

ACTIVIDAD PROBIÓTICA DE UN BIOPREPARADO CON *Lactobacillus salivarius* EN POLLOS DE CEBA

Fátima Graciela Arteaga Chávez^{1*}, Marta Elena Laurencio Silva², Mario René López Vera¹, Pedro Darwin Chávez Mantilla¹, Patricio Alejandro Vélez Vera¹ y Manuel Pérez Quintana².

¹Laboratorio de Biología Molecular. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López Calceta, Ecuador, * fatimaga1956@yahoo.com.

²Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Cuba.

RESUMEN

Se evaluó la actividad probiótica de un biopreparado con *Lactobacillus salivarius* sobre indicadores inmunológicos, microbiológicos, productivos y de salud en pollos de ceba. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizó cien animales por variantes en estudio. Los tratamientos fueron: 0.5, 1.0 y 1.5 mL del biopreparado por litro de agua de bebida y se aplicaron durante todo el ciclo de crianza. A los 28, 35 y 42 días de edad se les evaluó las respuestas experimentales. Se obtuvo una mejora en el balance de la microflora intestinal con menores conteos de coliformes y mayores de microorganismos beneficiosos tales como *L. salivarius* bacterias ácido lácticas y totales aeróbicos y anaeróbicos en los animales que recibieron el biopreparado. El peso del bazo y la bolsa de Fabricio fueron superiores en los animales tratados. Hubo mayor peso vivo y mejor conversión alimenticia a partir de los 21 días en beneficio de los tratamientos con el probiótico. La mortalidad, morbilidad fue disminuida, viabilidad fue mejorada. La aplicación del biopreparado con base de *L. salivarius* mejoró los indicadores inmunológicos, microbiológicos, productivos y de salud.

Palabras clave: probióticos, *Lactobacillus salivarius*, microorganismos intestinales, inmunología.

ABSTRACT

The pro biotic activity of a bio preparation with *Lactobacillus salivarius* under immunological, microbiological, productive indicators and health in chickens was evaluated. A completely randomized design was used, with four treatments and four repetitions, having 100 animals for each treatment. The treatments were: Witness, T2, T3 and T4 with 0.5, 1.0 and 1.5 mL of the bio preparation for liter of drinking water and they were applied during the whole cycle of upbringing. At 28, 35 and 42 days of age the microbiological, immunological, productive indicators and of health were evaluated. An improvement was obtained in the balance of the intestinal micro flora by minor counts of coliformes and major of such beneficial microorganisms as *Lactobacillus salivarius* acid lactic bacteria and total aerobic and anaerobic in the animals that received the bio preparation. The weight of the spleen and Fabricio's bag were at the top in the treated animals. There was major alive weight and better nourishing conversion from 21 days of life in benefit of the treatments with the pro biotic. The mortality, morbidity was diminished and viability was improved. The application of the bio preparation with *Lactobacillus salivarius* improved the immunological, microbiological, productive indicators and health of the chickens.

Key words: probiotics, *Lactobacillus salivarius*, microorganisms, intestinal, immunology.

INTRODUCCION

La avicultura moderna, caracterizada por la explotación intensiva de la producción, no está exenta de diversos factores causantes de desequilibrios de la microflora intestinal en los animales. Factores tales como la alta densidad de población, los programas de vacunación, las altas o bajas temperaturas, la humedad inadecuada, la incidencia de gases tóxicos, la alta carga de microorganismos patógenos y la inmunodepresión, son algunas de las problemáticas causantes de altos niveles de estrés en las aves.

En el Ecuador, la producción avícola presenta, con mucha frecuencia, enfermedades gastrointestinales; el tracto gastrointestinal del pollo es el órgano que con mayor frecuencia es atacado por agentes patógenos, los cuales terminan provocando patologías severas que afectan a las aves de todas las edades, provocando una mortalidad en altos porcentajes y si no se controla a tiempo obtendremos pobre incremento de peso de los animales que sobreviven, lo que provoca una disminución notable en los rendimientos de la masa adulta para obtener resultados económicos rentables.

