



Actividad probiótica de PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla en pollos de ceba

Ana J. Rondón-Castillo^{1*} ; César A. Betancur-Hurtado² ; Marlen Rodríguez-Oliva¹ ; Agustín Beruvides-Rodríguez³ ; Grethel Milián-Florida¹ .

¹Universidad de Matanzas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Centro de Estudios Biotecnológicos, Autopista a Varadero, km 3 ½, Matanzas, Cuba.

²Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Ciencias Pecuarias, Montería, Colombia.

³Universidad de Matanzas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Medicina Veterinaria, Matanzas, Cuba.

*Correspondencia: ana.rondon@umcc.cu

Recibido: Julio 2023; Aceptado: Diciembre 2023; Publicado: Enero 2024.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar las propiedades probióticas del PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla como biopreparados en los indicadores microbiológicos, productivos y en la salud de pollos en ceba. **Materiales y métodos.** Un experimento fue realizado con diseño completamente aleatorizado durante 42 días con cuatro tratamientos: T1. Basado sólo en la dieta (control), T2. PROBIOLACTIL[®] (biopreparado con *Lactobacillus salivarius* C-65) + dieta, T3. SUBTILPROBIO[®] (Biopreparado con *Bacillus subtilis* E-44) + dieta y T4. Mezcla de ambos biopreparados + dieta. **Resultados.** Los tratamientos donde se aplicaron los probióticos presentaron un incremento de lactobacilos y anaerobios totales ($p \leq 0.05$) y la reducción de los coliformes totales. En los indicadores productivos se observó que el peso vivo fue superior en las aves tratadas con la mezcla, y una mejora en el incremento de peso, la ganancia media diaria, la conversión alimenticia y el rendimiento de la canal. La aplicación de los aditivos redujo la mortalidad e incrementó la viabilidad en las aves. **Conclusiones.** La actividad sinérgica de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis* incrementa la actividad probiótica y favorece el comportamiento productivo y la viabilidad de los pollos de ceba.

Palabras clave: Avicultura; *Bacillus subtilis*; *Lactobacillus salivarius*; pollos (Fuente: DeCS).

ABSTRACT

Biopreparations with *Lactobacillus salivarius* and *Bacillus subtilis* are used as probiotics in poultry farming due to their beneficial effects on the intestinal ecosystem. **Objective.** To evaluate the probiotic activity of the biopreparations PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] and their mixture on microbiological, productive and health indicators in broilers. **Materials and methods.** An experiment with a completely randomized design was carried out for 42 days with four treatments: T1. Control diet (control group), T2. PROBIOLACTIL[®] (bioprepared with *Lactobacillus salivarius* C-65) + diet, T3. SUBTILPROBIO[®] (Bioprepared with *Bacillus subtilis* E-44) + diet and T4. Mixture of both

Como citar (Vancouver).

Rondón-Castillo AJ, Betancur-Hurtado CA, Rodríguez-Oliva M, Beruvides-Rodríguez A, Milián-Florida G. Actividad probiótica de PROBIOLACTIL[®], SUBTILPROBIO[®] y su mezcla en pollos de ceba. Rev MVZ Córdoba. 2024; 29(1):e3106. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3106>



©El (los) autor (es) 2024. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

biopreparations + diet. **Results.** The treatments where the probiotics were applied presented an increase in total lactobacilli and anaerobes ($p \leq 0.05$) and a reduction in total coliforms. Live weight was higher in birds treated with the mixture, and weight gain, average daily gain, feed conversion and carcass yield were improved. The application of additives reduced mortality and increased viability in birds. **Conclusions.** The synergistic activity of *Lactobacillus salivarius* and *Bacillus subtilis* increases probiotic activity and favors the productive performance and viability of broilers.

Keywords: *Bacillus subtilis*; chickens; *Lactobacillus salivarius*; poultry (Source: DeCS).

INTRODUCCIÓN

El uso de antibióticos para mantener el bienestar animal, promover el crecimiento y mejorar la eficiencia se practica desde hace más de 50 años. Sin embargo, ya en la década de 1950, los investigadores identificaron la preocupación sobre el desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos estreptomycin y tetraciclina utilizados en pavos y pollos de engorde, respectivamente. Estas investigaciones sentaron las bases para que los funcionarios agrícolas impusieran parámetros regulatorios más estrictos sobre la utilización de antimicrobianos en los alimentos para aves (1).

La restricción del uso de antibióticos en la dieta para promover el crecimiento animal suscitó el interés por encontrar enfoques alternativos. Dentro de ellos están los probióticos, cultivos de microorganismos vivos que se pueden formular en diferentes tipos de productos, incluidos alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos (2).

