

## Artículo original

# Efecto probiótico de *Lactobacillus salivarius* en indicadores microbiológicos e inmunológicos en pollos

Ana Julia Rondón Castillo<sup>a,\*</sup>, Grethel Milián Florido<sup>a</sup>, Fátima Arteaga Chávez<sup>b</sup>, Luz María Samaniego Fernández<sup>a</sup>, Ramón Bocourt Salabarría<sup>c</sup>, Marta Laurencio Silva<sup>a</sup>, Marlén Rodríguez Oliva<sup>a</sup>, Manuel Pérez Quintana<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Centro de Estudios Biotecnológicos, Universidad de Matanzas Cuba. <sup>b</sup>Laboratorio de Biotecnología, Escuela Superior Politécnica de Manabí, Ecuador. <sup>c</sup>Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba. <sup>d</sup>Departamento de Ciencias de la Tierra, Universidad Estatal Amazónica, Ecuador.

Recibido 21 de noviembre de 2017; aceptado 16 de mayo de 2018

**Resumen:** Con el objetivo de evaluar el efecto probiótico de tres biopreparados elaborados con *Lactobacillus salivarius* C65, *Lactobacillus salivarius* C7 y su mezcla en indicadores microbiológicos e inmunológicos en pollos de engorde, se realizó un experimento con un diseño completamente aleatorizado en el que se incluyeron cuatro tratamientos: I dieta basal (Control); II dieta basal + biopreparado C65; III dieta basal + biopreparado C7 y IV dieta basal + mezcla C65-C7. Como resultado del empleo de estos biopreparados, se mejoró el estado de eubiosis del tracto gastrointestinal, incrementándose la población beneficiosa de *Lactobacillus* y anaerobios totales y la disminución de coliformes. Por otra parte, se demostró que con la adición de los biopreparados al alimento, se estimuló el sistema inmunológico de las aves, al producirse el incremento del peso relativo del bazo y la bolsa de Fabricio, así como de los títulos HI para la vacuna de Newcastle. Con estos resultados se confirma el potencial probiótico que tienen estos biopreparados para producir efectos beneficiosos en los indicadores microbiológicos e inmunológicos de estos animales.

**Palabras clave:** *Lactobacillus salivarius*, probiótico, indicadores inmunológicos, indicadores microbiológicos, pollos de ceba.

## Probiotic effect of *Lactobacillus salivarius* on microbiological and immune indicators in chickens

**Abstract:** In order to evaluate the probiotic effect of three biopreparations made with *Lactobacillus salivarius* C65, *Lactobacillus salivarius* C7 and its mixture on microbiological and immune indicators in broiler chickens, an experiment was conducted with a completely randomized design in which four treatments were included: I. basal diet (control); II. basal diet + biopreparation C65; III. basal diet + biopreparation C7 and IV. basal diet + C65-C7 mixture. As a result of the use of these biopreparations the status of eubiosis of the gastrointestinal tract was improved, increasing the population of *Lactobacillus*, total anaerobes and decrease of coliforms. Moreover, it was demonstrated that with the addition of biopreparations to the feed, the immune system of the birds was stimulated by the increase in the relative weight of the spleen and Fabricio's bursa, as well as HI titers for the Newcastle vaccine. These results confirm the probiotic potential of these biopreparations to produce beneficial effects on the microbiological and immune indicators of these animals.

**Keywords:** *Lactobacillus salivarius*, probiotic, immune indicators, microbiological indicators, broilers.

\* Correspondencia:  
E-mail: ana.rondon@umcc.cu

### Introducción

Los lactobacilos del tracto digestivo forman parte de la población microbiana beneficiosa para el organismo; participan activamente en los procesos fermentativos, poseen actividad inhibitoria frente a microorganismos patógenos,

neutralizan enterotoxinas, sintetizan vitaminas, estimulan la respuesta inmune y mejoran la absorción de minerales [1]. De ahí que estos microorganismos sean ampliamente utilizados en la formulación de productos probióticos, destinados a mejorar los indicadores productivos y la salud de los animales.

