

Biofilms bacterianos versus antimicrobianos. Nutracéuticos: una opción promisoriosa (Artículo de revisión)

Guillermo Barreto Argilagos* y Herlinda Rodríguez Torrens**

*Centro de Estudio para el Desarrollo de la Producción Animal CEDEPA, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey

**Agronomía SUM Camagüey, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey

guillermo.barreto@reduc.edu.cu

RESUMEN

El 99 % de las bacterias coexiste como bacterias *biofilm* en condiciones naturales, no en forma planctónica, como sucede en los medios artificiales. Esa asociación ha posibilitado una historia bacteriana que supera los tres mil quinientos millones de años y les permite reaccionar a las condiciones actuales a través de biotipos que, además de resistir los antimicrobianos, portan una virulencia exacerbada fruto de las selecciones impuestas. La solución a este mal, lejos de presionar con nuevas macromoléculas con actividad quimioterapéutica —muy útiles si se emplean racionalmente—, está en dar un salto al pasado para retomar lo observado por clásicos de la microbiología: a) las bacterias *biofilm*; b) el antagonismo microbiano. Mientras se asuman los aislamientos bacterianos en su fase planctónica existirá una barrera insalvable entre los estudios *in vitro* y la realidad; cuando las dietas contemplen el uso de nutracéuticos y prebióticos, la microbiota natural mantendrá a raya a esos rivales incontrolables para buena parte de la quimioterapia actual y sin los riesgos colaterales de esta práctica.

Palabras claves: *antibiorresistencia, bacterias biofilm, bacterias planctónicas, contaminación ambiental, islas de patogenicidad, nutracéuticos, prebióticos, probióticos, quorum sensing*

Bacterial Biofilms versus Antimicrobials; Nutraceuticals, a Promissory Option (Review Article)

ABSTRACT

Ninety-nine percent of bacteria coexist as biofilm bacteria under natural conditions, and not as planktonic bacteria like in artificial environments. Such an association can be traced back to over three thousand and five hundred millions years of bacterial history, a time span that has made it feasible for bacteria to react against current environmental conditions through biotypes, which are not only resistant to antimicrobials but also carry a severe virulence derived from imposed selections. Solving these evils does not rely on new macromolecules with a chemotherapeutic action —highly useful if rationally used—, but on returning to microbiology foundations for a fresh beginning: a) biofilm bacteria, b) microbial antagonism. As long as bacterial isolations are assumed within their planktonic stage, there will be an unsurmountable barrier between *in vitro* studies and reality. The inclusion of nutraceuticals and prebiotics in diets is the only way for natural microbiota to effectively face these uncontrollable rivals in a wide range of present chemotherapy without side risks.

Key Words: *antibioresistance, biofilm bacteria, planktonic bacteria, environmental pollution, pathogenicity isles, nutraceuticals, prebiotics, probiotics, quorum sensing*

INTRODUCCIÓN

En las últimas tres décadas humanos y animales han adquirido microorganismos polirresistentes a fármacos. Entre los agentes bacterianos destacan *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* y *Streptococcus pneumoniae*. La resistencia a los fármacos constituye un problema de salud pública extremadamente grave (Prescot *et al.*, 2004; French, 2005), casi tanto como las propias enfermedades que justifican su demanda (Barreto y Rodríguez, 2006). Los últimos diez años alarman por los fallos reiterados en los tratamientos

a humanos y animales (EARSS, 2005; Harbarth y Samore, 2005; WHO, 2007).

La generación de nuevos antimicrobianos sólo ha demostrado la rápida capacidad bacteriana de adaptarse a ellos, por usar un término conservador. Se amplía el rango de resistencia en patógenos humanos y animales (Jansen *et al.*, 2006; Falagas y Bliiziotis 2007; Barreto y Rodríguez, 2007; Cisneros *et al.*, 2008). Este fenómeno ya excede los marcos hospitalarios y se constata en comunidades y en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) a niveles alarmantes (EARSS, 2005; Jansen *et al.*, 2006; EASAC, 2007; WHO 2007; EFSA, 2008; Cisneros *et al.*, 2008; Scientific Committee

on Emerging and Newly Identified Health Risks –SCENIHR, 2009; Rodríguez *et al.*, 2009; Barreto *et al.*, 2010).

Cuesta creer que la solución a los problemas descritos dependan de un simple salto al pasado, para beber en las fuentes aportadas por los clásicos de la microbiología quienes, estupefactos ante el impacto abrupto del universo microbiano recién develado e incapaces de dar respuestas a tantas incógnitas, tuvieron que acotar observaciones, referir resultados y... confiar en sus relevos; una vida no resultaba suficiente para cuanto hicieron.

A quienes crean que lo afirmado es un desvarío, o pura ciencia ficción, se les invita a leer lo que en apretada síntesis se expone a continuación.

DESARROLLO

Según los métodos de datación radiométrica la Tierra tiene una antigüedad de cuatro mil quinientos a cuatro mil seiscientos millones de años. Después de los primeros quinientos millones de años, el planeta presentaba una corteza compuesta de roca primitiva, bañada por mares en continua ebullición, en equilibrio con nubes cargadas de lluvia y electricidad estática que se descargaban en forma de violentas tormentas con rayos; una atmósfera sin oxígeno, nada de luz solar; se acumulaba materia orgánica por doquier (La materia se auto organiza, 1999; Orígenes del planeta Tierra, 2001; El origen de la Tierra y la vida, 2005).

En tales condiciones surgieron las primeras bacterias. En los siguientes millones de años, junto a las transformaciones que se producían en el planeta y su atmósfera, contribuyeron a la aparición de nuevas formas de vida, ya con oxígeno y luz solar. Es preciso destacar que, luego de tanto tiempo, glaciaciones, diluvios y choques con meteoritos —fatales a dinosaurios y vaya a saber a cuánta especie más—, representantes de aquellas bacterias pioneras pululan, incluso en ambientes tan difíciles que han dado origen al término extremofilia (El origen de la Tierra y la vida, 2005; Barreto y Rodríguez, 2006).

La participación bacteriana en la historia terrestre y su evolución va más allá de lo narrado; no en balde Woese, en 1977 (citado por Barreto y Rodríguez, 2006), propuso el establecimiento de tres dominios: Archaea, Bacteria y Eukarya. Los dos primeros comprenden exclusivamente a bacterias; el

tercero a cuanta forma viva eucariótica exista —o haya perecido en tan larga evolución—.

¿Soportarán las bacterias de hoy los contaminantes actuales y sus impactos ecológicos?