Cada vez es mayor el uso de probióticos en la avicultura, en general, la razón de esto hay que buscarla en el amplio abanico que ofrece su uso. Debido a que los probióticos son de origen natural, seguros, generalmente estable, no producen efectos acumulativos y provienen del tracto intestinal de la misma especie animal para los cuales van a ser usadas (Serrano *et al.*, 2000).

Para solucionar esta problemática es posible el uso de probióticos con base en bacterias ácido lácticas. Entre los de mayor interés se encuentran *Lactobacillus spp* aislados del ambiente intestinal de aves, ampliamente utilizados en la elaboración de estos productos. La adherencia "*in vivo*" de la supervivencia a través del estómago animal es más fácil de lograr. De ahí que el éxito de un probiótico dependa, en gran medida, de realizar una buena selección de cepas que posean la capacidad de sobrevivir y adherirse a la mucosa intestinal.

La evaluación del efecto del probiótico contribuyó nuevas opciones al sector productivo pecuario en especial en pollos de ceba, con el fin de mejorar el balance microbiano intestinal, solucionar problemas para satisfacer de las demandas necesarias de consumo, con una

sostenibilidad económica para la seguridad alimentaria.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad probiótica de un biopreparado a base de *L. salivarius*, aislados de pollos de ceba, sobre indicadores inmunológicos, microbiológicos, productivos y de salud en estos animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo el biopreparado a partir del crecimiento de un cultivo de *L. salivarius*. Se utilizaron 400 pollos de ceba del híbrido comercial ROSS 308, de un día de edad distribuidas en cuatro grupos experimentales de 100 aves cada uno, según diseño completamente aleatorizado. Se hicieron cuatro repeticiones de 25 animales por tratamientos. Los tratamientos utilizados fueron: T1 (control sin biopreparado); T2, T3 y T4 con 0.5; 1.0 y 1.5 mL por litro de agua, respectivamente.

El experimento se desarrolló en el Barrio San Lorenzo de la ciudad de Calceta Cantón Bolívar. La crianza fue en jaula. El sistema de alimentación fue *ab libitum*, con un concentrado de inicio de 0 a 28 días, y otro de finalización de 29 a 45 días. Los mismos estaban basados en una dieta de maíz-soya, según los requerimientos del estándar de requerimiento nutritivo (1994).

Las aves se sometieron a las mismas condiciones experimentales durante el ciclo de vida de 42 días con tres momentos de muestreo (28, 35 y 42 días).

Se vacunaron con Marek, Viruela aviar, Newcastle, y Gumboro.

Para determinar el efecto probiótico se seleccionaron y sacrificaron diez animales: 4 por tratamiento en cada muestreo. La selección se realizó sobre la base del peso promedio de cada grupo de aves, en un rango de ± 10 %. El procedimiento para evaluar la actividad biológica del biopreparado se describe a continuación:

A los 28, 35 y 42 días se tomaron muestras del contenido cecal (1 g) de 4 pollos por tratamiento, las que se homogenizaron en 9 mL de agua peptonada para *Lactobacillus* y en SSE para los demás grupos microbianos.

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 nutriente (MERCK); coliformes Agar Mackconkey (MERCK); *Lactobacillus* Agar MRS (MERCK); *Bacillus spp* Agar Nutriente (MERCK).

Para efectuar el conteo de los diferentes grupos microbianos se realizaron diluciones seriadas de las muestras del contenido cecal de los pollos, en una relación de 1:10 (v/v), en agua de peptona para los *Lactobacillus* y en SSE para los demás grupos microbianos. Para coliformes se hicieron diluciones 10^{-1} hasta 10^{-6} , para los grupos de *Bacillus* y anaerobios totales las diluciones fueron desde 10^{-1} hasta 10^{-12} , para *Lactobacillus spp* desde 10^{-1} hasta 10^{-11} .