Entre las bacterias que más se emplean como probióticos en las aves están las de los géneros *Bacillus* spp. y *Lactobacillus* spp. (3,4,5). Diferentes investigadores refieren que estos microorganismos mejoran la composición microbiana beneficiosa del ecosistema gastrointestinal, inhiben a bacterias patógenas, estimulan el sistema inmune, producen enzimas que intervienen en la decomposición de los nutrientes, mejoran la integridad de la mucosa, neutralizan enterotoxinas, disminuyen la producción de amoníaco, mejoran la eficiencia productiva, así como la viabilidad en los animales (6,7).

Mediante investigaciones en el Centro de Estudios Biotecnológicos de la Universidad de Matanzas se obtuvieron los biopreparados SUBTILPROBIO® (cultivo de *Bacillus subtilis* C-31) y PROBIOLACTIL® (cultivo de *Lactobacillus salivarius* C-65), los cuales se evaluaron en

pollos de ceba y ponedoras (3,4), terneros (8,9) y cerdos en crecimiento (10) cuyos resultados fueron positivos en el rendimiento productivo: ganancia de peso, mejor conversión alimenticia y reducción de la mortalidad; sin embargo, no se ha investigado la forma de actuar de estos biopreparados cuando se suministran en mezcla con la dieta para pollos de ceba.

En la literatura se refiere que cuando se aplican mezclas de microorganismos beneficiosos puede producirse una relación sinérgica que potencia la actividad probiótica en el tracto gastrointestinal (11,12). Por esto, se plantea como objetivo en el presente trabajo evaluar la actividad probiótica de los biopreparados PROBIOLACTIL®, SUBTILPROBIO® y su mezcla, en indicadores microbiológicos, productivos y de salud en pollos de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los cultivos bacterianos. En la elaboración de 10 L de SUBTILPROBIO® y de PROBIOLACTIL®, se utilizaron cepas de *Bacillus subtilis* E-44 y *Lactobacillus salivarius* C-65, según describieron Milián (13) y Rondón (14) respectivamente. Para comprobar la calidad de los aditivos se utilizó el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) por mL a partir de la siembra en cajas de petri (que contenían agar MRS para *L. salivarius* y agar nutriente para *B. subtilis*), así como la medición del pH. Estos biopreparados se conservaron en frascos estériles con tapa de goma de 1 L a 5°C. Para la aplicación de la mezcla los cultivos se adicionaron en partes iguales (50:50).

Localización y duración. El experimento se realizó en marzo de 2021 en la finca San Agustín Zapata, de la Cooperativa Israel Cabrera, perteneciente a la productora privada Lucía Liset Marrero Tarifa, situada en el municipio de Unión de Reyes, Matanzas, Cuba. La temperatura promedio reportada fue de $23.9 \pm 2^\circ\text{C}$ y la

humedad de $50 \pm 2\%$ (15). El ensayo tuvo una duración de 42 días.

Diseño experimental. Se empleó un diseño completamente aleatorizado desde 1-42 días. Se utilizaron 2000 pollos machos de ceba de la raza Cornish de un día de edad, línea HEEP-55 de 42 ± 2 g de peso, suministrados por la Incubadora de la Empresa Genética Avícola, provincia de Matanzas. En el experimento se usaron 8 corrales de 1.25×3.75 m. Cada corral contenía 250 pollos con una densidad de 11 aves por metro cuadrado. Se aplicaron cuatro tratamientos con dos corrales de 500 pollitos cada uno: T1. Grupo Control, donde solo se suministró la dieta, T2. PROBIOLACTIL®+ dieta, T3. SUBTILPROBIO®+ dieta y T4. Mezcla de los dos biopreparados (50:50, v/v) + dieta. Los aditivos se aplicaron en el agua de bebida ($1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). Cada aditivo tenía una concentración de $10^9 \text{ ufc} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Alimentación. El alimento se elaboró a base de maíz y soya de acuerdo a lo instituido en el Instructivo Técnico N° 7 UCAN -IIA (16) para pollos de ceba. El agua y alimento fue suministrado "ad libitum". Los comederos utilizados eran de cilindro y los bebederos manuales de plástico con capacidad de 6 L. La temperatura de cada corral se controló a través de calentadores (MARHD) de 30×26 cm y con ventiladores y cortinas.

Indicadores microbiológicos. Obtención de las muestras: Se tomó 1 g del contenido cecal de cinco pollos por tratamiento a los 42 días. Las muestras fueron adicionadas a 9 mL con un medio diluyente (17), luego se conservaron anaeróticamente (5% atmósfera de CO_2).