Las bacterias coexisten en dos formas: a) bacterias planctónicas, de libre flotación, y b) bacterias *biofilm*, que forman colonias de microorganismos sésiles. El 99 % de las células bacterianas se presenta en calidad de biofilms; el 1% restante, los estadios planctónicos, subsisten como tales hasta que logran constituir biofilms (Sanclément *et al.*, 2005; Ramadan *et al.*, 2005, Ramadan, 2006). Los biofilms son comunidades bacterianas —pueden incluir a otros microorganismos— que crecen embebidas en una matriz de exopolisacáridos adherida a superficies inertes o vivas; representan la forma natural de crecimiento de las bacterias (Costerton *et al.*, 1995).

Desde que Koch introdujo el uso de los medios de cultivo, casi todo lo estudiado aborda a los gérmenes planctónicos, descritos por sus características en medios de cultivos sintéticos. El estudio de las bacterias embebidas en *biofilms* es más difícil (Nazar, 2007). Desafortunadamente, este enfoque ha limitado la comprensión respecto a las interacciones bacterias-medio ambiente, incluso cuando ese medio lo constituyen hospederos humanos o animales (Donlan, 2002; Thomas y Nakaishi, 2006).

Van Leeuwenhoek (1676, 1683), utilizando sus microscopios artesanales, fue el primero en describir la presencia de microorganismos adheridos a superficies dentales, por lo que se le reconoce como el descubridor de los *biofilms* bacterianos (Donlan, 2002). Tal como sucedió con mucho de lo observado por este agudo holandés, el pobre desarrollo de las ciencias del momento limitó valorar su importancia. Tres siglos después, Costerton *et al.* (1978), tratando de encontrar una explicación a la resistencia bacteriana a desinfectantes en sistemas de aguas industriales, redescubrieron la existencia de comunidades bacterianas embebidas en matrices glucoproteicas desarrolladas en superficies en contacto con el agua, a las que denominaron biofilms. A esta forma de organización, como hipótesis, achacaron la resistencia investigada.

En los *biofilms* existe un medioambiente muy dinámico y la tasa de intercambio de material genético es elevadísima, sobre todo la mediada por plásmidos (Sanclément, 2005; Ramadan, 2006).

Los plásmidos pueden codificar resistencia a múltiples antimicrobianos (antibióticos, desinfectantes, metales pesados), y al mismo

tiempo la información para diversos factores de virulencia (fimbrias, exoenzimas que potencian la invasividad, cápsulas antifagocíticas, toxinas, sistemas para atrapar hierro, etc.) (Harnett y Gyles, 1984, 1985; Barreto *et al.*, 1993a; Barreto y Rodríguez, 2006). A ese conjunto de información genética (que no necesariamente ha de estar en plásmidos, también se da en el nucleóide) es a lo que se ha denominado “islas de patogenicidad”. Son el fruto de un proceso largo en el que este planeta, con las condiciones que hemos creado, se ha comportado cual inmenso laboratorio (Barreto y Rodríguez, 2006, 2007).

A partir de lo expuesto resulta evidente que: 1) si estas islas de patogenicidad se ubican en plásmidos, podrán diseminarse por conjugación a bacterias de la misma especie, afines, e incluso diferentes, fenómeno que se potenciará en los ambientes propiciados por los *biofilms*; 2) esta forma de asociación, ante la presencia de antimicrobianos selecciona y magnifica los biotipos resistentes que, a su vez, portan una virulencia exacerbada (Barreto *et al.*, 1993a; Donlan, 2002; Sancelement, 2005; Ramadan, 2006; Barreto y Rodríguez, 2006, 2007), aspecto al que se brinda poca atención.

Los *biofilms*, además de la resistencia asociada a la transferencia de plásmidos, por su arquitectura confieren nuevas propiedades a los miembros que la integran. Para ilustrar lo planteado vale señalar que la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ampicilina para una cepa de *Klebsiella pneumoniae* en estado planctónico es de 2 µg/mL. Esta misma cepa, al crecer como *biofilm*, exhibe el 66 % de supervivencia a concentraciones de 5 000 µg/mL del antibiótico (Stewart y Costerton, 2001; Chole y Fraddis, 2003; Sanderson *et al.*, 2006).

Para explicar esta resistencia se han planteado diversas hipótesis: (a) Penetración lenta o incompleta del antibiótico en el *biofilm*: la matriz de exopolisacáridos constituye una barrera que impide el ingreso del antimicrobiano. Aunque hay estudios *in vitro* en los que se demuestra la penetración de algunos antibióticos al *biofilm*, se postula que pueden ser desactivados por acción de polímeros extracelulares, o sólo alcanzan una difusión limitada dentro de estas matrices aniónicas (Stewart y Costerton, 2001; Post *et al.*, 2004). (b) Causas metabólicas: una baja actividad metabólica debida a limitaciones de oxígeno y nutrientes, puede provocar que la población ingrese en un estado de lentificación, o cese de

su mitosis, sobre todo las bacterias situadas más profundamente, con lo cual dejan de ser sensibles a los antimicrobianos. Se ha descrito la formación de nichos anaeróbicos en zonas profundas de *biofilms* debido a consumo completo del oxígeno en las capas superficiales. Los aminoglucósidos resultan menos eficaces contra la misma bacteria en condiciones anaeróbicas que aeróbicas. No puede descartarse el efecto debido a la acumulación de productos ácidos del *biofilm* que provocan diferencias significativas de pH entre el exterior y el interior de éste, interfiriendo la acción del antibiótico (Stewart y Costerton, 2001; Post *et al.*, 2004). (c) Cambios genéticos: como ya se ha expresado, la elevada tasa de transferencia genética conlleva, en su expresión fenotípica, a modificaciones en la fisiología de las bacterias *biofilm*, debido a la aceptación y recombinación de genes específicos que potencian mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos (Scott y Manning, 2003; Chole y Fraddis, 2003; Post *et al.*, 2004; Sancelement *et al.*, 2005; Thomas y Nakaishi, 2006). No obstante el respaldo mayoritario a esta hipótesis, Stewart y Costerton (2001) expresan sus dudas al respecto, señalando que cuando las bacterias son dispersadas desde un *biofilm*, con frecuencia se tornan rápidamente susceptibles a antibióticos, lo que sugeriría que tal resistencia no sería adquirida vía mutaciones o recombinación (Nazar, 2007). (d) Formación de endosporas: esta hipótesis se sustenta en la posible génesis de una subpoblación de bacterias *biofilm* con un estado fenotípico muy especial y altamente protegido, con una diferenciación semejante a endosporas. Se basa en investigaciones que muestran resistencia en *biofilms* recientemente formados, aun cuando éstos son demasiado delgados para constituir una barrera a la penetración de agentes antimicrobianos (Stewart y Costerton, 2001).

La unión bacteriana a una superficie, y la formación paulatina de *biofilm*, requieren de “comunicación” entre sus integrantes, aspecto que en la carrera por la supervivencia en los procesos infecciosos marca la diferencia entre matar o morir (Bauer y Robinson, 2002; Bauer y Mathesius, 2004). El proceso infeccioso depende, en primer lugar, de la capacidad de las células bacterianas de llevar a cabo un ataque masivo capaz de sobrepasar, en un breve lapso, los mecanismos defensivos del hospedero. “Saber” en qué momento la densidad poblacional bacteriana es la adecuada para iniciar el ataque es una información vital dentro de la “estrategia invasiva”.

