

Inclusion of probiotic strains improves immune parameters in broilers

La inclusión de cepas probióticas mejora los parámetros inmunológicos en pollos de engorde

A inclusão de estirpes probióticas melhoram os parâmetros imunológicos em frangos de corte

Liliana Andrea Chávez Gómez¹, Zoot, Esp, MSc, Albeiro López Herrera¹, MV, Zoot, MSc, DrSci, Jaime Eduardo Parra Suescún^{1*}, Zoot, MSc, PhD

*Autor para correspondencia: Jaime Eduardo Parra Suescún. Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín., Bloque 50, oficina 320, Calle 59A No 63 – 20, Autopista Norte, Antioquia, Colombia, jeparrasu@unal.edu.co

¹ Grupo Biodiversidad y Genética Molecular BIOGEM, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. Calle 59A No 63 - 20 Autopista norte. Bloque 50, Oficina 310.

(Recibido: 17 de abril, 2015; aceptado: 26 de septiembre, 2015)

Abstract

Broilers face pathogenic agents daily, which could trigger intestinal problems and cause the immune system to not respond effectively. Probiotics improve natural defense mechanisms through the modulation of intestinal microbiota (bactericide effect), which play a critical role in supporting the host's health. The objective of this study was to evaluate the inclusion of different probiotic strains in feeding broilers and its effect on the immune system. 125 one-day-old male chicks (Cobb) who underwent allometric analysis of lymphoid organs (bursa, thymus, spleen), intestinal pH and antibody titer against gumboro was performed on days 7, 14, 21, 28, 35 and 42 (D1 and D2 respectively). Birds were fed two diets: basal diet with and without the addition of antibiotics. Probiotics (*L. casei*, *L. acidophilus* or *E. faecium*) were supplied in the drinking water (10^8 UFC/ml) of animals fed the basal diet without antibiotics (D2), representing the others experimental diets (D1, D2 and D3 respectively). The statistical design was a randomized block split-plot arrangement. The inclusion of probiotics, specifically *E. faecium*, helped maintain a lower intestinal pH, the greater weight of lymphoid organs and a greater degree of vaccine antibodies against Gumboro, promoting animal health. Therefore, *E. faecium*, can be used in the feeding of broilers throughout the production cycle as growth promoter.

Keywords:

Additives, lactic acid bacteria, growth promoters, poultry.

¹Para citar este artículo: Chávez Gómez LA, López Herrera A, Parra Suescún JE. La inclusión de cepas probióticas mejora los parámetros inmunológicos en pollos de engorde. Rev CES Med Zootec. 2015; Vol 10 (2): 160-169.

Resumen

Las aves se enfrentan diariamente a agentes patógenos que podrían desencadenar problemas a nivel intestinal y ocasionar que el sistema inmune no responda de manera efectiva. Los probióticos, pueden mejorar los mecanismos de defensa naturales a través de la modulación de la microbiota intestinal (efecto bactericida), la cual desempeña un papel crítico en el mantenimiento de la salud del hospedero. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inclusión de diferentes cepas probióticas en la alimentación de pollos de engorde y su efecto sobre el sistema inmune. Se utilizaron 125 pollos machos (Cobb) de un día de edad a los cuales se les realizó análisis alométrico de órganos linfoides (bursa, timo y bazo), pH intestinal y título de anticuerpos contra gumboro los días: 14, 28, y 42. Las aves fueron alimentadas con dos dietas: dieta basal con y sin la adición de antibiótico (D1 y D2 respectivamente). Los diferentes probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* o *E. faecium*) se suministraron en el agua de bebida (10^8 UFC/ml) de los animales que consumieron la dieta basal sin antibiótico (D2), representando las demás dietas experimentales (D3, D4 y D5 respectivamente). El diseño estadístico utilizado fue de bloques al azar en arreglo de parcelas divididas. La inclusión de probióticos, específicamente *E. faecium*, ayudaron a mantener un pH intestinal más bajo, y mayor peso de los órganos linfoides y títulos de anticuerpos post-vacunales contra gumboro, favoreciendo la salud del animal. Por lo anterior, *E. faecium*, puede ser utilizado en la alimentación de aves durante todo el ciclo productivo como promotor de crecimiento.

Palabras clave:

Aditivos, aves de corral, bacterias ácido lácticas, promotores de crecimiento.