Durante los muestreos a los 25, 35 y 42 días se tomaron muestras de 1 g de contenido cecal y se diluyeron en 10 mL de agua destilada y se agitaron; se procedió, entonces, a su lectura en un pH metro digital (BasiC20.Crison).

Procesamiento estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el sistema Stargraph versión 5.0. Los análisis de varianza se realizaron para verificar diferencias significativas entre las medias, con un nivel de significación de $P < 0.05$. La prueba de Duncan

(1955) se usó para realizar las comparaciones múltiples entre las medias. Los conteos de microorganismos viables se transformaron a Log N, para garantizar las condiciones de normalidad en la curva de crecimiento. Para el análisis, se aplicó la fórmula $(K+N)10^x$, donde K es la constante que representa el logaritmo de la dilución en la cual se inoculó el microorganismo; N es el logaritmo del número de UFC determinado; 10 es la base de los logaritmos y X es la dilución a la cual se efectuó la inoculación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La dinámica del peso del timo con la aplicación de un biopreparado con *L. salivarius* en pollos de ceba se presenta en el Gráfico 1. Se observa un incremento de peso ($P < 0,01$) en todos los animales tratados con el biopreparado y momentos de muestreo, con los mayores peso en el tratamiento T3 a los 42 días.

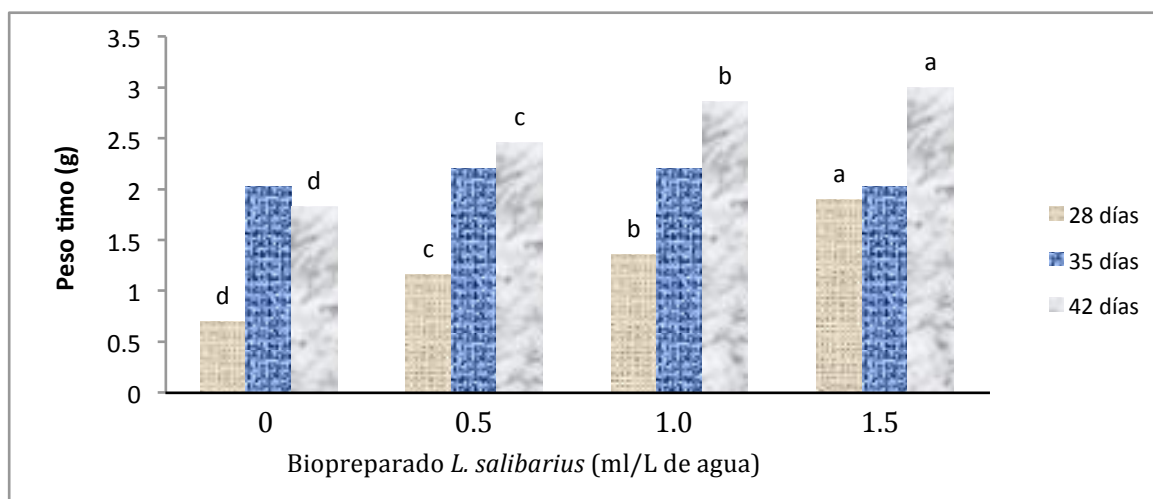


Gráfico 1. Dinámica del peso del timo. a,b,c,d letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 0.07$

El gráfico 2 muestra la dinámica del peso de la bolsa de Fabricio cuando se aplicó el biopreparado. Se observa un incremento de peso ($P < 0.01$) en los animales tratados y momentos de muestreo, con los mayores pesos en el tratamiento T3 a los 35 y 42 días.

El timo y el bazo desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmune en los

animales (Rondón, 2009). Los incrementos del timo y el de peso en estos órganos encontrados en el presente trabajo, son similares a los informados por Saloff-Coste (1994) con el empleo de *Lactobacillus spp* en pollos de ceba. Resultados coincidentes se reportan también por Hamid *et al.*, (2005) con el uso de cultivos de *Lactobacillus spp* en Broiler.