En los '90 del pasado siglo se constató la existencia de señales químicas que regulaban las funciones de la población en los *biofilms*. Cuando una bacteria se une a una superficie produce una molécula señal (autoinductor); mientras más se unan (quorum) mayores serán las concentraciones locales de la señal (sensing). Las bacterias se comunican unas con otras mediante moléculas señales denominadas “autoinductores”. El proceso de comunicación se denomina *quorum sensing* (QS), a través del mismo las bacterias sincronizan respuestas y comportamientos que las capacitan para enfrentar tareas imposibles de acometer de forma planctónica (Bauer y Robinson, 2002; Bauer y Mathesius, 2004; Waters y Bassler, 2005; Ramadan, 2006; Nazar, 2007).

Por otro lado, las plantas y otros organismos eucarióticos han desarrollado mecanismos para tomar ventaja de esta dependencia de información, secretando moléculas imitadoras de señales de QS con las que intervienen en las comunicaciones y manipulan el comportamiento bacteriano. Este hallazgo, al que se ha denominado *quorum quenching* (del inglés, *quench* = apagar), ofrece nuevas alternativas para el control de patógenos bacterianos de interés clínico y agrícola (Bauer y Robinson, 2002; Bauer y Mathesius, 2004; Waters y Bassler, 2005; Ramadan, 2006; Nazar, 2007).

En los años posteriores se ha ido dilucidando la genética que rige la señalización célula-célula y la traslocación coordinada de genes responsables de factores de defensa y virulencia (Scott y Manning, 2003) que determinan la producción de factores de virulencia, la invasividad, e incluso el abandono del sustrato (entre ellos los hospederos humanos o animales) y la búsqueda de nuevas opciones (nuevos hospederos) (de Kievit e Iglewski, 2000), todo lo cual resulta imprescindible para quienes traten de comprender los mecanismos de infección en las enfermedades de etiología bacteriana así como la resistencia de estos agentes en las enfermedades crónicas. En tal sentido, resultan muy útiles las revisiones de Laza *et al.* (s.a) y Nazar (2007).

El otro lado del problema

Lo hasta aquí expuesto ha tenido la finalidad de mostrar cómo los antimicrobianos (incluidos metales pesados, plaguicidas, etc.), ejercen una selección favorable a muchos patógenos entre los que figuran protagonistas de las llamadas enfermedades reemergentes, los

que, junto a sus atributos de virulencia, disponen de un “escudo polirresistente”, que les diferencia de sus célebres ancestros (Barreto y Rodríguez, 2006).

Algunos farmacólogos han afirmado: “... Se están investigando nuevas alternativas a los antibióticos para la terapia antiinfecciosa, pero es más que probable que las bacterias acaben ganando también esta batalla. Por lo tanto, es más razonable actuar sobre el otro lado del problema, es decir, reducir la presión selectiva tan brutal que nosotros introducimos con el uso masivo de los antibióticos” (Mediavilla *et al.*, 1997). Y es justamente para actuar sobre el otro lado del problema que se precisa de un salto a finales del XIX.

Mucho antes de que términos como quimioterápicos, antibióticos o antimicrobianos vieran la luz, ya el fenómeno de antagonismo microbiano había sido apreciado por hombres de la talla de Pasteur, Jouvert y Tyndall, quienes sólo tomaron nota al respecto, y es Fleming el que saca partido al hecho; pero su versión se va por el carril de los quimioterapéuticos (Barreto y Rodríguez, 2006). Otro clásico, el ucraniano Ilie Metchnikoff, en 1891 (citado por Barreto y Rodríguez, 2006), propuso la ingestión de “bacilos búlgaros” (*Lactobacillus bulgaricus*) para combatir la disentería. “Todo consistía en sustituir un microorganismo indeseable por otro inofensivo”. La idea resultó un éxito. Lamentablemente, aunque reconocido como el Padre de los Probióticos el siglo pasado, murió sin tal gloria; tampoco dedicó más atención a su propuesta, sumido en otras tareas que más bien le alejaron de este promisorio camino (Barreto y Rodríguez, 2006).

Los microorganismos también tienen sus conflictos, no es una exclusividad humana. La lucha por sustratos y nichos ecológicos generan una competencia que determina la supervivencia de los más aptos. Partiendo de este presupuesto, en la medida que se propician condiciones para las microbiotas naturales del organismo, se está limitando el establecimiento de patógenos u oportunistas (Torres, 2002).

Para vegetarianos, naturistas y cuantos abordan el tema de la salud al margen de terapéuticas convencionales, el intestino resulta el órgano más importante en lo que a salud se refiere (Torres, 2002; Barreto y Rodríguez, 2006). La microbiota del colon constituye un ecosistema donde muchas especies participan de ciclos vitales, en un ámbito de gran biodiversidad —entiéndase *biofilms*—. Unas especies viven de los productos generados por otras, y a su vez la actividad metabólica de ambas

beneficia a terceras. Las bacterias de la flora están adaptadas a su hábitat porque están asociadas con la vida del hombre y los animales desde hace milenios y han evolucionado junto a ellos (Guarner, 2000; Torres, 2002; Gaskins, 2005; Barreto y Rodríguez, 2006). El tubo digestivo de los recién nacidos está completamente libre de microorganismos; la flora bacteriana se comienza a adquirir inmediatamente después del nacimiento y progresivamente se establece un microsistema en el que se observa un predominio de bacterias anaeróbicas estrictas asporógenas (Joklik *et al.*, 1983). La función principal de la flora del colon es la fermentación de los sustratos no digeribles de la dieta y del moco producido por el epitelio intestinal (Roberfroid *et al.*, 1995). Esta actividad permite recuperar energía metabólica, sustratos absorbibles y que prolifere la población de microorganismos.

En los '90, como fruto de nuevos estilos de vida y la preocupación por elevar su calidad, comenzaron a desarrollarse nuevos conceptos en nutrición. Los aportes de la biología molecular, la biotecnología y la nutrición constituyeron salto cualitativo. Así, a partir del concepto "alimento sano", asignado a aquellos carentes de riesgo para la salud y que conservan su capacidad nutricional, se propuso: "alimento funcional", aplicable a productos, alimentos modificados o ingredientes alimentarios que provean beneficios a la salud superiores a los ofrecidos por los alimentos sanos. El efecto positivo de un alimento funcional puede repercutir tanto en el mantenimiento del estado de salud como en la reducción del riesgo de padecer enfermedades (Diplock *et al.*, 1991).