Medios selectivos: Para el recuento de diferentes grupos microbianos en los ciegos de los pollos se utilizaron medios selectivos, como agar NRF para los anaerobios totales (18), agar bilis rojo - violeta (OXOID), para coliformes, y agar MRS (BioCen, Cuba), para *Lactobacillus* spp.

Conteos de microorganismos: Con las muestras obtenidas se hicieron diluciones seriadas (1:10, p/v) en medio diluyente hasta alcanzar una dilución de 10^{-11} . Diluciones de 10^{-10} , 10^{-11} y 10^{-12} se utilizaron para el conteo de lactobacilos y anaerobios totales y de 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} para coliformes; las cuales fueron replicadas tres veces (0.5 mL) en tubos rodados (tubos roll) con 5 mL de medio de cultivo selectivo (20). La técnica de Hungate fue utilizada para los anaerobios totales en condiciones de

anaerobiosis estricta (18). El conteo microbiano fue realizado luego de incubar a 37°C (los *Lactobacillus* por 72 h, coliformes por 24 h y para anaerobios totales por 7 días). El conteo de UFC se hizo con lupa por observación de las colonias.

Evaluación del efecto de los biopreparados en indicadores productivos y de salud. El peso vivo (PV) fue registrado con balanza técnica (Sartorius). Se determinó el incremento de peso (IP), la ganancia promedia diaria (GMD), el consumo de materia seca (CMS) y la conversión alimenticia (CA), a los 14, 30 y 42 días, mientras que la mortalidad se observó a lo largo del período experimental. Al final del experimento (42 días) se calculó el rendimiento de la canal. El manejo de los animales y el cálculo de los indicadores se realizó según el Instructivo técnico: "pollos de engorde, tecnología de crianza y regulaciones sanitarias generales" (16).

Procesamiento estadístico. Para este fin se utilizó un programa estadístico INFOSTAT, versión 1 (19). Para la comparación de las medias se usó la prueba de Tukey (20) a 95% de significancia. El Test CompaPro (21) empleó para determinar si se presentaban diferencias estadísticas para la mortalidad y la viabilidad con un 95% de confianza. En el análisis de los datos se valoró el efecto de los corrales. Los valores de UFC se transformaron a Log para lograr normalidad de los datos.

Aspectos éticos. Antes del arribo de los pollitos a la granja se desarrollaron todos protocolos para la desinfección de los cuartos siguiendo las instrucciones técnicas del Instructivo Técnico para la crianza del pollo de ceba (16). Durante la realización del experimento se tuvieron en cuenta las condiciones óptimas para lograr el bienestar animal de las aves, tales como calentadoras (para la etapa de inicio), ventiladores y cortinas para evitar el estrés por calor, agua y alimento con los requerimientos nutricionales de cada etapa. El desarrollo del experimento fue avalado en la Universidad de Matanzas, por el Comité de ética del Departamento de Medicina Veterinaria y en él se cumplieron las normas establecidas en el Decreto Ley de bienestar animal de Cuba (22).

RESULTADOS

Se evidenció un incremento del peso vivo en todas las etapas en las aves que recibieron el biopreparado comparadas con el grupo control. En la figura 1 se muestra el peso vivo en los

animales evaluados. En los animales donde se suministraron los probióticos, se observó un incremento de peso ($p \leq 0.001$) a los 14 días, en relación con el grupo control, pero sin mostrar diferencias entre estos grupos. A los 30 y 42 días, se hicieron más evidentes las diferencias ($p \leq 0.001$) con respecto al grupo I o control, observándose mayor peso en las aves que consumieron la mezcla probiótica.

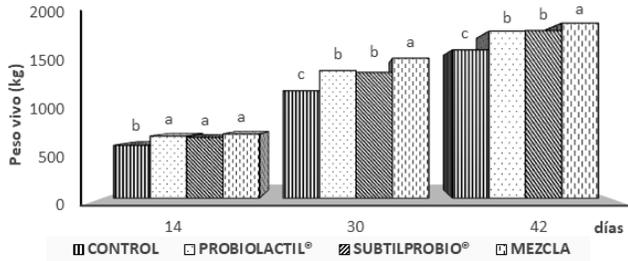


Figura 1. Efecto de los biopreparados en el peso vivo de las aves durante todo el experimento para $p \leq 0.05$. 14 días: $\pm EE = 14.82$; 30 días: $\pm EE = 8.15$ y 42 días: $\pm EE = 10.59$.

En la tabla 1 se muestran estos resultados del cálculo para los diferentes indicadores

productivos. Desde los 14 días se observa que las aves que consumieron los biopreparados probióticos, ya sea en monocultivos (T2 y T3) o su mezcla (T4), presentaron mayor GMD e IP ($p \leq 0.001$), ya a partir de los 30 días se produjo un incremento de estos indicadores en el grupo de aves que consumieron la mezcla, seguidos por los que se les suministró PROBIOLACTIL® y SUBTILPROBIO® en comparación con el control.