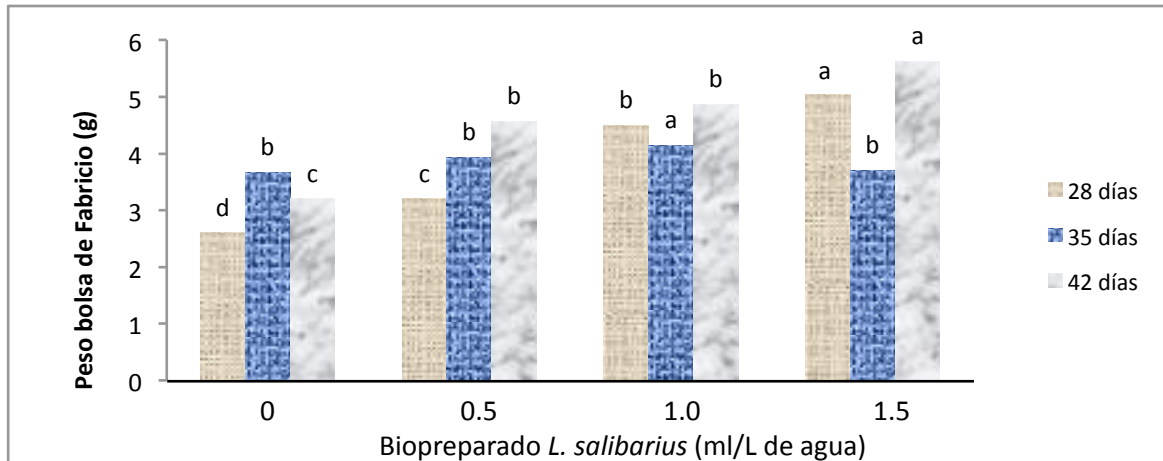


Gráfico 2. Dinámica del peso de la bolsa de Fabricio a,b,c,d letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 0,22$

Los conteos microbianos en los ciegos, con los diferentes tratamientos y momentos de muestreos, se muestran en los gráficos 3, 4 y 5. Hay una disminución en el conteo de coliformes totales

($P < 0,01$) en los animales con *L. salivarius* e incrementos en el número de *Bacillus spp*, totales aeróbicos, *Lactobacillus spp* y totales anaeróbicos en estos animales.

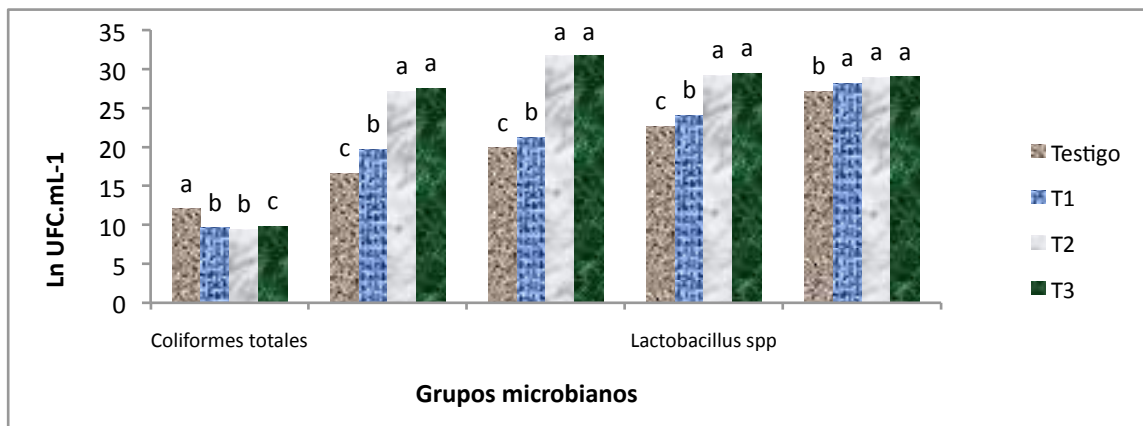


Gráfico 3. Conteo microbiano en los ciegos de los pollos a los 28 días de edad. a,b,c letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 1.65$

