

Probióticos e resposta imune

Probiotics and immune response

Mario de Menezes Coppola¹ Carlos Gil Turnes²

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

Os probióticos são bactérias que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, usadas para prevenir e tratar doenças, como promotores de crescimento e como imunoestimulantes. Nesta revisão abordam-se as principais aplicações dos probióticos, com ênfase nas informações recentes sobre suas propriedades de modular a resposta imune.

Palavras-chave: *probióticos, Saccharomyces boulardii, Bacillus cereus var. toyoi, imunomodulação.*

ABSTRACT

Probiotics are bacteria that produce beneficial effects on their hosts, used in the prevention and treatment of diseases, as growth promoters and immune-modulators. The most important applications of probiotics, with emphasis on their properties to modulate the immune response, are reviewed here.

Key words: *probiotics, Saccharomyces boulardii, Bacillus cereus var. toyoi, immune-modulation.*

INTRODUÇÃO

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida”, sendo o antônimo de antibiótico, que significa “contra a vida”. Ao longo do tempo, esta denominação teve diferentes acepções. LILLY & STILLWEL (1965) a usaram para denominar substâncias secretadas por um protozoário que estimularam o crescimento de outros, e PARKER (1974), para denominar suplementos alimentares destinados a animais, incluindo microrganismos e substâncias que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal. FULLER (1989) considerou que os

probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal, entando HAVENAAR & HUIS IN’T VELD (1992) consideraram que são culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa. Esses autores restringiram o uso desse termo a produtos que contenham microrganismos viáveis que promovem a saúde de humanos ou animais, e que exercem seus efeitos no aparelho digestivo, no trato respiratório superior ou no trato urogenital (HAVENAAR et al., 1992). SCHREZENMEIR & DE VRESE (2001) propuseram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada, que alteram a microbiota própria das mucosas por implantação ou colonização de um sistema do hospedeiro, e que produzem efeitos benéficos em sua saúde.

O termo prebiótico é utilizado, a diferença de probiótico, para designar ingredientes alimentares não digeríveis que beneficiam o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou um número limitado de espécies bacterianas no cólon (GIBSON & ROBERFROID, 1995), e o termo simbiótico para designar produtos que contêm probióticos e prebióticos associados. Como a palavra sugere sinergismo, ela deveria ser restringida a produtos em que o componente prebiótico favoreça seletivamente o probiótico (SCHREZENMEIR & DE VRESE, 2001).

¹Médico Veterinário, Mestre em Ciências, Centro de Biotecnologia e Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).

²Médico Veterinário, Doutor em Ciências, Centro de Biotecnologia e Faculdade de Veterinária, UFPEL, CP 354, 96010-900, Pelotas, RS., Brasil, E-mail: gil@ufpel.tche.br. Autor para correspondência.

Vários microrganismos são usados como probióticos, entre eles bactérias ácido-láticas, bactérias não ácido láticas e leveduras (Tabela 1). Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem ser inócuos, manter-se viáveis por longo tempo durante a estocagem e transporte, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos e possuir propriedades anti-mutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio (HAVENAAR et al., 1992; SALMINEN et al., 1998; OUWEHAND et al., 1999; SAARELA et al., 2000; HOLZAPFEL & SCHILLINGER, 2002).

APLICAÇÕES DOS PROBIÓTICOS

Os probióticos são usados em medicina humana na prevenção e tratamento de doenças, na regulação da microbiota intestinal, em distúrbios do metabolismo gastrointestinal, como imunomoduladores, e na inibição da carcinogênese. Em medicina veterinária, além dessas aplicações, podem também ser usados como

promotores de crescimento, constituindo-se em uma alternativa aos antibióticos, cujo uso indiscriminado pode selecionar cepas resistentes.

MECANISMOS DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS

O modo de ação dos probióticos não foi ainda completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados. Um deles é a exclusão competitiva, em que o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente (HAVENAAR et al., 1992; OUWEHAND et al., 1999; CROSS, 2002). A exclusão competitiva explicaria a necessidade da administração continuada e a elevadas doses dos probióticos, para manifestar seus efeitos.

Os probióticos podem também afetar patógenos através da síntese de bacteriocinas (VILLANI et al., 1995; RODRIGUEZ, 1996; NAIDU et al., 1999), de ácidos orgânicos voláteis (AUDISIO et al., 2000; JIN et al. 2000; OGAWA et al., 2001) e de peróxido de hidrogênio (HAVENAAR et al., 1992;

Tabela 1 - Microrganismos com propriedades de probióticos.