Barrios *et al.* definieron que un probiótico funcional o perecedero es un microorganismo o mezclas de microorganismos viables, que al ser administrados al huésped en cantidades adecuadas, pueden sobrepasar las barreras gastrointestinales, sobrevivir, adaptarse, colonizar y multiplicarse, y a su vez, intervenir en el equilibrio existente del microbioma, modificándolo o estabilizándolo, en beneficio de la salud [2]. Milian *et al.* reportan los efectos positivos del uso de probióticos en el comportamiento de los indicadores fisiológicos, productivos y de salud en pollos [3].

Rondón *et al.* [4] seleccionaron, *in vitro*, dos cepas de *Lactobacillus salivarius* (C7 y C65) como posibles cepas probióticas, debido a que resistieron las barreras ácidas y biliares, presentaron alta capacidad de crecimiento y adherencia a las células de la mucosa, inhibieron a microorganismos patógenos y produjeron altas concentraciones de ácidos orgánicos; sin embargo, la prueba *in vivo* de un candidato probiótico es imprescindible para definir a un biopreparado en esta categoría. No basta realizar un estudio *in vitro* detallado de las cepas, si no se comprueba el efecto biológico de los microorganismos en los animales. Es por ello que, en este trabajo, se procedió a incluir los biopreparados que se obtuvieron en la alimentación de pollos de ceba, con el objetivo de evaluar la actividad probiótica de los biopreparados C7 y C65 y la mezcla de ambos en indicadores microbiológicos e inmunológicos en estos animales.

## Materiales y métodos

**Elaboración de los biopreparados bacterianos:** A partir de las cepas C7 y C65, se elaboraron 4 L de cada biopreparado. Para ello se prepararon frascos con 400 mL de caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe, Conda S.A, PRONADISA®, España), los que se inocularon y cultivaron a 37 °C por 18 h. Posteriormente el inóculo se añadió en un Erlenmeyer de 5 L de capacidad, que contenía 4 L de MCLs (Medio de crecimiento de *L. salivarius*) [5]. El cultivo se mantuvo por 20 h a 37 °C en condiciones estáticas. Después de este tiempo, se realizó el conteo de colonias y se determinó el pH para comprobar la calidad de los biopreparados. Los mismos se envasaron en frascos estériles de 1 L con tapa de goma y se conservaron a 5 °C por 43 días.

**Tratamientos y condiciones experimentales:** El experimento se desarrolló en la Unidad Avícola del Instituto de Ciencia Animal (ICA), Cuba, con un diseño completamente aleatorizado, en el que se incluyeron cuatro tratamientos: I. Dieta basal (Control); II. Dieta basal + biopreparado C7; III. Dieta basal + biopreparado C65 y IV. Dieta basal + mezcla de los biopreparados C7 y C65 (MC7-C65) en una proporción de 1:1. Cada tratamiento se aplicó desde el primer día de estancia en la entidad. Esta investigación fue avalada por el Comité de Ética para la Experimentación Animal del ICA (CEICA 047, del 13 de junio de 2016).

**Animales y dietas:** Para el desarrollo del experimento se emplearon 200 pollos (machos, 38 g de peso inicial) de la línea hembra del reproductor EB<sub>34</sub> como animales de laboratorio, los que se distribuyeron en número de 50 aves por tratamiento. Las aves se sometieron a las mismas condiciones experimentales desde uno hasta cuarenta y dos días de edad (0 - 6 semanas) con tres momentos de muestreo (21, 35 y 42 días).

Las dietas experimentales (Tabla 1) se suministraron en forma de harina a base de maíz-soya, que variaron en su composición para inicio, crecimiento y acabado según NRC [6]. En cada ración se incluyeron semanalmente los biopreparados C7, C65 y la MC7-C65 hasta una concentración de 9 Log UFC.g<sup>-1</sup>. Cada uno de los biopreparados se mezcló manualmente con la dieta.

Tabla 1. Composición calculada de las dietas de inicio, crecimiento y acabado que se suministraron a los animales.