Resumo

Os frangos enfrentam-se diariamente a agentes patógenos que poderiam desencadear problemas a nível intestinal e ocasionar que o sistema imunológico não responda efetivamente. Os probióticos podem melhorar os mecanismos naturais de defesas pela modulação da microbiota intestinal (efeito bactericida), a qual desempenha um papel crítico na manutenção da saúde do hospedeiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar a inclusão de diferentes estirpes probióticas na alimentação de frangos de corte e seu efeito sobre o sistema imunológico. Foram utilizados 125 frangos machos (Cobb) de um dia de idade aos quais se foi realizado um análise allometric de órgãos linfoides (Bursa, timo y baço), pH intestinal e título de anticorpos contra o gumboro nos dias: 14, 28, y 42. Os frangos foram alimentados com duas dietas: dieta basal com e sem a adição de antibióticos (D1 e D2 respectivamente). Os diferentes probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* ó *E. faecium*) foram fornecidos na água de bebida (10^8 UFC/ml) dos animais alimentados com a dieta basal sem antibióticos (D2), representando assim as outras dietas experimentais (D3, D4 e D5 respectivamente). O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas. A inclusão de probióticos, especialmente *E. faecium*, ajudaram a manter o pH intestinal inferior, e um maior peso dos órgãos linfoides e os títulos dos anticorpos pós a vacinação contra o gumboro, promovendo a saúde dos animais. Portanto, *E. faecium*, pode ser utilizado na alimentação dos frangos durante todo o ciclo de produção como um promotor de crescimento.

Palavras chave:

Aditivos, aves domésticas, bactérias ácido lácticas, promotores de crescimento.

Introducción

La avicultura, especialmente el pollo de engorde, es una actividad que ha crecido significativamente a nivel mundial, y ha alcanzado grandes avances tecnológicos en las últimas décadas²³. La selección genética para aumentar la ganancia de peso de los animales ha mejorado la conversión de alimento; sin embargo, el desarrollo de órganos y tejidos relacionados a la respuesta

inmunológica han resultado perjudicados debido a la aparición de cepas bacterianas de *E. coli*, y *Salmonella* (entre otras) cada vez más patógenas y resistentes^{13,18}.

Las bacterias pertenecientes a la microbiota intestinal pueden ejercer una doble función, la estimulación de los mecanismos de defensa de la mucosa y el mantenimiento

de la homeostasis de la respuesta inmune. La microbiota intestinal, es capaz de afectar positivamente la integridad de la barrera intestinal al disminuir el pH^{4,8}, afectando negativamente las poblaciones bacterianas patógenas, y a su vez, repercutir positivamente sobre la digestibilidad y absorción de nutrientes a nivel intestinal¹⁵.

Las enfermedades virales tienen un impacto económico y social importante, ya que en algunos casos, su determinación es difícil o tardía. Entre estas se encuentra la enfermedad de Gumboro, la cual es altamente infecciosa en pollos jóvenes, y se caracteriza no solo por la afección de los órganos linfoides (específicamente la bolsa de Fabricio, sino además por la destrucción de los linfocitos B en una etapa inmadura¹¹.

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de los nutriólogos animales debe ser: 1) promover un nivel adecuado de respuesta inmune a través de diferentes aditivos nutricionales, para favorecer que las aves ganen los desafíos sanitarios ocasionados por bacterias y virus; 2) reducir el uso masivo de antibióticos como promotores de crecimiento (APC) sin perjudicar el desarrollo productivo, ya que la utilización de APC en dosis subterapéuticas altera la función intestinal y el metabolismo de los animales¹⁰.

La prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la Unión Europea desde el 1 de enero 2006^{8,10}, ha llevado a que se utilicen aditivos microbianos, como los probióticos, que influyan de manera positiva sobre el rendimiento y bienestar de las aves, mejorando los mecanismos de defensa naturales a través de la modulación de la microbiota intestinal, la cual desempeña un papel crítico en el mantenimiento de la salud del hospedero²⁵.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la inclusión de diferentes cepas probióticas en la alimentación de pollos de engorde y su efecto sobre el sistema inmune.

Materiales y métodos

Localización

El trabajo de campo se realizó en la granja avícola comercial “Los Andes” (6° 22' 37" N, 75° 26' 46" W), ubicada en el municipio de Girardota (Antioquia, Colombia), vereda “El Totumo”, localizada a 1425 msnm, con una temperatura promedio de 22 °C, correspondiendo a una zona de vida bosque húmedo premontano (bh-PM).

Animales

Se utilizaron 125 pollos machos de un día de edad de la línea comercial Cobb obtenidos de una casa comercial, con un peso promedio inicial de 45,65 gramos. La cría se realizó siguiendo los procedimientos comerciales establecidos en la granja. El período experimental tuvo una duración de 42 días.