La tabla 2 muestra los efectos de los biopreparados sobre los indicadores de salud de los animales. Se constató que las aves que consumieron los biopreparados evidenciaron una reducción de la mortalidad y mayor viabilidad que el grupo control ($p \leq 0.05$).

En la tabla 3 se muestra la población de coliformes, anaerobios totales y lactobacilos del ciego al utilizar los diferentes tratamientos. Se aprecia que los coliformes estuvieron en mayor proporción en el grupo control y en menor en los tratamientos con PROBIOLACTIL® y la mezcla. Sin embargo, los anaerobios totales y lactobacilos se incrementaron con los biopreparados probióticos ($p \leq 0.001$).

Tabla 1. Acción de los biopreparados en los índices productivos de pollos de ceba a lo largo del experimento.

Indicador	Días	CONTROL	PROBIOLACTIL®	SUBTILPROBIO®	MEZCLA	P ± EE
Ganancia media diaria (GMD, g)	14	34.21 ^b	43.34 ^a	42.30 ^a	44.93 ^a	0.001 ± 1.03
	30	45.01 ^c	49.93 ^b	49.72 ^b	55.27 ^a	0.001 ± 1.18
	42	45.23 ^c	51.01 ^b	51.26 ^b	56.06 ^a	0.001 ± 0.25
Consumo de materia seca (CMS, g)	14	498.50	528.75	516.36	508.23	0.302 ± 12.02
	30	2100.28	2233.18	2216.21	2218.45	0.241 ± 10.02
	42	3515.2	3543.0	3552.5	3578.5	0.201 ± 14.08
Conversión alimenticia (CA)	14	0.85 ^a	0.77 ^b	0.76 ^b	0.71 ^b	0.001 ± 14.82
	30	1.76 ^a	1.60 ^b	1.61 ^b	1.48 ^c	0.001 ± 8.15
	42	1.81 ^a	1.62 ^b	1.62 ^b	1.49 ^c	0.001 ± 10.59

Tabla 2. Efecto de la inclusión de los aditivos probióticos en la mortalidad y viabilidad en pollos de engorde de 0 a 42 días de edad.

Indicador	CONTROL	PROBIOLACTIL®	SUBTILPROBIO®	Mezcla probiótica	P ± EE
Mortalidad (%)	4.2 ^a	2.4 ^b	2.6 ^b	1.8 ^b	0.04 ± 0.02
Viabilidad (%)	95.80 ^b	97.60 ^a	97.4 ^a	98.20 ^a	0.04 ± 0.02

Tabla 3. Indicadores microbiológicos en el ciego de las aves a los 42 días con el uso de los biopreparados probióticos.

Indicador	Tratamientos (Log ufc.g ⁻¹)				P ± EE
	CONTROL	PROBIOLACTIL®	SUBTILPROBIO®	Mezcla	
Coliformes	8.22 ^a (1.71X10 ⁸)	6.60 ^c (4.06X10 ⁶)	6.75 ^b (5.74X10 ⁶)	6.32 ^c (2.18X10 ⁶)	0.0010.04
Anaerobios totales	11.69 ^b (5.10X10 ¹¹)	12.80 ^a (6.64X10 ¹²)	12.53 ^a (3.96X10 ¹²)	12.86 ^a (7.50X10 ¹²)	0.0010.08
<i>Lactobacillus</i>	10.70 ^c (5.18X10 ¹⁰)	12.87 ^a (7.38X10 ¹²)	11.69 ^b (5.50X10 ¹¹)	12.78 ^a (6.36X10 ¹²)	0.0010.07

Datos originales entre paréntesis.

DISCUSIÓN

El uso de probióticos en el ganado mejora significativamente la salud, la inmunidad, el rendimiento, la digestibilidad nutricional y el equilibrio microbiano intestinal. Estos biopreparados son útiles para regular las bacterias beneficiosas y el recambio microbiano mediante la estimulación del sistema inmune del huésped a través de secreciones específicas y la exclusión competitiva de los microorganismos potencialmente patógenos del tracto gastrointestinal (23).

La actividad de las bacterias probióticas comienza desde el inicio de vida de los polluelos. Fundamentalmente los lactobacilos, colonizan el tracto intestinal de las aves para lograr un estado de eubiosis frente a patógenos, mejorando así sus indicadores biológicos. Los probióticos también pueden influir beneficiosamente en la productividad y en el bienestar de los animales. Estos biopreparados estimulan el microbioma nativo y la elaboración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), con efectos probados como antimicrobianos, hipocolesterolémicos e inmunomoduladores, lo cual contribuye a una mejor capacidad de absorción de nutrientes y superiores respuestas en el rendimiento del ganado (24).

