

## Aditivos probióticos obtenidos en Cuba

Grethel Milian<sup>1</sup>, Ana. J. Rondón<sup>1</sup>, Marta Laurencio<sup>1</sup>, R. Bocourt<sup>2</sup> y M. Pérez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios Biotecnológicos, Universidad Matanzas, Cuba

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, San José de Las Lajas, La Habana, Cuba

<sup>3</sup>Universidad Estatal Amazónica, Profesor Invitado de Cuba

---

### Resumen

Se analizaron resultados obtenidos en el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Universidad de Matanzas, Cuba (CEBIO) en el desarrollo de probióticos a partir de materias primas nacionales residuales o subproductos. Se presentan los resultados con dos de estos productos: uno a partir de un cultivo de *Bacillus subtilis* y otro a partir de un cultivo de *Lactobacillus salivarius*, los que se evaluaron mediante un diseño experimental completamente aleatorizado con 300 pollos y 3 tratamientos: grupo control, grupo con cultivo de *B. subtilis* y grupo con cultivo de *L. salivarius*. Se estudiaron los indicadores peso promedio, ganancia de peso, índice de conversión, viabilidad, peso de la canal y relación peso de la canal/peso vivo. Los mejores resultados fueron alcanzados con el cultivo de *L. salivarius* ( $p < 0.05$ ). Estos resultados, demuestran que es posible, en las condiciones actuales de Cuba, desarrollar productos alternativos que permitan sustituir a los antibióticos promotores del crecimiento como aditivos alimentarios en la producción animal.

### Abstract

The experiences obtained in the Center of Biotechnical Studies of the University of Matanzas, Cuba in the development of probiotics starting from locally available residual material or by-products were analyzed. The results are presented for two products: one from a cultivation of *Bacillus subtilis* and another from a cultivation of *Lactobacillus salivarius*, evaluated by means of a randomized experimental design with 300 chickens and 3 treatments: control group, group with cultivation of *B. subtilis* and group with cultivation of *L. salivarius*. Mean weight of the chickens, weight gain, conversion index, viability, channel weight and relationship channel weight / live weigh were studied. The best results were reached with the cultivation of *L. salivarius* ( $p < 0.05$ ). These results, demonstrate that it is possible, under the current conditions of Cuba, to develop alternative products as alternatives to antibiotics as growth additive in animal production.

**Palabras claves:** Probióticos, *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus subtilis*, indicadores productivos.

## Introducción

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 (Naheeda, 1997; Panisello, 2005).

A nivel mundial se conoce la necesidad de sustituir los antibióticos promotores del crecimiento (APC) utilizados como aditivos alimentarios en la producción animal, por otros aditivos alternativos que sean compatibles con el medio ambiente y que eviten efectos negativos en la salud humana, tales como los probióticos (Coppola & Gil-Tuners, 2004; Tim *et al.*, 2006; Castanon, 2007).

Los probióticos son bacterias vivas beneficiosas crecidas en el laboratorio y suministradas con el alimento. Estas se usan para mejorar la salud del tracto gastrointestinal y sólo son efectivas cuando sus necesidades nutricionales para el crecimiento son

cubiertas (Ferreira y Teshima, 2000; Barbosa *et al.*, 2005).

Dentro de los productos considerados con actividad probiótica se encuentran microorganismos lácticos autóctonos de tracto digestivo de animales y el hombre. Se destacan por su efectividad, en la mejora de los indicadores productivos, las bacterias aisladas del tracto gastrointestinal (TGI) de aves libre de patógenos (SPF) y usadas como probióticos en este mismo propósito aviar. Estos cultivos producen sus efectos probióticos, principalmente, por la exclusión de microorganismos potencialmente patógenos, el estímulo a la respuesta inmunológica y la prevención de enfermedades infecciosas (Spring *et al.*, 1996; Nomoto, 2005; Hamid *et al.*, 2006; Bocourt *et al.*, 2007).

La producción intensiva aviar implica la no presencia de la madre junto al pollito en el momento de la eclosión ni posteriormente y la posible contaminación, por esa causa, con enteropatógenos que afectan a los indicadores productivos y de salud, en estos animales se justifica el empleo de probióticos desde el primer día de edad del pollito. Teniendo en cuenta estos planteamientos, surge la necesidad de desarrollar productos nacionales para ser utilizados como sustitutos de los

APC, con calidad competitiva a nivel internacional y a precios más asequibles. Es importante incrementar la divulgación sobre esta problemática a productores, empresarios y gobierno, de manera que se logre el uso efectivo de estos productos. Además, con vistas a reducir costos y a la vez contribuir a la protección del medio ambiente, se debe enfatizar la necesidad de utilizar, subproductos o residuales de las actividades agroindustriales. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto probiótico de *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus salivarius* obtenidos en medios desarrollados en Centro de Estudios Biotecnológicos de la Universidad de Matanzas, Cuba (CEBIO) sobre indicadores productivos en pollos de engorde.