Materias primas (%)	Inicio (1-14 d)	Crecimiento (15-28 d)	Acabado (29-42 d)
Harina de maíz	42,4	54,3	60,3
Harina de soya	43,9	33,7	28,6
Aceite de girasol	8,8	7,3	6,5
Fosfato dicálcico	2,6	2,4	2,4
Carbonato de calcio	0,7	0,7	0,7
Sal común	0,2	0,2	0,2
DL-metionina	0,3	0,3	0,3
Premezcla vitaminas y minerales*	1,0	1,0	1,0
Análisis calculado			
EM, MJ/kg	13,4	13,4	13,4
PB	23,0	20,0	18,8
Calcio	0,9	0,9	0,9
Fósforo disponible	0,4	0,4	0,4
Metionina + cistina	0,9	0,9	0,8

\* Un kg de alimento contiene: Suplemento vitamínico: vitamina A (10000 UI), vitamina D<sub>3</sub> (2000 UI), vitamina E (10 mg), vitamina K<sub>3</sub> (2 mg), Tiamina (1 mg) - B<sub>1</sub>, riboflavina (5 mg) - B<sub>2</sub>, piridoxina (2 mg) - B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub> (15,4 mg), ácido nicotínico (125 mg), pantotenato de calcio (10 mg), ácido fólico (0,25 mg) y biotina (0,02 mg). Suplemento mineral: selenio (0,1 mg), hierro (40 mg), cobre (12 mg), zinc (120 mg), magnesio (100 mg), yodo (2,5 mg) y cobalto (0,75 mg).

**Manejo de los animales:** Antes del arribo de las aves, la nave experimental de inicio se sometió a la habilitación sanitaria según lo que establece el Instructivo Técnico para el manejo del pollo de ceba [7]. Durante los primeros 15 días, los animales se alojaron en jaulas con capacidad para 25 pollitos, los que recibieron agua en bebederos de 3,78 L y alimento dispuesto en tarteras. A partir de la tercera semana de edad, cada tratamiento contó con 4 repeticiones de 12-13 aves por jaula. En cada jaula el agua se ofreció en

bebederos de tipo tetinas, los que se ajustaron al tamaño de las aves durante la crianza. El concentrado se suministró en comederos tubulares, los que se ajustaron a la altura del cuello de las aves a medida que estas crecían. El suministro de agua (tratada con hipoclorito de calcio al 0,1%) y de alimento fue *ad-libitum*.

**Procedimiento experimental para la toma y análisis de las muestras:** Para determinar *in vivo* el efecto probiótico de los biopreparados en los indicadores microbiológicos e inmunológicos se seleccionaron y sacrificaron mediante yugulación diez animales por tratamiento, en cada muestreo (21, 35 y 42 días), según lo descrito por Sánchez [8]. La selección se realizó sobre la base del peso promedio alcanzado por los pollos en cada tratamiento en un rango de  $\pm 10\%$ . De cada ave se tomaron muestras de sangre y una vez abierta la cavidad abdominal, se extrajeron el bazo, la bolsa de Fabricio y los ciegos. En la figura 1 se esquematiza cómo se desarrolló la toma de muestras durante el experimento.

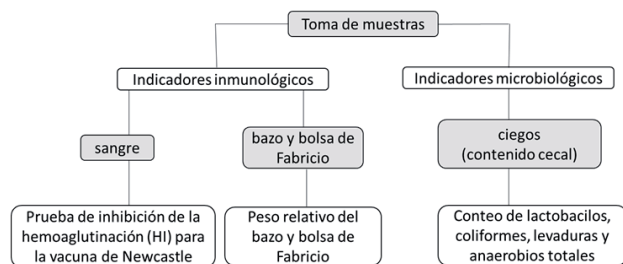


Figura 1. Diagrama de la toma de muestras para el análisis de los indicadores inmunológicos y microbiológicos.

La actividad probiótica de los microorganismos y su mezcla se determinó en función de los siguientes indicadores:

**Indicadores microbiológicos:** A los 21 y 42 días, de los ciegos de cada animal se pesó 1 g de su contenido, para su homogenización en 9 mL de caldo NRF [9] y se procesaron de inmediato en condiciones anaerobias (atmósfera de  $\text{CO}_2$  al 5%).