Resultados similares al presente trabajo obtuvieron Vera et al (25) cuando suministraron a pollos de ceba monocultivos de cepas probióticas o biopreparados en mezcla: *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis*. Estos investigadores refirieron que el mejor tratamiento fue el T4 o mezcla y que todos los biopreparados probióticos mejoraron en los pollos ceba los indicadores productivos. Es importante resaltar que el efecto de la aplicación de la mezcla se evidenció a los 30 días. Autores como Aliakbarpour et al (26) refieren que los pollos alimentados con probióticos a base de *Bacillus subtilis* y bacterias ácido lácticas (BAL) manifiestan mayor peso vivo en relación al grupo control. Se conoce que *Lactobacillus salivarius* es una de las bacterias predominantes del tracto digestivo de las aves (27) y *Bacillus subtilis* forma parte de la microbiota que comúnmente se encuentra en estos animales (28). De acuerdo a estos resultados se demuestra que a partir de la acción conjunta de estos microorganismos o la sinergia que se establece, se potencia la actividad probiótica.

En la literatura se encuentran otros trabajos donde se emplea a *Lactobacillus salivarius* como probiótico. En este sentido Blajman (29) administró un cultivo fresco de *L. salivarius* DSPV 001P para estimar su efecto en la microbiota intestinal y en los parámetros productivos de pollos de ceba. Se evaluó el grado de colonización y la persistencia *in vivo* de esta bacteria la cual se suministró en el alimento a los pollos durante 16 días. Se comprobó que *L. salivarius* pudo aislarse 28 días después del cese de la suplementación y que su inclusión aumentó el consumo de alimento y el incremento de peso en las aves; por otra parte, su aplicación disminuyó notablemente la mortalidad de los pollos.

Las potencialidades probióticas de *Lactobacillus salivarius* también se avalaron por Xu et al (30), quienes aislaron 57 cepas de *Lactobacillus* de la microbiota intestinal de 17 razas de pollos diferentes en China. Estos autores escogieron al *Lactobacillus salivarius* CML352 como la cepa que más influyó en los indicadores productivos y de salud intestinal en gallinas ponedoras. *L. salivarius* CML352 mostró alta tolerancia a los ácidos y sales biliares, alta hidrofobicidad, autoagregación y actividades antibacterianas. Resultados similares obtuvo Rondón (14) cuando evaluó las potencialidades probióticas de *Lactobacillus salivarius* C-65, cepa empleada en este trabajo.

El efecto de la mezcla y los biopreparados de forma independiente confirman los resultados de Chen et al (31), quienes manifestaron que la suplementación con *Lactobacillus salivarius* mejora los indicadores productivos, la función del hígado y la calidad de la carne de los pollos de ceba, aún cuando los animales sean desafiados con aflatoxina B1 (AFB1). La suplementación de esta bacteria aumentó los anticuerpos específicos y la producción de IFN-g y la multiplicación de linfocitos en pollos de engorde desafiados con AFB1 después de la inmunización contra la enfermedad de Gumboro, lo que demuestra su actividad estimuladora del sistema inmune y la protección que puede ejercer ante el ataque de microorganismos patógenos.

La inclusión de SUBTILPROBIO® (cepa *Bacillus subtilis* C-31) como suplemento alimenticio en las aves también provocó mejoras en el peso vivo en relación al grupo control. Resultados similares obtuvieron Mohamed et al (32) cuando

aplicaron cultivos de *Bacillus subtilis* a pollos de engorde y mejoraron el crecimiento y la función inmunitaria al modular la morfología intestinal y la microbiota del ciego.

De acuerdo a Xu et al (33) las cepas de *Bacillus* spp. tienen la capacidad de sobrevivir a los diversos pH y concentraciones de bilis, lo cual indica que sobrevivirán al ambiente del tracto gastrointestinal de los pollos. Estos autores también manifiestan que los microorganismos probióticos provocan cambios notables en el citoesqueleto de las células superficiales de la mucosa. Estos cambios en la estructura celular se deben a que las cepas de *Bacillus* son capaces de inhibir el crecimiento de patógenos que colonizan este tejido y causan enfermedades en las aves.

Wang et al (34) también evaluaron las propiedades probióticas de *Bacillus subtilis* KC1 como aditivo para piensos de aves de granja. Estos autores demostraron que la suplementación con esta cepa aumentó el peso corporal, el peso relativo de órganos inmunes y disminuía la conversión alimenticia. Además, se demostró que este aditivo alivió los efectos adversos causados por el estrés calórico y el desafío con *Salmonella pullorum*.