Parker (1974) acuñó el término "probiótico" (del griego, para la vida) aplicable a todos los "organismos y sustancias que contribuyeran al balance de la microflora intestinal". Otro detalle a destacar fue el título de su artículo: "Probiotics, The Other Half of The Antibiotic Story", algo que, de inmediato, recuerda lo sugerido por Mediavilla *et al.* (1997). Cinco años después, Fuller (1979) acotó el significado a "alimentos con microorganismos que aportaban beneficios al hospedero animal mediante efectos en el balance microbiano intestinal". Aunque en esencia no ha variado, recientemente Schrezenmeier y de Vrese (2001) propusieron "preparaciones o productos que contengan microorganismos específicos viables en número suficiente para alterar la

microflora de compartimientos del hospedero (por instauración o colonización) debido a lo cual ejercían su efecto beneficioso en el mismo".

Gibson y Roberfroid (1995) introdujeron el concepto de prebiótico para "ingredientes no digeribles de los alimentos que influían beneficiosamente en la salud del hospedero por estimulación selectiva del crecimiento de una, o de un limitado número de bacterias del colon". En el propio artículo proponen el término "simbiótico" para aquellos productos caracterizados por la presencia conjunta de prebióticos y probióticos, más efectivos que aquellos que sólo incorporaban el probiótico (de las Cagigas y Blanco, 2002).

Los alimentos prebióticos son generalmente hidratos de carbono no digeribles. Se usan principalmente en la industria alimentaria como ingredientes funcionales en productos dietéticos, lácteos, alimentos infantiles y alimentos para animales. También se emplean en la industria farmacéutica y cosmética. En la edición 2008 del Premio Madrid a las Mejores Patentes, se otorgó el primer premio a la titulada "Nueva enzima para la obtención de oligosacáridos prebióticos", que propone una tecnología para producir una enzima capaz de sintetizar oligosacáridos prebióticos a partir de azúcares simples presentes en residuales agrícolas (Noticia SEM, 2009).

Se han sugerido diversas hipótesis para explicar la acción de los prebióticos, tanto en su efecto estimulante sobre los probióticos como *per se*. Los prebióticos interfieren la unión de patógenos a receptores del hospedero. Se ha demostrado que propician la adhesión de dichos patógenos sobre sí (Rasta *et al.*, 2002). Al respecto, parece ser el mecanismo que justifica la acción curativa de muchos de las infusiones y decocciones de plantas utilizadas ampliamente desde tiempos inmemoriales por la humanidad, fundamentalmente aquellas destinadas al tratamiento de infecciones del tracto urinario y gastrointestinal (Barreto *et al.*, 1993b, c, 1995, 1998, 2001a, b, 2002, 2006; Rasta *et al.*, 2002; Abreu *et al.*, 2003).

La palabra "nutracéutico" se aplica a alimentos, o partes de ellos, que brinden beneficios a la salud tanto desde el punto de vista preventivo de enfermedades como para su tratamiento, por lo que poseen propiedades funcionales además de su aporte nutricional. En los últimos años quienes se ocupan de investigaciones en este campo han concluido que el papel primario de cualquier dieta va más allá de suplir las necesidades que demandan los reque-

rimientos metabólicos, también es imperioso modular determinadas funciones del organismo, razón por la que cada día se prefiere aquellos alimentos que promuevan salud. Las setas constituyen un excelente ejemplo al respecto y han dado lugar al término miconutracéutico, que se refiere a aquellas sustancias presentes en los hongos comestibles y que se ajustan a lo planteado anteriormente (Oyetayo, 2008).

Las propiedades medicinales de los hongos comestibles apenas se están explotando, pese a que sus evidencias existen desde la antigüedad. Sólo el 10 % de las especies existentes se han clasificado y de ellas una parte es la que se ha investigado. Indiscutiblemente, constituyen una vasta fuente de productos de interés farmacológico (Lindequist *et al.*, 2005) además de su aporte nutricional (Aletor, 1993; Alofe *et al.*, 1996; Ola y Oboh, 2000, 2001).

Como señala Stamets (2002), los hongos y los animales están más relacionados que estos últimos y las plantas, desde el punto de vista evolutivo, razón por la que enfermedades comunes a plantas no afectan al humano ni al resto de los animales que sí comparten con los hongos múltiples antagonistas como *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, entre otros; este es el fundamento para aprovechar los productos naturales elaborados por los hongos en sus estrategias naturales de enfrentamiento a microorganismos rivales; no por simple casualidad buena parte de los antibióticos tienen ese origen.

En este caso, la propuesta nada tiene que ver con antibióticos; sí con otras cualidades de los hongos comestibles que los convierten en nutraceuticos por excelencia. Está demostrado que promueven selectivamente el crecimiento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en el intestino grueso (Oyetayo y Oyetayo, 2005; Synytsya *et al.*, 2009). Este efecto se asocia a su alto contenido de β -glucanos, que se comportan como prebióticos (Synytsya *et al.*, 2009).

Las setas representan una fuente ilimitada de polisacáridos con efectos positivos en la salud humana, muy en especial en su sistema inmune (Lindequist *et al.*, 2005). Incrementan la inmunorreactividad al activar a macrófagos, linfocitos T citotóxicos y células asesinas naturales (NK) (Ikekawa, 2000; Feng *et al.*, 2001). Por lo antes expuesto se plantea que estimulan respuestas antitumorales en los hospederos (Wasser, 2002).

En los hongos comestibles investigados se han constatado niveles elevados de compuestos fenó-

licos y ácido ascórbico, ambos excelentes antioxidantes (Puttaraju *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2007; Oyetayo, 2007), con una efectividad compatible a la de antioxidantes sintéticos, y sin sus efectos colaterales (Oyetayo, 2008). Se les atribuyen múltiples beneficios a la salud como: hepatoprotectores, antivirales, antiinflamatorios, antiestrés y muchos más.

Este trabajo pretende, modestamente, llamar atención sobre esta variante nutraceutica, idónea en Cuba, pues representa además una fuente de proteína muy aceptable. Con ese mismo fin, el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), ha desempeñado un papel prominente en el asesoramiento técnico y teórico de la población para el desarrollo de cultivos artesanales de estos hongos en Cuba, en el marco de la denominada agricultura urbana. Esta modalidad constituye una alternativa promisoriosa para mejorar los niveles de vida de los pequeños productores a la par que contribuye a garantizar una fuente alimentaria de calidad a la población (Castañeda y Zani, 2006).

Mucho de lo expuesto en cuanto a nutraceuticos, prebióticos y probióticos, se sustenta en los resultados obtenidos al aplicarlos en humanos; sin embargo, algo se ha hecho en las producciones pecuarias, como se resumirá a continuación.