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido láticas	Bactérias não ácido láticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. toyoi
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa nissle
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Adaptado de HOLZAPFEL et al. (2001).

NAIDU et al., 1999), ou atuar sobre o metabolismo celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo (KOZASA, 1986), e liberando enzimas como a lactase (DE VRESE et al., 2001).

Seus efeitos anticarcinogênicos podem ser atribuídos à inibição de enzimas pro-carcinogênicas ou a estimulação do sistema imunitário do hospedeiro. A administração de *Lactobacillus casei* foi relacionada com a indução de uma resposta antitumoral mediada por células T e a ativação de macrófagos (KATO et al., 1988), assim como a supressão da formação de tumores de cólon em camundongos (KATO et al., 1994) e a inibição de metástases pulmonares (MATSUZAKI & YOKOKURA, 1987; MATSUZAKI et al., 1990).

PROBIÓTICOS DE *BACILLUS*

Desde 1990, o Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas desenvolve pesquisas sobre a utilização de probióticos elaborados com *Bacillus cereus* var. *toyoi* destinados a animais. A principal vantagem de *Bacillus* sobre as bactérias ácido lácticas, na elaboração de probióticos, reside em sua capacidade de esporular, o que lhes confere maior sobrevivência durante o trânsito estomacal (HOA et al., 2000), e durante a elaboração, transporte e armazenamento das rações (GIL TURNES et al., 1999). Estes probióticos promovem o ganho de peso e o controle de diarreias, e reduzem a mortalidade perinatal em suínos (ZANI et al., 1998), e em frangos (RICHTER et al., 1999). CUEVAS et al. (2000) comprovaram aumento do ganho de peso e diminuição significativa da mortalidade pela síndrome de ascite em frangos, e LÖHNERT et al. (1999) aumento no ganho de peso de 10% em terneiros machos suplementados com este probiótico.

Outras cepas de *Bacillus* foram também utilizadas com resultados satisfatórios como probióticos. *B. cereus* CIP 5832 produziu efeitos benéficos em porcas durante o fim da prenhez e a lactação, assim como em leitões em crescimento (ALEXOPOULOS et al., 2001).

A eficácia dos probióticos depende da concentração bacteriana na ração. ROTH & KIRCHGESSNER (1988a) comunicaram que o ganho de peso total e a conversão alimentar de leitões melhoraram quando o probiótico foi fornecido nas concentrações de 5×10^8 ou 1×10^9 esporos viáveis por Kg de ração, mas não em concentrações menores. EIDELSBURGER et al. (1992) utilizaram o mesmo probiótico na concentração de $2,5 \times 10^8$ esporos por kg de ração, e o ganho de peso e o consumo de ração

caíram 8,1% e 9,0%, respectivamente, enquanto a conversão alimentar aumentou em 5,6%. KYRIAKIS et al. (1999) relataram que *B. licheniformes* foi mais efetivo no controle de *Escherichia coli* enterotoxigênica em leitões na concentração de 1×10^7 esporos por grama de ração que a uma concentração dez vezes menor. Em terneiros, constatou-se também uma relação entre concentração e eficácia, já que o ganho de peso e a eficiência alimentar aumentaram 3,9% e 3,2%, respectivamente, quando a concentração de *B. cereus* var. *toyoi* foi de 1×10^9 esporos viáveis por kg, enquanto a concentrações menores o probiótico não teve efeito (ROTH & KIRCHGESSNER, 1988b).

Além dos efeitos mencionados, bactérias do gênero *Bacillus* podem estimular a resposta imune e serem utilizadas como imunomoduladores. *B. firmus* aumentou a resistência contra a infecção experimental por *Listeria monocytogenes* em camundongos (MÁRA et al., 1994). BELIAVSKAIA et al. (2001) demonstraram que *B. subtilis* recombinante evitou a imunossupressão causada pelas vacinas replicantes contra Parvovirus e Cinomose, acelerando a formação de clones de memória e aumentando a resposta imune específica devido à ação do interferon $\alpha 2$ secretado pela bactéria no interior do lúmen intestinal. CONCEIÇÃO et al. (2002) demonstraram que o probiótico CenBiot estimulou a resposta imune humoral a uma bacterina de *Escherichia coli* em camundongos, e COPPOLA et al. (2003) comprovaram que este probiótico aumentou significativamente a resposta imune de camundongos a uma vacina replicante de Parvovirus canino.