Todos los tratamientos con probióticos mejoraron la viabilidad de las aves. En general, se conoce que *B. subtilis* tiene la capacidad de proteger al epitelio intestinal contra la infección por *Salmonella*, *E. coli* y otros patógenos, ya que reduce la adhesión e invasión de estos microorganismos al potenciar la barrera intestinal y atenuar las respuestas inflamatorias de los enterocitos. De esta forma, activa el sistema inmunológico con la producción de sustancias antibacterianas (35).

Medina-Saavedra et al (36) analizaron el comportamiento inmunitario en pollos de ceba con el uso de *B. subtilis*. Estos autores refieren que esta bacteria actúa en la inmunidad innata de las aves y que esta característica se relaciona con la producción de altos niveles de óxido nítrico (ON). Esta molécula regula el tono vascular, activa las plaquetas y la respuesta inmune actuando como un mensajero intercelular o también como neurotransmisor del sistema nervioso central; además se considera una molécula citotóxica implicada en la eliminación de bacterias, virus y protozoos, así como de células tumorales.

La mortalidad de las aves estuvo asociada fundamentalmente a la presencia de diarreas; sin embargo, se pudo comprobar que este indicador fue más bajo en los grupos donde se aplicaron los probióticos. Se conoce que muchas bacteriocinas se originan a partir de bacterias ácido lácticas, las cuales son altamente efectivas contra patógenos transmitidos por los alimentos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhi*, *Clostridium botulinum*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Shigella flexneri* y *Listeria monocytogenes* (37). Juricova et al (38) estudiaron la acción inhibitoria de cuatro especies de *Lactobacillus* contra *S. Enteritidis* y *E. coli* en placas de agar y se comprobó que *L. salivarius* fue el único aislado que inhibió el crecimiento de ambas cepas patógenas.

Arteaga et al (39) comprobaron que cuando aplicaron una mezcla de *Bacillus subtilis* 20Bp y *Lactobacillus brevis* 40 Lp a pollos de ceba se mejoraba el comportamiento de los indicadores productivos y la salud de estos animales. Se observó que las aves que consumieron la mezcla obtuvieron una ganancia media diaria de 65.61 g, mientras que en el grupo control se produjeron 56.96 g. La aplicación de la mezcla mejoró la conversión alimentaria a 1.70, comparada con los resultados del grupo control (1.93). Por su parte en el grupo control hubo mayor mortalidad donde no se aplicó la mezcla, resultados análogos a los observados en la presente investigación.

Se comprobó que la aplicación de los aditivos mejora la composición de la microbiota intestinal ya que redujo la población de coliformes como patógenos potenciales y se incrementa la de *Lactobacillus* y anaerobios totales, considerados microorganismos beneficiosos. Iqbal et al (40) hacen referencia al rol de los microorganismos probióticos cuando controlan o inhiben a bacterias perjudiciales a través de la producción de sustancias antimicrobianas, la exclusión competitiva o la activación de la respuesta inmune.

La actividad sinérgica de *Lactobacillus salivarius* y *Bacillus subtilis* incrementa la actividad probiótica y favorece el desempeño productivo y la salud de los pollos de ceba.

Conflicto de intereses

Los autores no manifiestan conflictos de interés.

Agradecimientos

Se agradece a la productora Lucia Liset Marrero Tarifa por su colaboración en el desarrollo del experimento.

Financiación

Proyecto CITMA Territorial PT211MT001-001: "Evaluación del efecto de aditivos zootécnicos en aves de la UEB Líneas Puras Pesadas de la Empresa Genética Avícola y Pie de Cría"