Prebióticos y probióticos en las producciones pecuarias

Las necesidades de incrementar las producciones animales han conllevado a sistemas de manejo intensivo que tienen un talón de Aquiles: los animales presentan desbalance bacteriano entérico que, entre otras causas, da lugar a insuficiente conversión de los nutrientes y a retardo en el crecimiento. La solución a estas dificultades ha sido suplementar las dietas con antibióticos (o antimicrobianos como el sulfato cúprico) que actúan como promotores de crecimiento (Parker, 1974). Aunque esta práctica está vetada desde los años 80 del pasado siglo, algunos países siguen aplicándola. Se ha comprobado que tales promotores tienen una influencia negativa en la composición de la microflora gastrointestinal, muy en especial sobre los *Lactobacillus*, muy sensibles a ellos. Esta práctica, además de promover antibiorresistencia bacteriana, constituye otro riesgo debido a su persistencia como residuales en las carnes, huevos, leches y otros productos de origen animal (Díaz *et al.*, 2008).

Si como se ha planteado, los antibióticos y las sales de cobre repercuten tan negativamente, ¿habrá que renunciar al uso de promotores de crecimiento

en las producciones intensivas? En lo absoluto, ante esta situación los prebióticos, probióticos y nutraceuticos constituyen alternativas idóneas pues evitan los desordenes intestinales, previenen las enfermedades, no constituyen residuales nocivos para el consumidor y el entorno y, en el caso de los probióticos y nutraceuticos, constituyen una fuente nutritiva por excelencia (Barreto y Rodríguez, 2006; Díaz *et al.*, 2008).

De estas tres categorías, los probióticos, indiscutiblemente, son los más utilizados en la esfera de la salud animal, luego que Parker los aplicara por vez primera durante los años 60 del pasado siglo, sin aún darles el nombre con el que se les conoce en la actualidad (Parker, 1974).

Resulta curioso que la mayoría de las bacterias con actividad probiótica son grampositivas algo que contrasta con las enteropatógenas, gramnegativas (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, etc.). Son diversos los microorganismos que presentan actividad probiótica y además cuentan con un respetable aval por su aplicación en las producciones pecuarias (Díaz *et al.*, 2008). Se destacan:

- Bacterias lácticas no esporuladas: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. lactis* y *L. cellobiosus*.
- Bacterias esporuladas no lácticas: *Bacillus subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii* y *B. licheniformis*.
- Bacterias lácticas esporuladas grampositivas: *Sporolactobacillus inulinus*
- Mohos: *Aspergillus niger* y *A. oryzae*.
- Levaduras: *Saccharomyces cerevisiae* y *S. boulardii*.

Los probióticos en las producciones bovinas tempranas

En muchas tecnologías para la producción bovina los terneros se separan de sus madres, limitando su ingestión de flora intestinal, potencialmente protectora. Luego se les transporta a sitios distantes donde se mezclan con otros y, por lo general, son alimentados de forma inadecuada (Díaz *et al.*, 2008).

La diarrea es la causa principal de morbilidad y mortalidad en las fases tempranas de la vida del ternero, y el primer pico de enfermedades respiratorias ocurre a las cuatro semanas de vida, causando pérdidas económicas sustanciales por medicación y retraso en el crecimiento (Díaz *et al.*, 2008). Según Anon (2006), lo descrito es consecuencia de: la disminución del consumo de leche, la pérdida de la función de barrera del in-

testino y el deterioro de la función inmune. Este autor afirma que durante los eventos de estrés la microbiota decrece, cediendo terreno a los enteropatógenos, relación que puede invertirse con el uso de preparados probióticos.

Milerman *et al.* (1980) señalaron que los disacáridos —u oligosacáridos como la sacarosa— no se digieren en los primeros días de vida por las enzimas intestinales de los terneros lactantes, pero son aprovechados por *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* del tracto gastrointestinal (TGI) como fuentes de carbono y energía. Sin embargo, patógenos como *E. coli* enteropatógenas, fundamentalmente las enterotoxigénicas (ECET), y *Salmonella* no pueden utilizarlos como nutrientes. Se ha comprobado, además, que la manosa reduce la adherencia de ECET, en especial las que portan fimbrias tipo I (muy comunes en las colibacilosis del ternero), de ahí que alimentos ricos en mananos inhiban el establecimiento de ECET y propicien el auge de la microbiota protectora (Barreto y Rodríguez, 2006; Díaz *et al.*, 2008).

El uso de aditivos probióticos en rumiantes, específicamente en terneros, influye positivamente sobre parámetros fisiológicos, inmunológicos y productivos (Díaz *et al.*, 2008).

¿Cómo seleccionar el probiótico adecuado?

Cuando el productor decide utilizar alguna de las variantes propuestas como promotor de crecimiento o como nutraceutico, debe tener en cuenta la especie animal y la forma en la que suministrará este preparado. Y es que el uso de probióticos y nutraceuticos implica reglas que no pueden violarse:

La especie de destino: no se comporta igual un monogástrico que un rumiante; las condiciones de cada sistema digestivo varía entre especies. El probiótico idóneo para bovino tal vez no lo sea para ovino-caprino, equino o aves (Tartar y Vargas, 1997).

Otros criterios útiles (Torres, 2002; Díaz *et al.*, 2008) al seleccionar el probiótico son:

- Que sean parte de la microbiota del animal.
- Número mínimo de microorganismos por gramo de producto comercial con efecto probiótico.
- Propiedades tecnológicas: alta estabilidad luego de procedimientos como el secado y el recubrimiento.
- Habilidad de los microorganismos para adherirse a la mucosa del intestino (o rumen) y elevada velocidad de crecimiento en tales condiciones.

- Secreción de sustancias bacteriostáticas y bactericidas.
- Buenas propiedades para fusionarse en cualquier mezcla alimenticia.
- Ser viables a temperatura ambiente mientras están mezclados en el alimento.
- Resistencia a las temperaturas de producción (en muchos piensos se prefiere emplear endosporas en lugar de las propias bacterias) y prolongada viabilidad en el producto o fórmula diseñada.

Las levaduras como probióticos

Pese al reconocimiento ganado por las bacterias ácido lácticas durante años, corresponde a las levaduras el rol protagonista entre los probióticos más utilizados en alimentación animal, tanto en monogástricos como en rumiantes. Como es de esperar, *Saccharomyces* spp., destaca al respecto. Las mejores respuestas en rumiantes se han observado en vacas lecheras. Los efectos reconocidos se atribuyen al aumento de la celulolisis ruminal y al flujo de proteína microbiana al intestino (Díaz *et al.*, 2008).

Los mecanismos de acción utilizados por las levaduras para ejercer sus efectos en la digestión de los rumiantes son diversos. Entre ellos está el abastecimiento de ácidos orgánicos o vitaminas que estimulan el crecimiento de bacterias y hongos y la producción de péptidos pequeños estimulantes (Díaz *et al.*, 2008).

Otros efectos se explican por estimulación del crecimiento de la bacteria *Selenomona ruminantium* que, al consumir lactato, estabiliza el pH a 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 al consumo de materia seca (Díaz *et al.*, 2008).