**Medios selectivos:** Para realizar el conteo de los diferentes grupos microbianos en los ciegos de los pollos, se emplearon diferentes medios selectivos. En el caso de los anaerobios totales se utilizó agar NRF [9], para coliformes, agar bilis rojo - violeta (OXOID); para levaduras, agar rosa de bengala (rosa de bengala 0,05 % y cloranfenicol 0,5 %) (HISPANLAB, España) y para *Lactobacillus* spp., agar MRS (CONDO, España).

**Conteo de microorganismos:** Para efectuar el conteo de lactobacilos, coliformes, levaduras y anaerobios totales se realizaron diluciones seriadas de las muestras (1:10, p/v) en caldo NRF [9] hasta  $10^{-11}$ . De estas diluciones, se utilizaron para las bacterias anaerobias totales y lactobacilos,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  y  $10^{-11}$ ; para coliformes,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  y  $10^{-8}$  y para las levaduras,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ . Cada una de estas se replicó tres veces (0,5 mL) en tubos rodados (tubos *roll*) que

contenían 5 mL de medio de cultivo selectivo [10]. Para los anaerobios totales se utilizó la técnica de Hungate [10] en condiciones de anaerobiosis estricta. Después de incubar a  $37^\circ\text{C}$  (durante 72 h para *Lactobacillus*, 24 para coliformes, 48 para levaduras y 7 días para anaerobios totales) se realizó el conteo microbiano. El número de UFC se determinó bajo lupa por conteo visual de colonias.

#### Indicadores inmunológicos:

**Prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) para la vacuna de Newcastle:** Se realizó a los 35 y 42 días a partir de las muestras de sangre, mediante el método descrito por Sánchez [8].

**Evaluación del peso relativo de los órganos inmunes:** Tanto el peso del bazo (PB), como el peso de la bolsa de Fabricio (PBF) se determinaron a los 21, 35 y 42 días de edad de las aves (balanza técnica Sartorius) y el peso relativo (PR) de estos órganos inmunes (PRB y PRBF) se calculó según la metodología propuesta por Giambone [11], la cual propone que  $\text{PRB} = (\text{PB}/\text{PV}) \times 100$  y  $\text{PRBF} = (\text{PBF}/\text{PV}) \times 100$ , donde PV es el peso vivo del animal.

**Análisis estadístico:** Para el análisis de los resultados se empleó el *Software* estadístico INFOSTAT versión 1 [12]. Para el tratamiento estadístico de los datos se realizó análisis de varianza de clasificación simple según diseño completamente aleatorizado, y para verificar diferencias se utilizó la prueba de comparación de Duncan [13].

## Resultados y discusión

Las figuras 2 y 3 muestran los resultados del efecto de los biopreparados de *Lactobacillus* C7 y C65 y la combinación de ambos en el conteo de coliformes, *Lactobacillus* spp., anaerobios totales y levaduras en el contenido cecal de las aves a los 21 y 42 días. Se puede observar que en los dos períodos la población de coliformes fue mayor ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente) en el grupo control que en los restantes tratamientos, entre los que no se encontraron diferencias, mientras que los lactobacilos se presentaron en mayores proporciones (21 días:  $p < 0,01$  y 42 días:  $p < 0,001$ ) en los grupos tratados con los biopreparados con respecto al control.

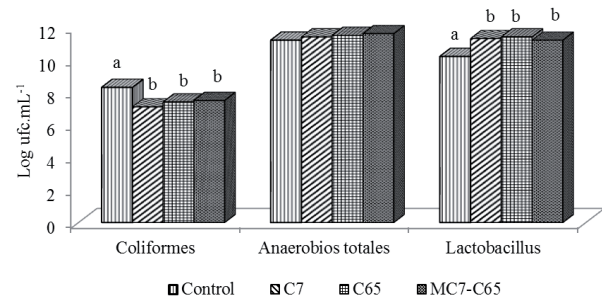


Figura 2. Efecto de la inclusión de los biopreparados en el comportamiento de los indicadores microbiológicos en el ciego de los animales a los 21 días. <sup>a,b</sup> Columnas con letras diferentes difieren para  $p < 0,05$  [13]. (Coliformes  $p < 0,05$ , EE  $\pm 0,53$ ; *Lactobacillus*  $p < 0,01$ , EE  $\pm 0,14$  y anaerobios totales EE  $\pm 0,26$ ).