PROBIÓTICOS DE *SACCHAROMYCES BOULARDII*

Saccharomyces boulardii é uma levedura não patogênica utilizada na prevenção e tratamento de diversas doenças gastrintestinais (LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001), que mantêm suas propriedades probióticas ainda quando administrada junto com antimicrobianos (ROLFE, 2000). Probióticos preparados com essa levedura protegeram camundongos das toxinas de *Clostridium difficile* (CORTHER et al., 1992), e camundongos convencionais e gnotobióticos contra infecções por *Salmonella typhimurium* e *Shigella flexneri* (RODRIGUES et al., 1996). Sua administração aumentou significativamente as concentrações de IgA intestinal em ratos (BUTS et al., 1990), assim como de antitoxina A de *C. difficile* na IgA intestinal (QAMAR et al., 2001). Uma protease extraída da levedura inibiu os efeitos das toxinas A e B de *C. difficile* na mucosa

do cólon de humanos (CASTAGLIUOLO et al., 1999).

A administração de probiótico elaborado com a levedura favoreceu a resposta imune celular tipos 1 e 2 estimulando a produção de IFN- γ e IL-4 em camundongos gnotobióticos (RODRIGUES et al., 2000). COPPOLA et al. (2003) comprovaram que *S. boulardii* aumentou a resposta imune humoral de camundongos a uma bacterina de *E. coli*.

EFEITOS DOS PROBIÓTICOS NA IMUNIDADE

Profusa bibliografia, a maioria relatando estudos com bactérias ácido-láticas, demonstra que os probióticos têm efeito imunestimulante em animais e no homem, apesar de ainda não estarem esclarecidos os mecanismos pelos quais isto ocorre (CROSS, 2002). Esse efeito pode estar relacionado à capacidade de os microrganismos do probiótico interagirem com as placas de Peyer e as células epiteliais intestinais, estimulando as células B produtoras de IgA e a migração de células T do intestino (PERDIGÓN & HOLGADO, 2000). Também tem sido demonstrado que os probióticos favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares, sugerindo uma ação sistêmica por secreção de mediadores que estimulariam o sistema imune (CROSS, 2002).

MAASEN et al. (2000) comprovaram, no entanto, que a síntese de citocinas pela mucosa intestinal dependia da cepa de *Lactobacillus* utilizada, salientando a necessidade de realizar uma cuidadosa seleção das cepas candidatas a probiótico. *L. casei* apresentou efeito imunomodulador similar ao de *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG), *Corynebacterium parvum* e *Streptococcus pyogenes* (PERDIGÓN & ALVAREZ, 1992). Este lactobacilo induziu uma resposta celular tipo 1 em camundongos gnotobióticos, aumentando a produção *in vitro* de IL-12 por células peritoniais e de IFN- γ por células esplênicas (NEUMAN et al., 2000). Sua administração protegeu camundongos contra patógenos intestinais pela indução do aumento da capacidade fagocítica dos macrófagos peritoniais e da atividade das enzimas envolvidas na fagocitose (KATO et al., 1983; PERDIGÓN & ALVAREZ, 1992), da atividade das células assassinas (*natural killer*) (KATO et al., 1984), da produção de fator citotóxico pelas células de Kupfer e macrófagos peritoniais (HASHIMOTO et al., 1985), e da secreção de IgA no lúmen intestinal (PERDIGÓN et al., 1991; PERDIGÓN et al., 1995).

O efeito de outros lactobacilos sobre a imunidade também tem sido estudado. ÁVILA et al. (1998) compararam a eficiência de *L. acidophilus*, de vacina específica, e da associação destes dois

produtos no controle da diarreia por *E. coli* enterotoxigênica em leitões, e demonstraram que os melhores resultados foram obtidos com a combinação de vacina e probiótico. Outro lactobacilo, *L. casei* cepa Shirota, estimulou a resposta imune celular aumentando as concentrações de IFN- γ , TNF- α e IL-12, provocando uma redução nos títulos de vírus da Influenza no trato respiratório quando administrada por via nasal (HORI et al., 2001), e oral (HORI et al., 2002).