La inclusión de levaduras reordena el funcionamiento del rumen por la estimulación de las poblaciones acetogénicas que compiten con las metanogénicas por la utilización del hidrógeno (Chaucheyras *et al.*, 1995). La reducción de la actividad de las bacterias productoras de metano y una estimulación en la formación de ácidos grasos modifican el metabolismo de la energía glucosídica de la masa microbiana y, consecuentemente, de las proteínas digeribles (Anon, 2006). El uso de levaduras pro-

pone una opción para disminuir las grandes pérdidas económicas que por este concepto ocurren a nivel mundial, así como la contaminación ambiental que provoca este gas (Díaz *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

Tras la lectura de lo expuesto pueden realizarse algunas consideraciones generales. Las bacterias, por su extensa participación en la historia planetaria, constituyen las formas vivas mejor adaptadas a las condiciones actuales. En los últimos 60 años, fruto de la gran contaminación ambiental y del uso muchas veces indiscriminado de antimicrobianos, se han seleccionado biotipos con polirresistencia que, además, aúnan factores de virulencia múltiples. Lo expresado en modo alguno niega el valor que ha desempeñado, y tiene en la actualidad, la quimioterapia, simplemente llama a la reflexión en lo referente a utilizarla de forma racional. En tal sentido se impone el desarrollo de técnicas que permitan evaluar la sensibilidad antimicrobiana de bacterias como biofilms, variante que minimizaría las diferencias entre los resultados *in vitro* y la realidad. También, y sin que ello demerite la antibioterapia, es preciso explotar más el papel protector de las microbiotas naturales del organismo; múltiples son los ejemplos en la esfera humana asociados al consumo de nutracéuticos. En el campo veterinario, el uso de prebióticos y probióticos también puede ejercer un impacto positivo en las microbiotas intestinal y ruminal, que redunden en la salud animal.

REFERENCIAS

- ABREU, O.; CUELLAR, A.; BARRETO, G. (junio 23-28, 2003). *Vaccinium macrocarpon* Ait. (Ericaceae) líder en la interferencia de la adhesividad fimbrial de *E. coli* urpatógena. Memorias de VII Simposio de Botánica. [CD-ROM]. La Habana: Instituto de Ecología y Sistemática.
- ALETOR, V. A. (1993). Allelochemicals in Plant Foods and Feedingstuffs: 1. Nutritional, Biochemical and Physiopathological Aspects in Animal Production. *Veterinary and Human Toxicology*, 35 (1), 57-67.
- ALOFÉ, F. V.; ODEYEMI, A. O. y OKE, O. L. (1996): Three Wild Mushrooms from Nigeria: Their Proximate and Mineral Composition. *Plant Food for Human Nutrition*, 49, 63-7.
- ANON, A. (2006). *Sustitutos lácteos para terneros con especies de lactobacillus de fuentes diferentes*. Extraído en 2006, desde www.cuencarural.com/ganaderia/bovinos.
- BARRETO, G.; SÓÑORA, NIURKA; VÁZQUEZ, L.; RODRÍGUEZ, H.; VELÁZQUEZ, B. y GUEVARA, G.

- (1993a): Acumulación de cepas de *E. coli* con una mayor virulencia debido a cambios en el ecosistema. *Rev. Prod. Anim.*, 7 (3), 137-140.
- BARRETO, G.; RAMOS, O.; LEZCANO, Y.; VELÁZQUEZ, B.; MORENO, M. y PARDO, G. (1993b): Efecto de un medicamento a base de eucalipto (Eucabev) sobre la producción de los factores de colonización F4 y F5 de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC). *Rev. Prod. Anim.*, 7 (1 y 2), 73-76.
- BARRETO, G.; VELÁZQUEZ, B.; MORENO, M.; RAMOS, O.; LEZCANO, Y. y RODRÍGUEZ, H. (1993c): Efecto de un medicamento a base de eucalipto (Eucabev) sobre los receptores para F5 de *E. coli* enterotoxigénico (ETEC). *Rev. Prod. Anim.*, 7 (3), 135-136.
- BARRETO, G.; PAZOS, M.; PARDO, G.; MARTÍN, M. y DÍAZ, S. (1995): Efecto de extractos de *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus citriodora* sobre el factor de colonización F4. *Rev. Prod. Anim.*, 9, 68-70.
- BARRETO, G.; JIMÉNEZ, O.; PRIETO, M.; ALONSO, K., ESTÉVEZ, M. y GUERRA, A. (1998): Efecto de extractos de *Achirantes aspera* sobre *E. coli* uropatógena. *Archivo Médico de Camagüey*, 2 (3).
- BARRETO, G.; CAMPAL, A.; ABREU, O. y VELÁZQUEZ, B. (2001a): El bloqueo de la adhesión fimbrial como opción terapéutica. *Rev. Prod. Anim.*, 13 (1), 71-82.
- BARRETO, G. y CAMPAL, A. (2001b): Efectos de extractos de *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus citriodora* sobre la viabilidad y adhesión fimbrial (K88 y CFA/I) de ECET. *Rev. Prod. Anim.*, 13 (2), 67-75.
- BARRETO, G.; REYNOSO, A y CAMPAL, A. (2002): Elementos para el tamizaje a plantas que evalúe su acción sobre la adhesividad fimbrial bacteriana. *Rev. Prod. Anim.* 14 (2): 47-51.
- BARRETO, G.; CAMPAL, A. y ABREU, O. (2006): *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus citriodora*. Evaluación de extractos diversos de ambos en la viabilidad y expresión fimbrial de *Escherichia coli* enterotoxigénica. Extraído en 2006, desde <http://www.monografias.com/trabajos39/eucalyptus-extractos/eucalyptus-extractos.shtml>
- BARRETO, G. y RODRÍGUEZ, H. (2006): *Impacto del entorno en la virulencia bacteriana*. Extraído en 2006, desde <http://www.monografias.com/trabajos37/virulencia-bacteriana/virulencia-bacteriana2.shtml>
- BARRETO, G. y RODRÍGUEZ, H. (2007): La cápsula, algo más que una estructura no esencial (Revisión). *Rev. Prod. Anim.*, 20 (1), 69-80.
- BARRETO, G.; SEDRÉS, M.; RODRÍGUEZ, H. y GUEVARA, G. (2010): Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en la provincia de Camagüey durante el período 2000-2008. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*, 11 (2), 1695-7504. Extraído en febrero de 2010, desde <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020210.html>
- BAUER, W. D.; ROBINSON, J. B. (2002): Disruption of Bacterial Quorum Sensing by Other Organisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 234-237.
- BAUER, W. D. y MATHESIUS, U. (2004): Plants Responses to Bacterial Quorum Sensing Signals. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 429-433.
- BENGMARK, S. (1999): Gut Microenvironment and Immune Function. *To Current Opinion*, February, 20-27.
- BENGOA, J. M. (2009): *Panorama mundial de la desnutrición en el siglo xx*. Venezuela: Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Extraído en mayo de 2009, desde http://www.slan.org.ve/publicaciones/completas/panorama_mundial_desnutricion_siglo_xx.asp.
- CASTAÑEDA, R. F. y ZANI, F. (2006): *El cultivo artesanal de hongos comestibles. Instructivo técnico* (p. 7). La Habana, Cuba: Unidad de Producciones Gráficas del MINREX.
- CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G. y GOUET, P. (1995): *In vitro* H₂ Utilization By a Ruminant 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., 3466-3467.
- CHOLE, R. A. y FADDIS, B. T. (2003): Anatomical Evidence of Microbial Biofilms in Tonsillar Tissues: A Possible Mechanism to Explain Chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.*, 129, 634-636.
- CISNEROS, R. I.; BARRETO, G.; GUEVARA, G. y RODRÍGUEZ, H. (2008): *Presencia de Shigella spp y resistencia al ácido nalidixico en la provincia de Camagüey, Cuba*. Extraído en 2008, desde <http://www.monografias.com/trabajos59/shigellaspp-resistente-acido-nalidixico-cuba/shigellaspp-resistente-acido-nalidixico-cuba.shtml>.
- COSTERTON, J. W.; GESEY, G. G. y CHENG, K. J. (1978): How Bacteria Stick. *Sci Am.*, 238, 86-95.
- COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R. y LAPPIN-SCOTT, H. M. (1995): *Microbial biofilms*. *Annu Rev Microbiol.*, 49, 711-745.
- DE LAS CAGIGAS, A. L. y BLANCO, J. (2002): Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. *Revista Cubana Aliment Nutr.*, 16 (1), 63-8.
- DE KIEVIT, T. R. y IGLEWSKI, B. H. (2000): Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationship. *Infection and Immunity*, 68, 4839-4849.