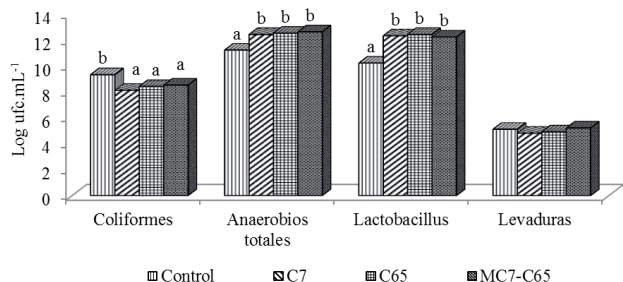


Figura 3. Efecto de la inclusión de los biopreparados en el comportamiento de los indicadores microbiológicos en el ciego de los animales a los 42 días. <sup>a,b</sup> Columnas con letras diferentes difieren para  $p < 0,05$  [13]. (Coliformes  $p < 0,01$ , EE  $\pm 0,36$ ; anaerobios totales  $p < 0,001$ , EE  $\pm 0,18$ ; *Lactobacillus*  $p < 0,001$ , EE  $\pm 0,05$  y levaduras EE  $\pm 0,22$ ).

En el conteo de anaerobios totales no se observaron diferencias entre los tratamientos a los 21 días; sin embargo, a los 42 días se denotan diferencias ( $p < 0,001$ ) con un incremento de estos microorganismos en los animales donde se aplicaron los biopreparados. Las levaduras no se contaron a los 21 días (dilución  $10^{-3}$ ), lo cual pudiera estar relacionado con la escasa presencia de estos microorganismos en el tracto gastrointestinal (TGI) debido a la baja concentración de carbohidratos en la dieta de inicio; en cambio a los 42 días se observaron sin diferencias entre los tratamientos, cuando se emplearon altos niveles de harina de maíz en la dieta de engorde.

Los lactobacilos se incrementaron desde las primeras semanas (21 días) en los pollos que se trataron con los biopreparados de *L. salivarius* o con la mezcla de éstos. Sin embargo, en los trabajos de Jin *et al.* [14] se hace referencia a que la población de *Lactobacillus* sólo se incrementó a los 30 días, cuando utilizaron una cepa de *Lactobacillus acidophilus* o una mezcla de 12 cepas de *Lactobacillus* en pollos. En cambio, Lan *et al.* [15] observaron que al aplicar dos cepas probióticas aisladas del TGI de pollos de engorde (*Lactobacillus agilis* JCM 1048 y *L. salivarius* subsp. *salicinii* JCM 1230) aumentaba la población de

*Lactobacillus* del ciego desde los 7 días.

Los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo demuestran que, desde los primeros días de la crianza, se establece una alta población de *Lactobacillus*, por lo que se infiere que las aves estarán mejor protegidas contra los microorganismos patógenos causantes de grandes pérdidas de animales, fundamentalmente en las primeras semanas de vida.

A diferencia de Jin *et al.* [14], quienes no apreciaron ningún efecto en los anaerobios totales, los biopreparados de *Lactobacillus* que se utilizaron en este trabajo estimularon el aumento de esta población en el ciego a los 42 días. Sin embargo, no se observó ningún efecto en la población de levaduras, las que incrementaron su número con la edad de las aves y con el cambio de dieta, sin ninguna diferencia entre los tratamientos.

Los microorganismos que residen en el TGI interactúan con el animal hospedero. Esta microbiota varía con la especie animal, el sitio donde se aloja, la edad del animal, la dieta que recibe y el ambiente. Los animales saludables mantienen una población microbiana balanceada, lo que se corresponde con el estado eubiótico del ecosistema gastrointestinal. Se conoce que esta condición se relaciona estrechamente con la productividad y la salud de los animales [16,17].

La disminución de los coliformes en el contenido intestinal se corresponde con el aumento de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y del ácido láctico en el ciego; también interviene, la colonización y proliferación de los lactobacilos que se adicionan en el TGI de los pollos, los que provocan la exclusión competitiva frente a otros microorganismos de la microbiota normal o microorganismos patógenos. Rada *et al.* [18] comprobaron que, cuando *L. salivarius* se administra en el alimento en dosis de  $10^6$  UFC.g<sup>-1</sup>, las células manifiestan una buena colonización del intestino y ciegos en los pollos de engorde.