## **Materiales y métodos**

### **Elaboración de los Biopreparados**

Se obtuvieron a partir del crecimiento de un cultivo de *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn y uno de *Lactobacillus salivarius* Rogosa, previamente aislados y seleccionados de aves adultas saludables en medios estandarizados informados por Pérez (2000) y Rondón (2009) a base de melazas y levadura hidrolizada.

### **Procedimiento experimental**

Se utilizaron 300 pollos de ceba del híbrido comercial HE21, de un día de edad, distribuidas en tres grupos

experimentales de 100 aves cada uno, según diseño completamente aleatorizado. Se hicieron cuatro repeticiones de 25 animales por tratamiento. Los tratamientos utilizados fueron: grupo control, grupo con cultivo de *B. subtilis* y grupo con cultivo de *L. salivarius* a razón de 1 ml por kg de alimento. El experimento se desarrolló en el área de producción avícola del Instituto de Ciencia Animal.

Las aves se sometieron a las mismas condiciones experimentales durante el ciclo de vida de 42 días con muestreo para medir indicadores productivos realizados a los 28, 35 y 42 días de edad. Para determinar *in vivo* el efecto probiótico se realizó el pesaje de cada repetición. La selección para determinar el peso de la canal se realizó sobre la base del peso promedio de cada grupo de aves.

### **Esquema de vacunación**

Se siguió el esquema de vacunación siguiente: el primer día de edad *Marek*, viruela aviar, bronquitis infecciosa y primera dosis de *Gumboro*. A los siete días la segunda dosis de *Gumboro*. A los 14 días *Newcastle* y a los 21 la tercera dosis de *Gumboro*.

### **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  $p < 0,05$ . Duncan (1955) se usó para las comparaciones múltiples entre las medias.

### Resultados y discusión

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos a los 42 días de edad de crianza de los pollos de ceba. El peso más alto fue obtenido para el tratamiento con cultivo de *Lactobacillus salivarius* ( $p < 0,05$ ) pero estos se encuentran por debajo del estándar recomendado para la estirpe utilizada en este experimento (Instructivo Técnico, 2004).

Para la conversión alimenticia el valor más bajo fue obtenido para el tratamiento con el cultivo de *Lactobacillus salivarius*, este valor estuvo bajo el estándar de la estirpe utilizada. No se obtuvieron diferencias con la viabilidad. Para el peso de la canal el mayor valor correspondió al tratamiento con *Lactobacillus salivarius*, lo mismo ocurrió con la relación peso de la canal / peso vivo pero sin diferencias con el tratamiento con cultivo de *Bacillus subtilis*.

Los resultados del presente trabajo confirman el beneficio de emplear productos probióticos con el empleo de cepas de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis* para obtener un mejoramiento en

indicadores productivos de pollos de ceba sin tener que emplear APC. *Lactobacillus salivarius* es dominante en la microflora de las aves de corral, por lo tanto su adecuado suministro potencia el efecto probiótico con los beneficios esperados de su empleo (De Lima y Filho, 2005).

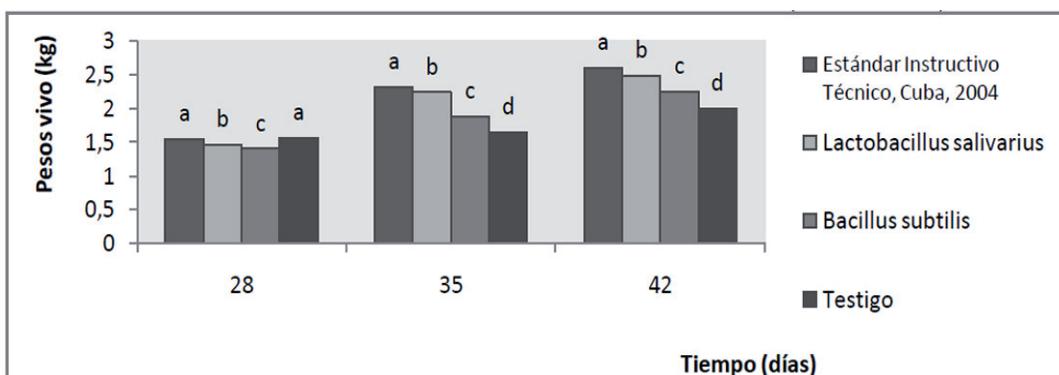
Los resultados obtenidos en este estudio fueron superiores para el tratamiento con cultivo de *Lactobacillus salivarius*. En ese sentido varios autores confirman el beneficio del empleo de cepas de esta especie en la producción avícola debido a que las mismas son capaces de mejorar los procesos digestivos por la producción de enzimas, el incremento de la flora beneficiosa (en particular de *Lactobacillus* spp.) así como mejorar la respuesta inmune de las aves a nivel intestinal (Rondón, 2009). Aunque se encontró una menor respuesta para *Bacillus subtilis* los resultados alcanzados en este trabajo, a partir de su empleo, evidencian una mejor repuesta productiva a los 42 días de edad en la conversión alimenticia y el peso vivo en relación a los animales usados como control.