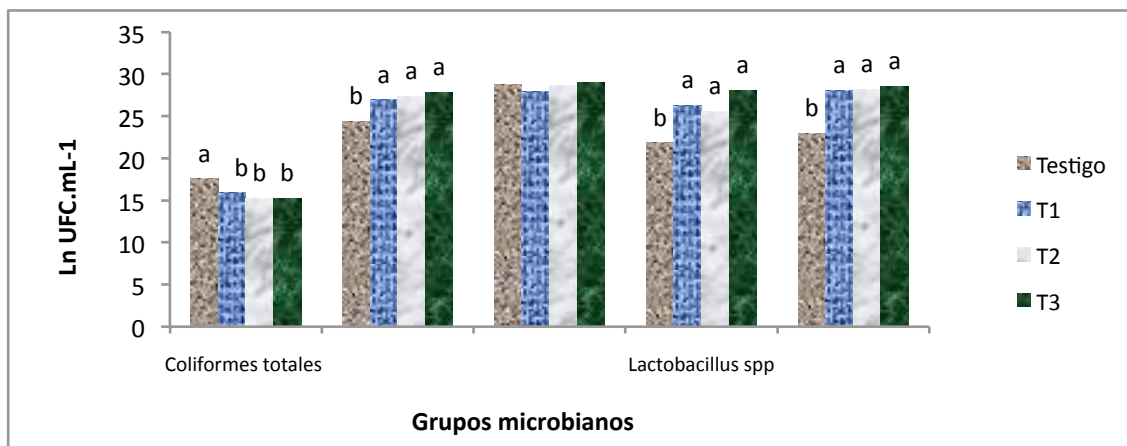


Gráfico 4. Conteos microbianos ante la aplicación de un biopreparado con *Lactobacillus spp* en pollos de engorde a los 35 días de edad del pollo. a,b, Letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0,01$ $EE \pm 1,76$

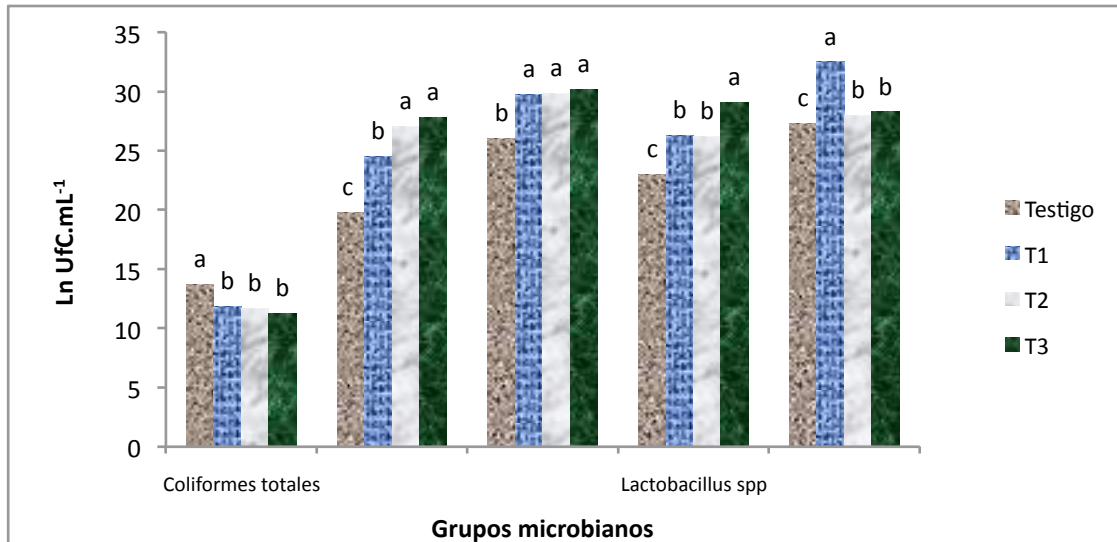


Gráfico 5. Conteos microbianos en los ciegos de los pollos a los 42 días de edad. a,b,c, letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 1.41$

