leche y la calidad de la misma.

Su mecanismo de acción, aunque todavía no está bien definido, se encuentra muy relacionado con sus características bioquímicas, fisiológicas y de crecimiento (41,42):

- Son fuentes de nutrientes indispensables como aminoácidos, vitaminas y oligoelementos.
- Favorecen la optimización del proceso de absorción de minerales, especialmente zinc, potasio y cobre.
- Tienen propiedades absorbentes, lo que las convierte en una fuente de nutrientes y además actúan como amortiguadores del pH.
- Las levaduras propician una condición de mayor anaerobiosis, lo que estimula el desarrollo de microorganismos anaeróbicos estrictos.
- Actúan como saborizantes naturales, lo que incrementa el consumo del alimento estimulando el apetito.

Las levaduras muertas no tienen el mismo efecto que las levaduras vivas y aunque su mecanismo de acción todavía está en estudio, se ha encontrado que los beneficios de los cultivos de levaduras están asociados con los siguientes aspectos (43):

- Poseen un saborizante natural que mejora la palatabilidad.
- Contienen vitaminas del complejo B y promotores del crecimiento.
- Aumentan el número de bacterias celulolíticas en rumiantes
- Sintetizan algunas proteínas y aminoácidos esenciales.
- Proveen minerales en forma de quelatos biológicamente disponibles.
- Producen enzimas digestivas como proteasas, lipasas e invertasas.
- Actúan como amortiguador natural del pH, mejorando la digestión.
- Reducen la producción de metano.

Principales productores de probióticos en el mundo

En la actualidad, los trabajos de investigación realizados en probióticos se encuentran basados en probar los diferentes beneficios que se pueden obtener con su uso en las dietas animales. Estos productos son fabricados por diferentes compañías, siendo la principal Alltech Incorporation in Nicholasville, Kentucky E.U.A., la cual ha desarrollado la producción de probióticos obteniendo diferentes combinaciones gracias a la aplicación de ingeniería genética. Entre otros productores de probióticos se encuentran el Instituto Rosell,

Incorporation en Montreal, Canadá y Christiansen Laboratory de Copenhagen, Dinamarca. Otras compañías menores son la Transagra International Incorporation, la Storn Lake y Conagra.

Aplicaciones y el futuro de los probióticos.

El desarrollo de los probióticos se originó a partir de su uso en humanos, donde se observó la correlación que existe entre el consumo de estas bacterias y la salud del que las consumía. El uso diario de los probióticos para mantener un buen estado de salud es indiscutible. Su presencia en el tracto digestivo contribuye al control de las infecciones ayudando también en la digestión de algunos nutrientes de la dieta, tales como los polisacáridos principalmente la lactosa, el almidón y las proteínas. Las bacterias lácticas participan también en la producción de algunas vitaminas del complejo B, activan el sistema inmunológico, producen compuestos anticancerogénicos y disminuyen el contenido de colesterol en la sangre (4,7). Esto ha impulsado a nuevas investigaciones para apoyar su uso como un sustituto adecuado de los antibióticos, donde las condiciones predominantes no son muy higiénicas, lo cual se observa principalmente en climas tropicales.

La fermentación láctica no sólo tienen importancia en la elaboración de alimentos que tienen como base la leche, sino que también son indispensables para obtener una buena col fermentada para consumo humano o producir un ensilado de biomasa de origen vegetal, o de subproductos de la industria pesquera para los animales. En los países orientales y algunos tropicales, los microorganismos de la fermentación láctica se emplean no solamente para conservar el alimento, sino también para obtener un producto más nutritivo, de mejor sabor y digestibilidad. Esta técnica se aplica en la preservación de la carne y sus productos elaborados así como al pescado o una mezcla de arroz y pescado (44). La disminución del pH por vía del aumento del ácido láctico es uno de las más antiguas y baratas técnicas de conservación de alimentos y que además permite mejorar la palatabilidad y valor nutritivo del alimento.

Gracias al desarrollo de la ingeniería genética, se están buscando nuevas cepas lácticas con el fin de obtener aquellas que fácilmente puedan adherirse al intestino y posteriormente desarrollarse para producir compuestos antibióticos que limiten el desarrollo de las bacterias patógenas.