En general, los mejores resultados obtenidos con este trabajo, favorecen al empleo del cultivo de *Lactobacillus salivarius* con respecto al cultivo de *Bacillus subtilis*, pero ambos mostraron el efecto probiótico deseado.

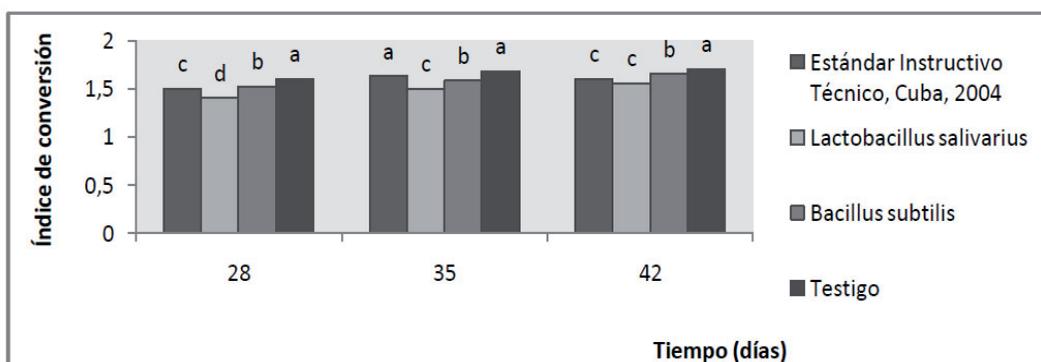
**Tabla 1.** Comportamiento de indicadores productivos en pollos de ceba a los 42 días con el empleo de dos cultivos probióticos.

Indicadores	Tratamientos (42 días)				ES±
	Testigo	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus Salivarius</i>	Instructivo Técnico	
Peso Promedio (kg)	2.00 <sup>c</sup>	2.25 <sup>c</sup>	2.48 <sup>b</sup>	2,60 <sup>a</sup>	0.10
Índice de Conversión (kg)	1.75 <sup>b</sup>	1.70 <sup>b</sup>	1.64 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	0.11
Viabilidad (%)	99.90	100	99,90	96,00	0.23
Peso de la Canal (kg)	1.35 <sup>c</sup>	1.42 <sup>b</sup>	1.48 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	0.16
Relación peso de la canal / peso vivo	5,99 <sup>b</sup>	6,30 <sup>a</sup>	6,41 <sup>a</sup>	-	5.43

<sup>a,b,c</sup> Valores con letras diferentes dentro de la misma fila difieren a  $P < 0.05$



<sup>a,b,c,d</sup> Valores con letras diferentes entre tratamientos en cada muestreo difieren a  $P < 0.05$

**Figura 1.** Dinámica del peso vivo en comparación (estándar Instructivo Técnico, Cuba 2004).

<sup>a,b,c,d</sup> Valores con letras diferentes entre tratamientos en cada muestreo difieren a  $P < 0.05$

**Figura 2.** Dinámica de la conversión alimenticia (estándar Instructivo Técnico, Cuba 2004).

El mejor comportamiento en los indicadores productivos peso vivo y conversión alimenticia están relacionados con la mejora en los indicadores de respuesta inmune y de microbiología intestinal. En ese sentido Milián (2008) encontró una mejora en estos indicadores cuando empleó un cultivo de *Bacillus subtilis* durante todo el ciclo de cría en pollos de ceba. Igual resultado fue obtenido por Opalinski *et al.* (2007) en pollos de ceba.