REFERENCIAS

1. Rehman A, Arif M, Sajjad N, Al-Ghadi MQ, Alagawany M, Abd El-Hack et al. Dietary effect of probiotics and prebiotics on broiler performance, carcass, and immunity. *Poult sci.* 2020; 99(12):6946–6953. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.043>
2. Salam MA. Probiotics: Concept and applications. *Bangladesh J of Med Sci.* 2014; 13(4):373-376. <http://dx.doi.org/10.3329/bjms.v13i4.20550>
3. Rondón AJ, Milián G, Arteaga F, Samaniego L M, Bocourt R, Laurencio M, et al. Probiotic effect of *Lactobacillus salivarius* on microbiological and immune indicators in chickens. *Rev Soc Venez de Microb.* 2018; 38(1):21-26. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vm/article/view/16051
4. Milián G, Rodríguez M, Díaz D, Rondón AJ, Pérez ML, Boucourt R, et al. Evaluation of the zootechnical additive SUBTILPROBIO® C-31 on feeding of laying hens in a commercial production unit. *Cub J of Agric Sci.* 2019; 53(2):161-168. <https://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/885/936>
5. Luise D, Bosi P, Raff L, Amatucci L, Virdis S, Trevisi P. *Bacillus* spp. probiotic strains as a potential tool for limiting the use of antibiotics, and improving the growth and health of pigs and chickens. *Front Microbiol.* 2022; 13:801827. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.801827>
6. Al-Khalaifah HS. Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poult Sci.* 2018; 97(11):3807–3815. <https://doi.org/10.3382/ps/pey160>
7. Rajput DS, Zeng D, Khalique A, Rajput SS, Wang H, Zhao Y, et al. Pretreatment with probiotics ameliorate gut health and necrotic enteritis in broiler chickens, a substitute to antibiotics. *AMB Express.* 2020; 10(1):220. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01153-w>
8. Rondón AJ, del Valle A, Milián G, Arteaga FG, Rodríguez M, Valdivia A, et al. Obtención de un biopreparado simbiótico (mezcla de pulpa de *Agave fourcroydes* Lem. y PROBIOLACTIL®) para su aplicación en terneros. *Rev Agrisost* 2019; 25(2):e2737. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/agrisost/article/view/e2737>
9. Rondón AJ, González J, Rodríguez M, Milián G, Martínez MM, Beruvides A, et al. In vitro metabolic activity of *Lactobacillus salivarius* and its effect on productive and health indicators of lactating calves. *Cub J of Agric Sci* 2020; 54(2):1-13. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/957/1038>
10. Ayala L, Boucourt R, Castro M, Dihigo L E, Milián G, Herrera M, et al. Development of the digestive organs in piglets born from sows consuming probiotic before farrowing and during lactation. *Rev Cub J of Agric Sci.* 2014; 48(2):347-351. <https://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/471/438>
11. Timmerman HM, Koning CJ, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics- A comparison of functionality and efficacy. *Intern J of Food Microb.* 2004, 96(3):219–233. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.012>

12. Zhang W, Zhu Y H, Zhou D, Wu Q, Song D, Dicksved J, et al. Oral Administration of a select mixture of *Bacillus* probiotics affects the gut microbiota and goblet cell function following *Escherichia coli* challenge in newly weaned pigs of genotype MUC4 that are supposed to be Enterotoxigenic *E. coli* F4ab/ac receptor negative. *Appl Environ Microbiol.* 2017; 83(3):e02747-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02747-16>
13. Milián G. Obtención de cultivos de *Bacillus* spp. y sus endosporas. Evaluación de su actividad probiótica en pollos (*Gallus gallus domesticus*). [Tesis doctoral]. Mayabeque Cuba: Instituto de Ciencia Animal; 2009
14. Rondón AJ. Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación de su efecto probiótico en estos animales. [Tesis doctoral]. Mayabeque Cuba: Instituto de Ciencia Animal; 2009
15. INSMET. Boletín Agrometeorológico Nacional [Internet]. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de Cuba; 2021. <http://www.insmet.cu/AgroBoletin/pdf/4008-2021.pdf>
16. MINAGRI. Instructivo Técnico. Pollos de Engorde. Tecnología de Crianza y Regulaciones sanitarias Generales. Sub. Dirección Técnica UCAN-IIA. 1998.
17. Caldwell D, Bryant MP. Medium without fluid for non selective enumeration and isolation of rumen bacteria. *Appl Microbiol.* 1966; 14:794. <https://doi.org/10.1128/AEM.14.5.794-801.1966>
18. Hungate RE, Macy J. The roll-tube method for cultivation of strict anaerobes. *Bull Ecol Res Comm.* 1973; (17):123–126. <http://www.jstor.org/stable/20111550>
19. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo YC. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba: Argentina; 2017. <http://www.infostat.com.ar>
20. Tukey JW. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics.* 1949; 5(2):99–114. <https://doi.org/10.2307/3001913>
21. Castillo Y, Miranda I. COMPAPROP: Sistema para comparación de proporciones múltiples. *Rev Protección Veg.* 2014; 29(3):231-234. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/528/482>
22. WOAAH. Código Sanitario para animales terrestres. Bienestar animal y sistemas de producción de pollos de engorde. Capítulo 7.10. World Organisation for Animal Health; 2023. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_aw_broiler_chicken.pdf
23. Kober A, Riaz Rajoka MS, Mehwish HM, Villena J, Kitazawa H. Immunomodulation Potential of Probiotics: A novel strategy for improving livestock health, immunity, and productivity. *Microorganisms.* 2022; 10(2):388. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020388>
24. Melara EG, Avellaneda MC, Valdivié M, García-Hernández Y, Aroche R, Martínez Y. Probiotics: Symbiotic relationship with the animal Host. *Animals: an open access journal from MDPI* 2022; 12(6):719. <https://doi.org/10.3390/ani12060719>
25. Vera LE, Cedeño ME, Solorsano LJ, Bonilla MJ. Efecto de una mezcla probiótica en el comportamiento productivo en pollos de ceba. *Rev de Prod Cienc e Invest* 2019; 2(15):8-12. <https://doi.org/10.29018/issn.2588-1000vol2iss15.2018pp8-12>
26. Aliakbarpour HR, Chamani M, Rahimi G, Sadeghi A, Qujeq Q. The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2012; 25(9):1285–1293. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12110>
27. Rondón AJ, Milián G, Rodríguez M, Beruvides A. Probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* in animals of zootechnical interest. *Cub J Agric Sci.* 2020; 54(2):1-13. <https://cjas.science.com/index.php/CJAS/article/view/958/1103>