L. rhamnosus reduziu a morbidade de *E. coli* O157: H7 em camundongos infectados experimentalmente, estimulando o aumento da atividade fagocítica e dos títulos de anticorpos específicos na IgA (SHU & GILL, 2002). PERDIGÓN et al. (1999) demonstraram que *L. casei* e *L. plantarum* interagiram com as células M das placas de Peyer, estimulando a imunidade secretora específica. VITINI et al. (2000) testaram a influência da administração oral de diferentes espécies de bactérias ácido láticas tais como *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* e *Streptococcus thermophilus*, e verificaram que o aumento da produção de IgA nem sempre esteve correlacionado com um aumento no número de células T CD₄⁺, indicando que algumas bactérias testadas somente induziram uma ativação das células B produtoras de IgA. Também foi observado que não houve influência sobre as células T CD₈⁺, indicando que essas bactérias não foram capazes de induzir citotoxicidade.

Outras bactérias ácido láticas também apresentaram atividade imuno-moduladora. YASUI et al. (1999) comprovaram que a administração de *Bifidobacterium breve* estimulou o sistema imune humoral em camundongos provocando aumento da produção de IgA anti-Rotavírus e de IgG antivírus da Influenza, protegendo-os contra essas duas infecções. SHU et al. (2001) relataram que leitões tratados com *B. lactis* HN109 apresentaram diminuição da diarreia associada com Rotavírus e *E. coli*, concomitante ao aumento dos títulos de anticorpos contra patógenos específicos no trato gastrointestinal, da concentração de neutrófilos sanguíneos e da resposta proliferativa dos linfócitos T.

Com relação a bactérias não ácido-láticas, pode citar-se, entre outros, o trabalho de COPPOLA et al. (2003), que estudaram o efeito de probióticos preparados com *B. cereus* var. *toyoi* e com *S. boulardii* na resposta imune de camundongos à vacinação simultânea com uma bacterina tetravalente de *E. coli* patogênica para suínos e uma vacina replicante contra

a Parvovirose canina. Comprovaram que o probiótico de *S. boulardii* induziu uma resposta humoral significativamente mais alta à bacterina, enquanto o probiótico de *B. cereus* var. *toyoi* induziu uma resposta significativamente mais alta à vacina de Parvovirus canino. Foi detectado que esplenocitos de camundongos suplementados com *S. boulardii* produziram IL-4 quando estimuladas com fimbrias purificadas de *E. coli* *in vitro*.

CONCLUSÕES

As informações geradas ao longo dos últimos anos indicam que vários probióticos têm, além de sua atividade como promotores de crescimento e reguladores da microbiota das mucosas, efeito imunomodulador, embora a forma de ação seja pouco conhecida. As evidências acumuladas sobre os benefícios decorrentes do uso dos probióticos justificam o aprofundamento dos estudos sobre seu modo de ação, a fim de otimizar sua utilização como profiláticos, promotores de crescimento e imunomoduladores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXOPOULOS, C. et al. Field evaluation of a bioregulator containing live *Bacillus cereus* spores on health status and performance of sows and their litters. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v.48, n.3, p.137-145, 2001.
- AUDISIO, M.C.; OLIVER, G.; APELLA, M.C. Protective effect of *Enterococcus faecium* J96, a potential probiotic strain, on chicks infected with *Salmonella pullorum*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.63, n.10, p.1333-1337, 2000.
- ÁVILA, F.A. et al. Use of vaccine and probiotic in the control of swine diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.50, n.5, p.505-511, 1998.
- BELIAVSKAIA, V.A. et al. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. **Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii**, Moskva, v.78, n.6, p.77-82, 2001.
- BUTS, J.P. et al. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v.35, n.2, p.251-256, 1990.
- CASTAGLIUOLO, I. et al. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A and B effects in human colonic mucosa. **Infection and Immunity**, Washington, v.67, n.1, p.302-307, 1999.
- CONCEIÇÃO, F.R., ZANI, J.L., GIL-TURNES, C. Effect of probiotic CenBiot on the humoral response to an *Escherichia coli* bacterin. **Food and Agricultural Immunology**, Basingstoke, v.14, n.2, p.135-140, 2002.
- COPPOLA, M.M., CONCEIÇÃO, F.R., GIL-TURNES, C. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the humoral and cellular response of mice to vaccines. **Food and Agricultural Immunology**, Basingstoke, v.16, (no prelo) 2004.
- CORTHER, G. et al. Effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on the activity of *Clostridium difficile* toxins in mouse digestive tract. **Toxicon**, Oxford, v.30, n.12, p.1583-1589, 1992.
- CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v.34, n.4, p.245-253, 2002.
- CUEVAS, A.C. et al. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. **Veterinaria México**, México, v.31, n.4, p.301-308, 2000.
- DE VRESE, M. et al. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.73, n.2, p.421S-429S, 2001.
- EIDELSBURGER U.; KIRCHGESSNER M.; ROTH F. X. Zum einfluss von fumarsaure, salzsaure, natriumformiat, Tylosin und Toyocerin auf tagliche zunahmen, futteraufnahme, futterverwertung und verdaulichkeit. 11. Untersuchungen zur nutritiven wirksamkeit von organischen sauren in der ferkelaufzucht. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v.68, n.4-5, p.82-92, 1992.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.66, n.5, p.365-378, 1989.
- GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota. Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.
- GIL-TURNES, C. et al. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic CenBiot. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.30, n.1, p.11-14, 1999.
- HASHIMOTO, S. et al. Cytotoxic factor production by Kupfer cells elicited with *Lactobacillus casei* and *Corynebacterium parvum*. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v.20, n.2, p.117-121, 1985.
- HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, M. J.H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B.J.B. **Lactic acid bacteria in health and disease 1**. Amsterdam : Elsevier Applied Science, 1992. p.151-170.
- HAVENAAR, R.; BRINK, B.T.; HUIS INT'VELD, J.H.J. Selection of strains for probiotic use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London : Chapman e Hall, 1992. p.209-224.
- HOA, N.T. et al. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.12, p.5241-5247, 2000.
- HOLZAPFEL, W. H. et al. **Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition**. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.73, n.2, p.365S-373S, 2001.

- HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre and probiotics. **Food Research International**, Amsterdam, v.35, n.2-3, p.109-116, 2002.
- HORI, T. et al. Effect of intranasal administration of *Lactobacillus casei* Shirota on Influenza virus infection of upper respiratory tract in mice. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, New York, v.8, n.3, p.593-597, 2001.
- HORI, T. et al. Augmentation of cellular immunity and reduction of Influenza virus titer in aged mice fed *Lactobacillus casei* strain Shirota. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, New York, v.9, n.1, p.105-108, 2002.
- JIN, L.Z.; MARQUARDT, R.R.; BAIDOO, S.K. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v.80, n.5, p.619-624, 2000.
- KATO, I.; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v.27, n.7, p.611-618, 1983.
- KATO, I.; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Augmentation of mouse natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* and its surface antigens. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v.28, n.2, p.209-217, 1984.
- KATO, I.; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Correlation between increase in Ia-bearing macrophages and induction of T cell dependent antitumor activity by *Lactobacillus casei* in mice. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v.26, n.3, p.215-221, 1988.
- KATO, I.; ENDO, K.; YOKOKURA, T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. **International Journal of Immunopharmacology**, Oxford, v.16, n.1, p.29-36, 1994.
- KOZASA, M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. **Microbiology Aliments Nutrition**, n.4, p.121-135, 1986.
- KYRIAKIS, S.C. et al. The effect of probiotic LSP 122 on the control of post-weaning diarrhoea syndrome of piglets. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v.67, n.3, p.223-228, 1999.
- LILLY, D.M.; STILLWEL, R.H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, Washington, v.147, n.3659, p.747-748, 1965.
- LÖHNERT, H.J.; OCHRIMENKO, W.I.; BARGHOLZ, J. Influence of the feed additive "Toyocerin" on the rearing result of calves. In: SYMPOSIUM VITAMINS AND ADDITIVES IN NUTRITION OF MAN AND ANIMAL, 7., 1999, Jena. **Abstracts...** Jena, Thuringia: Institut für Ernährungswissenschaften- Universität Jena, 1999. p.52.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B.C. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. **Food Research International**, Amsterdam, v.34, n.9, p.791-796, 2001.
- MAASSEN, C.B.M. et al. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. **Vaccine**, Oxford, v.18, n.23, p.2613-2623, 2000.
- MÁRA, M. et al. Resistance to infection and activation of monocyte-macrophage system caused by *Bacillus firmus* and its fractions. **Folia Microbiologica**, Praga, v.39, n.2, p.147-151, 1994.
- MATSUZAKI, T.; YOKOKURA, T. Inhibition of tumor metastasis of Lewis lung carcinoma in C57BL/6 mice by intrapleural administration of *Lactobacillus casei*. **Cancer Immunology Immunotherapy**, New York, v.25, n.2, p.100-104, 1987.
- MATSUZAKI, T.; SHIMIZU, Y.; YOKOKURA, T. Augmentation of antimetastatic effect on Lewis lung carcinoma (3LL) in C57BL/6 mice by priming with *Lactobacillus casei*. **Medical Microbiology and Immunology**, New York, v.179, n.3, p.161-168, 1990.
- NAIDU, A.S.; BIDLACK, W.R.; CLEMENS, R.A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.38, n.1, p.13-126, 1999.
- NEUMAN, E. et al. *Lactobacillus acidophilus* UFV-H2B20 induces type 1 responses by cells of gnotobiotic mice. In : THE PROSPECTS OF PROBIOTICS AND THERAPY OF DISEASES OF YOUNG, 2000, High Tatras. **Proceedings...** High Tatras, Slovak Republic : Department of Gnotobiology and Diseases of Young-Research Institute of Veterinary Medicine, Kosice, 2000. p.85.
- OGAWA, M. et al. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactobacillus* strains due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.68, n.1-2, p.135-140, 2001.
- OuweHAND, A.C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.9, n.1, p.43-52, 1999.
- PARKER, R.B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, n.29, p.4-8, 1974.
- PERDIGÓN, G.; ALVAREZ, S.; HOLGADO, A.P.R. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*-influence of dose on the secretory immune-response and protective capacity in intestinal infections. **Journal of Dairy Research**, New York, v.58, n.4, p.485-496, 1991.
- PERDIGÓN, G.; ALVAREZ, S. Probiotics and the immune state. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London : Chapman e Hall, 1992. p.145-180.
- PERDIGÓN, G. et al. Immune system stimulation by probiotics. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.78, n.7, p.1597-1606, 1995.
- PERDIGÓN, G. et al. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.82, n.6, p.1108-1114, 1999.
- PERDIGÓN, G.; HOLGADO, A.P.R. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: FULLER, R.; PERDIGÓN, G. **Probiotics 3: Immunodulation by the Gut Microflora and Probiotics**. Dordrecht : Kluwer Academic, 2000. p.213-233.
- QAMAR, A. et al. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. **Infection and Immunity**, Washington, v.69, n.4, p.3762-2765, 2001.
- RICHTER, G.; KÜHNE, I.; KÖHLER, H. Test of Toyocerin in broiler fattening. In: SYMPOSIUM VITAMINS AND ADDITIVES IN NUTRITION OF MAN AND ANIMAL, 7., 1999, Jena. **Abstracts...** Jena, Thuringia : Institut für Ernährungswissenschaften - Universität Jena, 1999. p.52-53.