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. Rondón (2009) utilizó una cepa de *Lactobacillus salivarius* en *broilers* y obtuvo resultados muy favorables en los indicadores productivos. 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

La suspensión de la utilización de los antibióticos promotores del crecimiento (APC) en la producción animal, es una demanda del mercado moderno y los productores deben de estar preparados para enfrentar este desafío. De acuerdo a investigaciones

realizadas en el CEBIO, es posible desarrollar, en las condiciones actuales de Cuba, productos alternativos a los APC con el empleo de materias primas nacionales. Dentro de estos productos, se cuenta con cultivos de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis*, los que fueron probados en un ensayo de campo con resultados favorables en los indicadores productivos.

Los resultados de este estudio sugieren realizar una amplia divulgación sobre la necesidad de emplear aditivos alternativos a los APC en las actuales condiciones de la producción animal en Cuba. Asimismo es necesario continuar con las investigaciones de obtención y empleo de estos productos para comprobar su eficiencia en distintas condiciones de campo y en las específicas de la producción animal en Cuba.

## Literatura Citada

- Barbosa, T., R. S. Claudia, R. La Ragione, J. W. Martí y H. O. Adriano H. O. 2005. Screening for *Bacillus* isolates in the broilers gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology* 71(2): 968-978.
- Bocourt, R., Z. Rodríguez y Y. García Y. 2007. Metodología para la evaluación de productos probióticos en la respuesta fisiológica y productiva de animales de interés económico. II Congreso de Producción Animal Tropical. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.
- Castanon, J, R. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in

- European poultry feeds. Poultry Science 86: 2466-2471.
- Coppola, M. M y C. Gil- Tuners. 2004. Probiotics and immune response. Cienc Rural 34: 1297-1303.
- De Lima, E. T. y R. L. Filho. 2005. Bacteriocina, nomenclatures, detection, mechanism of action and potential use in poultry productions, Journal of Food, Agriculture and Environment 3(2): 62-66.
- Duncan, B. 1955. Multiple ranges and multiple F. Test. Biometrics 11(1): 1-42.
- Ferreira, C. L. y E. Teshima, E. 2000. Probióticos: Estrategia dietética para la mantenimiento de una microbiotacolónica saludable. Biotecnología Ciencia y Desarrollo. Año III No.16: 22-25.
- Hamid, R., J. G. Haghighi, L. Carlton, M. Gyles, A. Hayes, Z. Huaijun, S. Babak, R. J. Chambers, and S. Shayan. 2006. Probiotics Stimulate Production of Natural Antibodies in Chickens. Clin. Vaccine Immunol. 13(9): 975-980.
- Milian, G. 2009. Obtención de cultivos de *Bacillus* spp. y sus endosporas. Evaluación de su actividad probiótica en pollos (*Gallus gallus domesticus*). Tesis en Opción al Grado Científico de Doctora en Ciencia Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Cuba.
- Milián, G., M. Pérez y R. Bocourt. 2008. Empleo de probióticos basados en *Bacillus* sp. y de sus endosporas en la producción avícola. Revista. Cubana de Ciencia. Agrícola 42(2): 117-123.
- Naheeda, K. 1997. La nueva faceta de la Nutrición. Avicultura Profesional 15 (3): 37.
- Nomoto, K. 2005. Prevention of infection by probiotics. Journal of Biological Science Bioengineering 100(6): 583-592.
- Opalinski, M., A. Maiorka, F. Dahlke, F. Cunha, F. Vargas y E. Cardozo, E. 2007. On the use of a probiotic (*Bacillus subtilis*-strain DSM 17299) as growth promoter in broiler diets. Rev. Brasileira de Ciência Avícola 9(2): 1-3.
- Panisello, M. T. 2005. La patología y el medio ambiente en las Granjas de Broilers. Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne, Real Escuela de Avicultura, Valladolid, España del 2 al 27 de abril.
- Pérez, M. 2000. Obtención de un hidrolizado de crema de levadura de destilería y evaluación de su actividad probiótica. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- 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.
- Samaniego, L. M., M. Laurencio, M. Pérez, G. Milián y A. J. 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.
- Spring, P., K. Dawson, K. Newman y C. Wenks. 1996. Effect of Mannan Oligosaccharide on Different Cecal Parameters and on Cecal Concentration on Enteric Bacteria in Challenged Broiler Chicks. Seventeenth Annual Meeting of the

Southern Poultry Science Society.  
January 22-23. World Congress  
Center Atlanta. Georgia. pp. 60.

Tim, J., J. E. Dumonceaux, S. M. Hill, A.  
G. Hemmingsen y E. Van Kessel.

2006. Characterization of Intestinal  
Microbiota and Response to Dietary  
Virginiamycin Supplementation in the  
Broiler Chicken. *Appl. Environ.  
Microbiol.* 72(4): 2815–2823.