El futuro de los probióticos consistirá en obtener los cultivos de microorganismos mixtos de alta productividad y sobrevivencia en el tracto digestivo, enfocándose principalmente al desarrollo de las bacterias que se desean con un medio propicio para su crecimiento, pero al mismo tiempo para su aplicación en la elaboración de nuevos alimentos fermentados.

REFERENCIAS

1. Lyons T.P. The role of biological tools in the feed industry en *Biotechnology in the Feed Industry*. Ed T.P Lyons, Alltech Inc. Nicholasville, Ky, EUA, 1-49. 1987
2. Lilly D.M., Stillwell R.H. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147, 747-748. 1965.
3. Parker R.B. Probiotics the other half of the antibiotics story. *Animal Nutrition and Health* 29, 4-8. 1974.
4. Fuller R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378. 1989.
5. Aherne X.F. Aditivos para la promoción del crecimiento en cerdos: Probióticos como aditivos. Simposio Internacional «Avances en la nutrición del cerdo». AMVEC, México DF. P. 125-129. 1986.
6. Chapman J.D. Probiotics, acidifiers and yeast culture: A place for natural additives in pig and poultry production en: *Biotechnology in the*

- Feed Industry. Proceedings of Alltech's fourth annual symposium. Ed. T.P. Lyons, Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, EUA 219-233. 1988.
7. Hoier E. Use of probiotic starter cultures in dairy products. Food Australia, 44:418-42. 1992.
 8. Hughes D.B. and Hoover D.G. Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. Food Technology 45(4), 74-83. 1991.
 9. Gilliland S.E. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Review 87, 88-175. 1990.
 10. Hutchenon D. Researcher lists characteristics of probiotics. Feedstuffs, December 14, 8-10. 1987.
 11. Dawson K.A. Mode of action of the yeast culture, Yea-Sacc, in the rumen: a natural fermentation modifier. En Biotechnology in the Feed Industry. Ed T.P. Lyons, Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, EUA 119-125. 1987.
 12. Dawson K.A. Current and future role of yeast culture in animal production: a review of research over the last seven years en Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's ninth annual symposium, Ed T.P. Lyons, Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, EUA, 269-291. 1993.
 13. Rose A.H. Yeast culture. A microorganism for all species: theoretical look at its mode of action. en Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's third annual symposium. Ed T.P. Lyons. Alltech Technical Publications, Lexington, Ky, EUA 35-49. 1987.
 14. Williams P.E.V. The mode of action of yeast culture in ruminant diets. En Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's fifth annual symposium. Ed T.P. Lyons. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, EUA 65-84. 1989.
 15. Atherton D.S., Thomson R. J. Ltd. Probiotics-a European perspectives in biotechnology in the feed industry, Ed T.P. Lyons, Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, USA., P.167-168. 1987.
 16. Hoyos G., Cruz C. Mecanismos de acción propuestos de los probióticos en cerdos. Biotecnología en Industria de Alimentación Animal. Vol I Edit SETIC, México DF, México 73-80. 1990.
 17. Reiter B. Antimicrobial systems in milk. Journal of Dairy Research 45, 131-147. 1978.
 18. Pardio V.T., Waliszewski K., García H.S. Activación del sistema lactoperoxidasa para preservación de leche cruda. Tecnología de alimentos 18, 12-19. 1983.
 19. Hamden E.Y., Mikofajcik. Acidolin an antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus*. Journal of Antibiotic. 27:632-639. 1974.
 20. Guerrero R., Hoyos G. Direct fed microbials and acidifiers for poultry. Biotechnology in the feed industry. Ed T.P. Lyons, en Proceedings of Alltech's seventh annual symposium, Alltech, Inc. Nicholasville, Ky, EUA, 407-411. 1991.
 21. Hentges D.J. Role of the intestinal microflora in host defense against infection. En Human intestinal microflora in health and disease ed. Hentges D.J., Academic Press, New York, EUA, 311-331. 1983.