La disminución en el conteo de coliformes totales en los animales con *L. salivarius* y los incrementos en el número de *Bacillus spp.*, totales aeróbicos, *Lactobacillus spp.* y totales anaeróbicos en estos animales demuestran la acción del biopreparado probiótico empleado. Estos resultados coinciden con los reportados por Stern et al. 2006 quienes comprobaron la inhibición de *Campylobacter jejuni* por *L. salivarius* en pollos de ceba.

Los gráficos 6 y 7 muestran la dinámica del peso vivo y la conversión alimenticia ante la aplicación del biopreparado en pollos de engorde. Se produjo un incremento en el peso vivo ($P < 0.01$) en todos los animales tratados con los mayores peso en el tratamiento T3 a los 28, 35 y 42 días de edad.

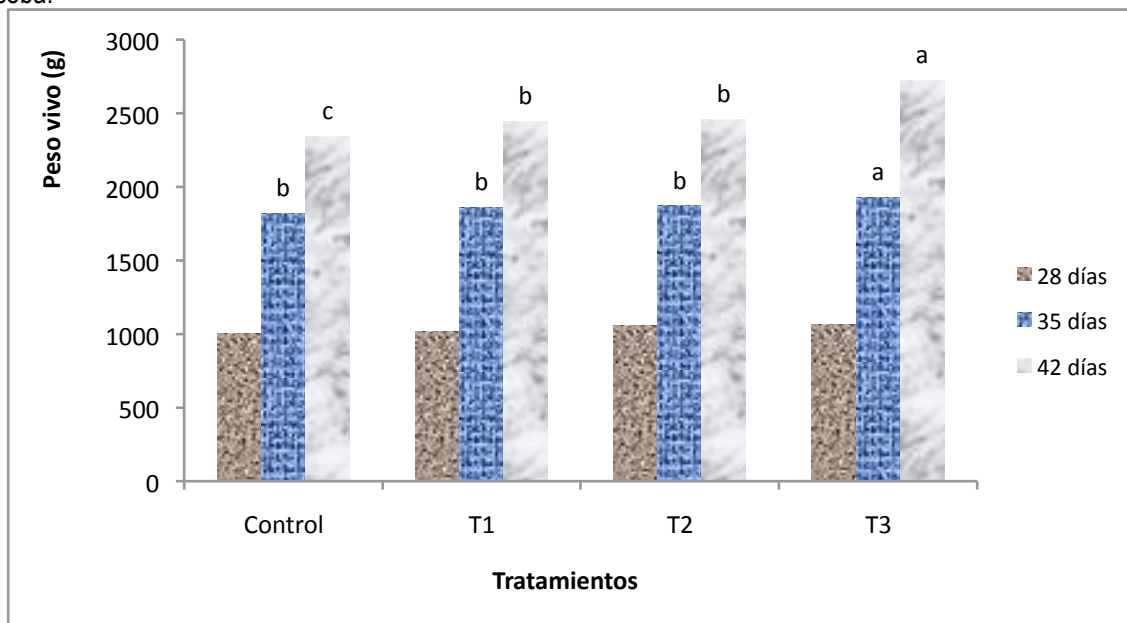


Gráfico 6. Dinámica del peso vivo del pollo. a,b,c letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 0.40$