- DÍAZ, A.; LAURENCIO, M. y PÉREZ, M. (2008): *Los probióticos y su empleo en los rumiantes*. Extraído en 2008 desde <http://www.umcc.cu/gestacad/monos%5C2008%5CAgronomia%5Cm083.pdf>.
- DIPLOCK, A. T.; AGGETT, P. J.; ASHWEEL, M.; BORNET, F.; FERN, E. B.; ROBERFROID, M. (1991): Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Documents. *Br J Nutr.*, 81, S1.
- DONLAN, R. M. (2002): Microbial Life on Surfaces. *Emerg Infect Dis.*, 8 (9), 881-90.
- EARSS (2005): *Annual Report of European Antimicrobial Resistance Surveillance System*. Extraído en 2005, desde <http://www.rivm.nl/earss>.
- EASAC (2007): *Tackling Antibacterial Resistance in Europe*. European Academies Science Advisory Council. Extraído en 2007, desde <http://www.easac.eu/document.asp?id=68&pageno=1&detail=1&parent=31>.
- EFSA (2008): Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on A Request from the European Food Safety Authority on Foodborne Antimicrobial Resistance as a Biological Hazard. *The EFSA Journal*, 765, 1-87.
- El origen de la tierra y la vida. (2005). Extraído en 2005, desde <http://www.140.198.160.119/bio/bio181/BIOBK/BioBookCELL1.html>.
- FALAGAS, M. E. y BLIZIOTIS, I. A. (2007): Pandrug-Resistant Gram-Negative Bacteria: The Dawn of The Post-Antibiotic era? *Int. J. Antimicrob. Agents*, 29, 630-636.
- FENG, W.; NAGAI, J. y IKEKAWA, T. (2001): A Clinical Pilot Study of EEM for Advanced Cancer Treatment with EEM for Improvement of Cachexia and Immune Function Compared with MPA. *Biotherapy*, 15, 691-696.
- FERREIRA, ICFR; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M. y BARROS, L. (2007): Free-Radical Scavenging Capacity and Reducing Power of Wild Edible Mushrooms from Northeast Portugal: Individual Cap And Stipe Activity. *Food Chemistry*, 100, 1511-1516.
- FRENCH, G. L. (2005): Clinical Impact and Relevance of Antibiotic Resistance. *Adv Drug Deliv Rev.*, 57, 1514-1527.
- FULLER, R. (1979): Probiotics in Man and Animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- GASKINS, R. H. (2005): *Host and Intestinal Microbiota Negotiations in the Context of Animal Growth Efficiency*. Midwest Swine Nutrition Conference Proceedings, September 8, pp. 35-43, Indianapolis, Indiana.
- GIBSON, G. R. y ROBERFROID, M. B. (1995): Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- GUARNER, F. (2000): El colon como órgano: habitat de la flora intestinal. *Alim Nutr Salud*, 7 (4), 99-106.
- HARBARTH, S. y SAMORE, M. H. (2005): Antimicrobial Resistance Determinants and Future Control. *Emerg Infect Dis.*, 11, 794-801.
- HARNETT, N. M. y GYLES, C. L. (1984): Drug and Heavy Metal Resistance, Colicin Production and Biochemical Characteristic of Selected Bovine and Porcine *E. coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 930-935.
- HARNETT, N. M. y GYLES, C. L. (1985): Linkage of Genes for Heat-stable Enterotoxin, Drug Resistance, K99 Antigen, and Colicin Production in Bovine and Porcine Strains of Enterotoxigenic *E. coli*. *Am. J. Vet. Res.*, 46 (2), 428-433.
- IKEKAWA, T. (2000): On Biological Activity of Mushrooms. *Biotherapy*, 14, 945-951.
- JANSEN, W. T.; VAN DER BRUGGEN, J. T.; VERHOEF, J. y FLUIT, A. C. (2006): Bacterial Resistance: A Sensitive Issue Complexity of the Challenge and Containment Strategy in Europe. *Drug Resist Updat.*, 9, 123-33.
- JOKLIK, W. K., WILLET, H. y AMOS, D. B. (1983): *Zins-ser Microbiología* (t. I, p. 761). Edición Revolucionaria.
- La materia se auto organiza (1999). Extraído en 1999, desde http://www.muyinteresante.es/canales/muy_act/anterior/mayo99/articulo2.htm.
- LASA, I.; DEL POZO, J. L.; PENADÉS, J. R. y LEIVA, J. (s.a.): *Bacterianos*. Extraído en 2008, desde www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2.
- LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T. H. J. y JULICH, W. D. (2005): The Pharmacological Potential of Mushrooms-Review. *E CAM.*, 2 (3), 285-299.
- MEDIAVILLA, A.; FLOREZ, J. y GARCÍA-LOBO, J. M. (1997): Farmacología de las enfermedades infecciosas: principios generales, selección y asociación de antibióticos. En J. Florez, J. A. Armijo y A. Mediavilla (Dir.), *Farmacología Humana* (pp. 1061-1083). Barcelona: Ed. Masson S. A.
- MILERMAN, D.; ALTMAN, G. y ESHDAT, Y. (1980): Screening of Bacteria Isolates for Mannose-specific Lectin Activity by Agglutination of Yeast. *Journal of Clinical Microbiology*, 11, 328-332.
- NAZAR, J. (2007): Biofilms bacterianos. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, 67, 61-72.
- NOTICIA SEM. (2009). Boletín electrónico mensual de la Sociedad Española de Microbiología (SEM). abril (22). extraído en 2009, desde <http://www.semico.es/pdf/noticia/22.pdf?PHPSESSID>.
- OLA, F. L. y OBOH, G. (2000): Food Value of Two Nigerian Edible Mushrooms *T. Robustus* and *T. Striatus*. *Journal of Technoscience*, 4, 1-3.
- OLA, F. L. y OBOH, G. (2001): Nutrient Distribution and Zinc Bioavailability. Estimation in Some Tropical Edible Mushrooms. *Nahrung*, 45, 67-68.