 22. Snell E.E. Nutrition research with lactic acid bacteria: A retrospective view. Annual Review of Nutrition. 9, 1-19. 1989.
 23. Maier B.R., Hentges D.J. Experimental *Shigella* infections in laboratory animals. I. Antagonism by normal flora components in genotobiotic mice. Infection and Immunity 63, 168-173. 1972.
 24. Wilson K.H., Perni F. Role of competition for nutrients in suppression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. Infection and Immunity 56, 2610-2614, 1988.
 25. Rosell V. Acidification and probiotics in Spanish pig and calf rearing. en Biotechnology in the feed industry. Ed T.P. Lyons Alltech, Nicholasville, Ky, EUA 177-180. 1987.
 26. Barrow P.A., Brooker B.E., Fuller R., Newport M.J. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine. Journal of Applied Bacteriology, 48, 147-154. 1980.
 27. Muralidhara K., Shegery G.G., Elliker P.R., England D.C., Sandine W.E. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from pig. Journal of Food Protection 40,288-295. 1977.
 28. Stavric S., Gleeson T.M., Blanchfield B., Pivnick P. Role of adhering microflora in competitive exclusion of *Salmonella* from young chicks. Journal of Food Protection 50, 125-128. 1987.
 29. Roach S., Savage D.C., Tannock G.W. Lactobacilli isolated from the stomach of conventional mice. Applied of Environmental Microbiology 33, 1197-1201. 1977.
 30. Goldin B.R., Gorbach S.L. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. American Journal of Clinical Nutrition, 39, 756-761. 1977.
 31. Speck M.L. Evidence of value of live starter culture in yoghurt. Cultural Dairy Product Journal 18, 25-26. 1983.
 32. Savaiano D.A., Abou-El Anour A., Smith D.E., Levitt M.D. Lactose malabsorption from yogurt pasteurized yogurt sweet acidophills milk and cultured milk in lactase-deficient individuals. American Journal of Clinical Nutrition. 40, 1219-1223.
 33. Kolars J.C., Levitt M.D., Aouji M., Savaiano D.A. Yogurt an autodigesting source of lactose. New England Medical Journal 310, 1-3. 1984.
 34. Bealme P.M., Hohermann O.A., Mirand E.A., Influence of the microflora on the immune response I: General characteristics of the germ-free animal. En the germ-free animal in biomedical research ed. Coates M.E., Gustafsson B.E., Laboratory Animal Ltd. London, Inglaterra. 335-346. 1984.
 35. Perdigon G., Macias M.E.N., Alvarez S., Oliver G., Ruiz H. Effect of perorally administered *Lactobacilli* on macrophage activation in mice. Infection and Immunity 53, 404-410. 1986.
 36. March B.E. The host and its microflora. An ecological unit. Journal of Animal Science 49, 132-136. 1979.
 37. Manners M.J. The development of digestive function in the pig. Proceedings of the Nutritional Society 35, 49-55.
 38. Johnson R. Role for acidifiers and enzymes in assuring performance and health of pigs post-weaning. en Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's eight annual symposium. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Ky, EUA 139-150. 1992.
 39. Fallon R.J. Acidificación la ruta natural. en Biotecnología en la industria de alimentación animal. Vol 1 Edit SETIC, México DF. 11-21. 1990.
 40. Lyons T.P. La aplicación de productos microbianos naturales en la producción porcina. en Biotecnología en la industria de alimentación animal vol 2. SETIC SA de CV. México, DF. 47-75. 1991.
 41. Hoyos G. Impacto de la biotecnología en la alimentación de equinos: Revisión bibliografía. en Biotecnología en la industria de la alimentación animal. Vol 1 SETIC SA de CV México D.F., 61-70. 1990.
 42. Williams P.E.V. La acción de los cultivos de levaduras en el rumen. en Biotecnología en la industria de alimentación animal. Vol 1 SETIC SA de CV. México DF. 35-50. 1990.
 43. Mordenti A. Probiotics and new aspects of growth promoters in pig production. Information Zootechnology. 32, 69-73. 1986.
 44. National Academy Press. Applications of Biotechnology to Traditional Fermented Foods. National Academy Press, Washington, DC. 121-145. 1992.

Recibido: 31-03-1995

Aceptado: 04-08-1995