- RODRIGUES, A.C. et al. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.81, n.3, p.251-256, 1996.
- RODRIGUES, A.C.P. et al. Q. *Saccharomyces boulardii* induces the production of type 1 and type 2 cytokines in gnotobiotic mice. In : THE PROSPECTS OF PROBIOTICS AND THERAPY OF DISEASES OF YOUNG, 2000, High Tatras. **Proceedings...** High Tatras, Slovak Republic : Department of Gnotobiology and Diseases of Young-Research Institute of Veterinary Medicine, Kosice, 2000. p.87.
- RODRIGUEZ, J.M. Antimicrobial spectrum, structure, properties and mode of action of nisin, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. **Food Science and Technology International**, New York, v.2, n.2, p.61-68, 1996.
- ROLFE, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, n.2, p. 396S-402S, 2000.
- ROTH, F.X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 1 Ferkelaufzucht. **Landwirtschaftliche-Forschung**, Frankfurt, v.41, n.1-2, p.58-62, 1988a.
- ROTH, F.X.; KIRCHGESSNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 2 Kalbermast. **Landwirtschaftliche-Forschung**, Frankfurt, v.41, n.1-2, p.63-70, 1988b.
- SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.84, n.3, p.197-215, 2000.
- SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, n.5-6, p.563-572, 1998.
- SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.73, n.2, p.361S-364S, 2001.
- SHU, Q.; QU, F.; GILL, H.S. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhoea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, v.33, n.2, p.171-177, 2001.
- SHU, Q.; GILL, H.S. Immune protection mediated by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20ä) against *Escherichia coli* O157: H7 infection in mice. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v.34, n.1, p.59-64, 2002.
- VILLANI, F. et al. Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.25, n.2, p.179-190, 1995.
- VITINI, E. et al. Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria. **Biocell**, Mendoza, v.24, n.3, p.223-232, 2000.
- YASUI, H. et al. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, Dordrecht, v.76, n.1, p.383-389, 1999.
- ZANI, J.L. et al. Effect of probiotic CenBiot on the control of diarrhoea and feed efficiency in pigs. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.84, n.1, p.68-71, 1998.