- ORÍGENES DEL PLANETA TIERRA (2001). extraído en 2001, desde http://www.educared.net/concurso2001/247/origenes_del_planeta_tierra.htm.
- OYETAYO, V. O. y OYETAYO, F. L. (2005): Preliminary Investigation of Health Promoting Potentials of *Lactobacillus Fermentum* OVL and *Plerotus Sajor Caju* Administered to Rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4 (2), 73-77.
- OYETAYO, F. L. (2007): Potential Antioxidant Properties of Nigerian Edible Mushrooms. *Agrofood Industry Hi-tech*, 18 (4), 44-45.
- OYETAYO, V. O. (2008): Mushrooms Indigenous to Nigeria as Potential Source of Myconutraceuticals. *A Review Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2 (4), 471-477.
- PARKER, R. B. (1974): Probiotics, The Other Half of The Antibiotic Story. *Animal Nutritional Health*, 29, 4-8.
- POST, J. C.; STOODLEY, P.; HALL-STOODLEY, L. y EHRlich, G. D. (2004): The Role of In Otolaryngologic Infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.*, 12, 185-190.
- PRESCOT, L. M.; HARLEY, J. P. y KLEIN, D. A. (2004): *Microbiología* (5^a ed.). Madrid: McGraw Hill Interamericana.
- PUTTARAJU, N. G.; VENKATESHAIAH, S. U.; DHARMESH, S. M.; URS, S. M. y SOMASUNDARAM, R. (2006): Antioxidant Activity of Indigenous Edible Mushrooms. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (26), 9764-9772.
- RAMADAN, H. H.; SANCLEMENT, J. A. y THOMAS, J. G. (2005): Chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.*, 132, 414-7.
- RAMADAN, H. H. (2006): Chronic Rhinosinusitis and Bacterial. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.*, 14 (3), 183-186.
- RASTA, B.; HOTCHKISS, A.; HUTKINS, B.; COTE, G. y RHOADES, J. (2002): *Report from the Second Generation Probiotics Working Group ISAPP Meeting*. Extraído el 5 de mayo de 2008, desde http://www.isapp.net/docs/2nd_gen_prebiotics_mscrpt.pdf.
- ROBERFROID, M. B.; BORNET, F.; BOULEY, C. y CUMMING, J. H. (1995): Colonic Microflora: Nutrition and Health. *Nutr Rev.*, 53, 127-30.
- RODRÍGUEZ, H.; BARRETO, G.; SEDRÉS, M. y GUEVARA, G. (2009): Comportamiento de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en la provincia de Camagüey según el tipo de muestra analizado. *Rev. Prod. Anim.*, 20 (1), 81-88.
- SANCLEMENT, J. A.; WEBSTER, P. L.; THOMAS, J. y RAMADAN, H. H. (2005): Bacterial in Surgical Specimens of Patients with Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 115, 578-582.
- SANDERSON, A. R.; LEID, J. G. y HUNSAKER, D. (2006): Bacterial on the Sinus Mucosa of Human Subjects with Chronic Rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 116, 1121-1126.
- SCENIHR (2009). *Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides*. 28th plenary of Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, January 19. extraído en 2009, desde http://ec.europa.eu/health/ph_risk/risk_en.htm.
- SCOTT, C. y MANNING, S. C. (2003): Basics of Biofilm in Clinical Otolaryngology. *Ear Nose Throat J.*, 82 (suppl), 18-20.
- SCHREZENMEIR, P. y DE VRESE, M. (2001): Probiotics, Prebiotics and Symbiotics-Approaching a Definition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 361S-364S.
- STAMETS, P. (2002): Novel Antimicrobials from Mushrooms. *Herbal Gram.*, 54, 29-33. Extraído en 2002, desde <http://fungi.com/pdf/pdfs/articles/HerbalGram.pdf>.
- STEWART, P. S. y COSTERTON, J. W. (2001): Antibiotic Resistance of Bacteria in *biofilms*. *Lancet*, 358, 135-138.
- SYNYTSYA, A.; MÍČKOVÁ, K.; SYNYTSYA, A.; JABLONSKÝ, I.; SPĚVÁČEK, J.; ERBAN, V.; KOVÁŘIKOVÁ, E. y ČOPIKOVÁ, J. (2009): Glucans from Fruit Bodies of Cultivated Mushrooms *Pleurotus Ostreatus* and *Pleurotus Eryngii*: Structure and Potential Prebiotic Activity. *Carbohydrate Polymers*, 76 (4), 548-556.
- TARTAR, G. y VARGAS, I. M. (1997): La biotecnología en la ganadería. *Normando Colombiano*, 25, 7-9.
- THOMAS, J. G. y NAKAISHI, L. A. (2006): Managing the Complexity of A Dynamic Biofilm. *J. Am. Dent. Assoc.*, 137 (suppl), 10S-15S.
- TORRES, M. R. (2002): *Flora intestinal, prebióticos y salud* (2^{da} ed.). Guadalajara, México: Ed. Gráfica Nueva.
- VAN LEEUWENHOEK, A. (1676): Letter of 9 October 1676 to the Royal Society. London: Royal Society, MS. L.1.20.
- VAN LEEUWENHOEK, A. (1683): Letter of 17 September 1683 to the Royal Society. London: Royal Society, MS. L.1.69.
- Wasser, S. P. (2002): Medicinal Mushrooms as A Source of Antitumour and Immunostimulating Polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60, 258-274.
- WATERS, C. M. y BASSLER, B. L. (2005). *Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria*. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21, 319-346.
- WHO (The World Health Report) (2007). *A Safer Future: Global Public Health Security in the 21st Century*. Extraído en 2007, desde <http://www.who.int/whr/2007/en/index.htm>.

Recibido: 21-4-2009
Aceptado: 17-7-2009