Los resultados del comportamiento de los indicadores inmunológicos que se evaluaron en los animales a los 21,

Tabla 2. Efecto de la inclusión de biopreparados en los indicadores inmunológicos, evaluados en los animales a los 21, 35 y 42 días.

Indicador	Días	Tratamientos				EE $\pm$ Sig.
		Control	C7	C65	MC7-C65	
PR bolsa Fabricio (%)	21	0,27	0,28	0,27	0,28	0,20
	35	0,17 <sup>a</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,12 <sup>**</sup>
	42	0,16 <sup>a</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,12 <sup>*</sup>
PR bazo (%)	21	0,13	0,16	0,17	0,15	0,02
	35	0,16	0,20	0,21	0,2	0,01
	42	0,17 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,01 <sup>**</sup>
Títulos HI para la vacuna de Newcastle	35	1:16,0 <sup>a</sup>	1:21,0 <sup>b</sup>	1:20,4 <sup>b</sup>	1:20,6 <sup>b</sup>	0,92 <sup>***</sup>
	42	1:15,8 <sup>a</sup>	1:31,4 <sup>b</sup>	1:30,8 <sup>b</sup>	1:30,6 <sup>b</sup>	0,94 <sup>***</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con letras diferentes dentro de la misma fila difieren para  $p < 0,05$  [13]. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  y \*\*\*  $p < 0,001$ . PR: peso relativo; EE  $\pm$  Sig.: error estándar  $\pm$  significación.

35 y 42 días se muestran en la tabla 2. Con el uso de los biopreparados C7 y C65, así como con la combinación de ambos, a los 21 días no se observó ningún efecto ( $p < 0,05$ ) en el PRBF ni en el PRB. A los 35 días, se aprecian valores superiores del PRBF en los tratamientos con los biopreparados, los cuales difieren ( $p < 0,01$ ) con los del grupo control. En contraste, en este mismo período de muestreo, no se encontraron diferencias para el PRB.

A los 42 días, el efecto de los biopreparados en los indicadores inmunológicos que se evaluaron fue superior. En la tabla 2 se muestran los resultados del PRBF y el PRB, donde no se observaron diferencias en los animales que se trataron con los biopreparados, pero sí con el grupo control ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente), los que mostraron valores inferiores. Los títulos HI para la vacuna de Newcastle (tabla 2), no mostraron diferencias entre los tratamientos donde se aplicaron los biopreparados, sin embargo, los datos difieren con los del grupo control, al obtenerse valores superiores en los animales de los grupos II, III y IV.

Giambone [11] propuso un método en el cual relaciona el estado inmune de las aves con el PRBF. Según este autor, los animales inmunocompetentes tienen normalmente un PRBF entre 0,2 – 0,4 %, mientras que valores de 0,1 % o menores son indicativos de inmunodepresión. En este sentido, las aves que se trataron con los biopreparados mantuvieron el PRBF en los índices normales de inmunocompetencia durante todo el experimento, mientras que los animales del grupo control, a los 35 y 42 días mostraron valores cercanos a la inmunodepresión (0,17 y 0,16 % respectivamente).

Con los resultados del presente trabajo se confirmó que los biopreparados de *L. salivarius* fueron capaces de mejorar la respuesta inmuno-específica de la bolsa de Fabricio, en correspondencia con un índice de Giambone superior. En el caso particular del bazo, se demostró la acción inmunoestimulante en este órgano, al comprobarse un PR mayor cuando se compara con el control. El bazo desempeña un papel muy importante al enfrentar los desafíos ligados a respuestas inmunes durante toda la vida de las aves [19]. El aumento del PR de la bolsa y el bazo demuestra que se produjo un incremento de la actividad morfofisiológica de estos órganos.

Trabajos anteriores refieren que, cuando se incluyen probióticos en la dieta, se presentan diferencias en los títulos HI para la vacuna de Newcastle en los grupos que se tratan con estos aditivos en relación con el control [20,21]. Estas diferencias se deben, en gran medida, a que cuando se aplican microorganismos beneficiosos, la bolsa aumenta de tamaño y se estimula la producción de linfocitos B. Estas acciones provocan efectos en la inmunidad sistémica, los que se detectan precisamente por el incremento de los títulos HI en sangre [22].