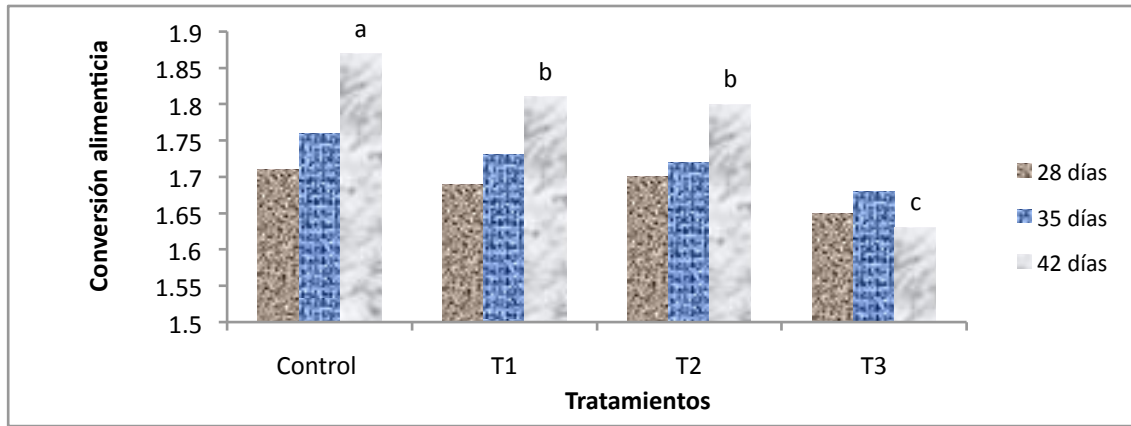


Gráfico 7. Dinámica de la conversión alimenticia en pollos de ceba. a,b,c, letras diferentes entre tratamientos en cada momento de muestreo difieren para $P < 0.05$ (Duncan, 1955). $P < 0.01$ $EE \pm 13.61$

El incremento en el peso vivo y la mejora en la conversión alimenticia, en los animales tratados con el biopreparado en todas las edades, se relacionan con los efectos beneficiosos sobre los indicadores inmunológicos y microbiológicos en el tracto digestivo, expuestos anteriormente. Estos resultados coinciden con los encontrados por Rondón, (2009) quien utilizó una cepa de *L. salivarius* en Broilers. Igualmente, Samaniego et al. 2007 utilizaron una mezcla de bacterias lácticas en broilers y alcanzaron un mayor peso vivo y una mejor conversión alimenticia en los animales tratados.

CONCLUSIONES

Con el empleo de un cultivo de *Lactobacillus salivarius* como probiótico en pollo de engorde, en un ciclo de crianza de 42 días, se obtuvo mejoras en indicadores inmunológicos, microbiológicos, productivos y de salud.

LITERATURA CITADA

Garrity G.M., Bell J.A. y Lilburn T.G. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition. Release 5. P.190-195.
<<http://141.150.157.80/bergeysoutline>>.

Hamid R. Haghghi, Jianhua Gong, Carlton L. Gyles, M. Anthony Hayes, Babak Sanei, Payvand Parvizi, Haris Gisavi, James R. Chambers, and Shayan Sharif. 2005. Modulation of Antibody-Mediated Immune Response by Probiotics in Chickens. Clin Diagn Lab Immunol. 12 (12): 1387-1392.

Kandler O. y Weiss N. 1986. Genus *Lactobacillus*. En Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2, Williams & Wilkins (eds.), Baltimore, p. 1208-1234.

Rondón 2009. Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación integral de las respuestas de tipo probióticas provocadas en estos animales. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal, Cuba.

Saloff-Coste, C. 1994. Fermented milks: effects on the immune system. Danone World Newsletter. 9, 2-8.

Samaniego Fernández, L. M., M. Laurencio, M. Pérez, G. Milián, A. Rondón. 2007. Actividad probiótica de una mezcla de exclusión competitiva sobre indicadores productivos en pollos de ceba. Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria. 5 (5): 360-367

Stern N., Svetoch E., Eruslanov B., Perelygin V., Mitsevich E., Mitsevich I., Pokhilenko V., Levchuk V., Svetoch O., Seal B. 2006. Isolation of a *Lactobacillus salivarius* Strain and Purification of Its Bacteriocin, Which Is Inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the Chicken Gastrointestinal System. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 50 (9): 3111-3116.