28. Milián G, Beruvides A, Pérez Y, Rodríguez M, Rondón A J, Pérez M L, et al. Efecto de la inclusión del aditivo zootécnico SUBTILPROBIO® en la producción de diferentes categorías pecuarias en el territorio matancero. *Cub J Agric Sci.* 2022; 56(3). <https://cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/1058/1418>
29. Blajman JE. Desarrollo de un inóculo probiótico para pollos parrilleros y monitoreo durante su tránsito intestinal y en órganos del medio interno.[Tesis doctoral]. Universidad Nacional del Litoral: Argentina; 2017. https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/UNLBT_96090bd0ee7fb8d1b058e3aa30de407d
30. Xu C, Wei F, Yang X, Feng Y, Liu, D, Hu Y. *Lactobacillus salivarius* CML352 Isolated from chinese local breed chicken modulates the gut microbiota and improves intestinal health and egg quality in late-phase laying hens. *Microorganisms.* 2022; 10(4):726. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040726>
31. Chen X, Ishfaq M, Wang J. Effects of *Lactobacillus salivarius* supplementation on the growth performance, liver function, meat quality, immune responses and *Salmonella pullorum* infection resistance of broilers challenged with Aflatoxin B1. *Poult Sci.* 2022; 101(3):101651. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101651>
32. Mohamed T M, Sun W, Bumbie G Z, Elokil A A, Mohammed K, Zebin R, et al. Feeding *Bacillus subtilis* ATCC19659 to broiler chickens enhances growth performance and immune function by modulating intestinal morphology and cecum microbiota. *Front in Microbiol.* 2022; 12:798350. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.798350>
33. Xu Y, Yu Y, Shen Y, Li Q, Lan J, Wu Y, et al. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunity, short chain fatty acid production, antioxidant capacity, and cecal microflora in broilers. *Poult Sci.* 2021; 100(9):101358. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101358>
34. Wang J, Ishfaq M, Miao Y, Li Z, Hao M, Wang C, et al. Dietary administration of *Bacillus subtilis* KC1 improves growth performance, immune response, heat stress tolerance, and disease resistance of broiler chickens. *Poult Sci.* 2022; 101(3):101693. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101693>
35. Zhang R, Li Z, Gu X, Zhao J, Guo T, Kong J. Probiotic *Bacillus subtilis* LF11 Protects intestinal epithelium against *Salmonella* infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 2022; 12:837886. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.837886>
36. Medina-Saavedra T, Arroyo-Figueroa G, Herrera-Méndez C, Mexicano-Santoyo, L. *Bacillus subtilis* como probiótico en avicultura: aspectos relevantes en investigaciones recientes. *Abanico Veterinario.* 2017; 7(3):14-20. <https://doi.org/10.21929/abavet2017.73.1>
37. Darbandi A, Asadi A, Mahdizade Ari M, Ohadi E, Talebi M, Halaj Zadeh M, et al. Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36(1):e24093. <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>
38. Juricova H, Matiasovicova J, Faldynova M, Sebkova A, Kubasova T, Prikrylova H, et al. Probiotic Lactobacilli do not protect chickens against *Salmonella enteritidis* infection by competitive exclusion in the intestinal tract but in feed, outside the chicken host. *Microorganisms.* 2022; 10(2):219. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020219>
39. Arteaga F, Rondón A J, Milián G, Laurencio M, Narváez G, Velez L A, et al. Efecto de una mezcla probiótica de *Bacillus subtilis* 20Bp y *Lactobacillus brevis* 40Lp en indicadores productivos y de salud de pollos de ceba. *Cub J Agric Sci.* 2020; 54(1):67-76. <https://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/932>
40. Iqbal Z, Ahmed S, Tabassum N, Bhattacharya R, Bose D. Role of probiotics in prevention and treatment of enteric infections: a comprehensive review. *Biotech.* 2021; 11(5):242. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02796-7>