La presencia de mayores títulos HI con el suministro de los biopreparados, coincide con los resultados de Bengmark [23], quien demostró que con el incremento de la población microbiana beneficiosa del hospedero, ocurre la estimulación del sistema inmune y esto se puede constatar

cuando se produce la mejora de la respuesta inmunológica con la aplicación de las vacunas y se genera la diversificación o maduración de las células B y T. Este autor manifiesta que los microorganismos probióticos intervienen en el proceso de inmunomodulación, que va desde el sistema inmune del TGI al sistema inmune sistémico, ya que provocan la activación de macrófagos, la producción de niveles altos de inmunoglobulinas y el desarrollo de células inmunocompetentes.

Ghafoor *et al.* [24] también comprobaron el aumento de los títulos HI cuando emplearon probióticos, pero a diferencia de este trabajo, se midieron los títulos HI para la vacuna del virus de la influenza aviar. Estos autores comprobaron que el Protexin (probiótico multicepas elaborado con *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Candida pintolepesii* y *Aspergillus oryzae*) ejercía un efecto inmunomodulador en los pollos vacunados, observando títulos superiores de AIV-HI (Inhibición de la hemoaglutinación al virus de la influenza aviar), así como menor morbilidad y mortalidad de las aves después del desafío con la vacuna.

Nakano *et al.* [25] comprobaron que el empleo de una mezcla probiótica de lactobacilos, bacilos, estreptococos y levaduras en pollos de ceba, mejoraba el PR de la bolsa y el bazo y se obtenían títulos HI más altos, tal y como resultó en el presente trabajo. En este sentido, cuando se analizan los resultados de estos índices biológicos, se demostró que los biopreparados que se evaluaron tuvieron actividad inmunomoduladora, lo cual constituye una respuesta de tipo probiótica. Estos resultados coinciden también con los trabajos de Varmuzova *et al.* [26] y Saint-Cyr *et al.* [27], quienes relacionaron el efecto de las bacterias ácido lácticas en aves con los procesos de inmunocompetencia y comprobaron la eficacia del empleo de estos indicadores para valorar si se produce la activación de los procesos inmunes en los animales.

## Conclusiones

Se demostró que los biopreparados C7, C65 y la MC7-C65, que se incluyeron como aditivos en la alimentación de las aves, provocaron una mejora en los indicadores microbiológicos y estimularon la respuesta inmune de los animales, por lo que pueden ser utilizados en su alimentación por sus efectos probióticos.

## Referencias

1. Patterson JA, Burkholder KM. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poult Sci.* 2003; 82:627-31.
2. Barrios V, Carvajal A, Rubio P. Los probióticos en la ganadería porcina. Importancia de su utilización eficiente. Disponible en: [http://axonveterinaria.net/web\\_axoncomunicacion/criaysalud/46/cys\\_46\\_probioticos.pdf](http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/46/cys_46_probioticos.pdf). 2012. Consultado en: nov 2016.
3. Milián G, Rondón AJ, Pérez M, Boucourt R, Rodríguez

- Z, Ranilla MJ y col. Evaluación de biopreparados de *Bacillus subtilis* como promotores del crecimiento en pollos. Rev Cub Cien Agríc. 2013; 47:61-6.
4. Rondón AJ, Samaniego LM, Bocourt R, Rodríguez S, Milián G, Ranilla MJ *et al.* Isolation, identification and partial characterization of the probiotic properties of *Lactobacillus* spp. strains obtained from the gastrointestinal tract of broilers. Cienc Tecnol Aliment. 2008; 6:17-22.
  5. Rondón AJ, Samaniego ML, Bocourt R, Milián G, Laurencio M, Pérez M. Nuevo medio de cultivo para el crecimiento de *Lactobacillus salivarius*. Patente solicitada MZ2009-002. 2009.
  6. Nutrient Requirements of Poultry. Ninth Revised Edition. Washington, DC: The National Academies Press; 1994. <https://doi.org/10.17226/2114>.
  7. MINAGRI Instructivo técnico. Pollos de engorde. Tecnología de crianza y regulaciones sanitarias generales. Sub. Dirección Técnica UCAN-IIA; 1998.
  8. Sánchez AI. Empleo de sustancias con actividad probiótica en gallináceas. Memorias XVII Congreso Centroamericano y del Caribe de Avicultura. 1-4 de octubre. Palacio de las Convenciones. Ciudad de la Habana, Cuba; 2002.
  9. Hungate RE. The rumen and its microbes. New York: Academic Press Inc.; 1966.
  10. Hungate PE. A roll tube method for cultivation in microbiology. In: Norris JR, Ribbons DW editors. Methods in Microbiology. New York: Academic Press Inc.; 1970. p. 117.
  11. Giambrone J. Inmunosupresión en las aves: Causas y prevención. Avicultura Profesional. 1996; 14:42-5.
  12. Balzarini MG, Casanoves F, Di Rienzo JA, González LA, Robledo CW INFOSTAT. Versión 1. 2001; Córdoba, Argentina.
  13. Duncan B. Multiple ranges and multiple F. Test Biometrics. 1955; 11:1.
  14. Jin L, Ho YW, Abdullah N, Ali MA, Jalaludin S. Effects of adherents *Lactobacillus* cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers. Animal Feed Sci Tech. 1998; 70:197-209.
  15. Lan PTN, Binh LT, Benno Y. Impact of two probiotic *Lactobacillus* strains feeding on faecal lactobacilli and weight gains in chicken. J Gen Appl Microbiol. 2003; 49:29-36.
  16. Rodríguez M, Milián G, Rondón A, Bocourt R, Portilla Y, Laurencio M, Beruvides A. Hidrolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae*: un aditivo con potencial antibacteriano para la alimentación animal. Cuban J Agric Sci. 2015; 49:389-97.
  17. Rondón AJ, Ojito Y, Arteaga FG, Laurencio M, Milián G, Pérez Y. Probiotic effect of *Lactobacillus salivarius* C-65 on productive and health indicators of lactating piglets. Cuban J Agric Sci. 2013; 47-401.
  18. Rada V, Marounek M, Rychlý I, Šantrůvková D, Vori K. Effect of *Lactobacillus salivarius* administration on microflora in the crop and caeca of broiler chickens. J Animal Feed Sci. 1995; 4:161-70.
  19. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. Int J Environ Res Public Health 2014; 11:4745-67.
  20. Pérez M. Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis. Universidad Agraria de La Habana, Cuba; 2000.
  21. Milián G, Rondón AJ, Pérez M, Arteaga FG, Boucourt R, Portilla Y *et al.* Effect of zootechnical additives on productive and health indicators in broilers. Pastos y Forrajes. 2017, 40:315-22.
  22. Roshni MA, Bhunia AK. Bioengineered probiotics, a strategic approach to control enteric infections. Bioengineered. 2013; 4:379-87.
  23. Bengmark S. Gut microenvironment and immune function. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 1999; 2:83-5.
  24. Ghafoor A, Naseem S, Younus M, Nazir J. Immunomodulatory effects of multistrain probiotics (Protexin<sup>TM</sup>) on broiler chicken vaccinated against avian influenza virus (H9). Int J Poult Sci. 2005; 4:777-80.
  25. Nakano T, Shimuzu M, Fukushima M, Yumiyoshi S. Effects of a probiotic on the lipid metabolism of pullet hen as a cholesterol-enriched diet. Biotech Biochem. 1999; 63:1569-75.
  26. Varmuzova K, Kubasova T, Davidova-Gerzova L, Sisak F, Havlickova H, Sebkova A. *et al.* Composition of gut microbiota influences resistance of newly hatched chickens to *Salmonella enteritidis* infection. Frontiers in Microbiol. 2016; 7:1-9.
  27. Saint-Cyr MJ, Guyard-Nicodème M, Messaoudi S, Chemaly M, Cappelier JM, Dousset X, Haddad N. Recent advances in screening of anti *Campylobacter* activity in probiotic for use in poultry. Front Microbiol 2016; 7:1-22.