Instalaciones y equipos

Los pollos fueron alojados dentro de un galpón comercial con piso de cemento y con cama de viruta de madera (12 cm de espesor), en el cual se realizaron las divisiones (para los tratamientos) utilizando cartón plast. Cada división tuvo una medida de 1.0*1.2 metros, además de comedero y bebedero independiente. Durante la primera y segunda semana se utilizaron comederos de bandeja, posteriormente se cambió a comedero de tolva. Durante todo el experimento se utilizaron bebederos de volteo de 3 Lt de capacidad, y el agua se suministraba dos veces al día. Para mantener la temperatura homogénea durante las primeras semanas se utilizaron criadoras a gas, y posteriormente cortinas alrededor del galpón para controlar la temperatura, humedad y entrada-salida de corrientes de aire. Para realizar el pesaje de los pollos y del alimento suministrado se utilizó una balanza digital.

Manejo Sanitario

Para el recibimiento de los pollos, se realizó lavado, limpieza y desinfección del galpón, cortinas, comederos y bebederos (según los protocolos establecidos por la granja); además, se hizo el control de roedores e insectos con productos obtenidos en casas comerciales. Las criadoras se encendieron cinco horas antes de la llegada de los animales.

Dietas

Los animales fueron alimentados con dos dietas: dieta comercial con y sin la adición de antibiótico. Los diferentes probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* o *E. faecium*) se suministraron en el agua de bebida de los animales que consumieron la dieta comercial sin antibiótico, representando cada una de las dietas experimentales, así:

- Dieta 1 Control (DC): alimento comercial sin antibiótico, sin adición de cepa probiótica en el agua de bebida.

- Dieta 2 (D2): alimento comercial con antibiótico, sin adición de cepa probiótica en el agua de bebida.
- Dieta 3 (D3): alimento comercial sin antibiótico, con adición de la cepa comercial probiótica *Lactobacillus Acidophilus* en el agua de bebida.
- Dieta 4 (D4): alimento comercial sin antibiótico, con adición de la cepa comercial probiótica *Lactobacillus Casei* en el agua de bebida.
- Dieta 5 (D5): alimento comercial sin antibiótico, con adición de la cepa comercial probiótica *Enterococcus faecium* en el agua de bebida.

Las dietas ofrecidas a los animales cumplieron con los requerimientos mínimos nutricionales establecidos por Rostagno (2011). Se elaboraron 2 dietas (Tabla 1), una para la etapa de iniciación (día 1 al 21), y la otra para la etapa de finalización (día 22 al 42). El alimento utilizado en el estudio estuvo libre de antibióticos (excepto la dieta D2), ya que no fue de interés modificar la dieta, sino la incorporación de los probióticos como una alternativa al uso de antibióticos. La cantidad de probiótico adicionado se realizó siguiendo las instrucciones para su preparación y adición según lo recomendado por el fabricante. La inclusión de los probióticos en el agua de bebida se realizó (dos veces al día) por mezclado directo de un litro de agua con 30 gramos de azúcar comercial, para garantizar poblaciones mínimas de 10^8 UFC/ml con una viabilidad adecuada, la cual fue adicionada en un tanque de 20 lt de agua, y evaluada por medio de análisis microbiológicos. Los animales que no recibieron probióticos, se les adicionó 30 gr de azúcar el tanque de agua de bebida. Las dietas experimentales se proporcionaron durante todo el ciclo productivo (día 1-42 de vida).

Eutanasias humanitarias y toma de muestras órganos

Durante la fase experimental se realizó eutanasia humanitaria a 125 aves de la siguiente forma: el día inicial, o Día 1, se sacrificaron 5 aves que representaron el grupo de referencia para verificar el estado general de salud y la evaluación macroscópica del estado de los órganos del tracto gastrointestinal (TGI) antes de suministrar las dietas experimentales; y las unidades experimentales para cada uno de los bloques. Durante la fase de eutanasias escalonadas se sacrificaron 120 aves de la siguiente forma: los días 14, 28, 42 se sacrificaron 40 aves/día (ocho aves por tratamiento). Los animales se sedaron por inhalación con NitroX[®] y posteriormente se

les realizó eutanasia humanitaria con dióxido de carbono durante 3 minutos. Todas las aves fueron sacrificadas 2.5 horas después de su última comida.

Después del sacrificio, las aves se pusieron en posición ventral boca arriba, separando los miembros posteriores y extendiendo las alas lateralmente; luego se realizó un corte que iba desde la parte anterior del cuello hasta la cloaca, intentando cortar solo la piel. Para la apertura de la cavidad celómica se realizó un corte con las tijeras en la zona que se encuentra por debajo de la pechuga. Se realizaron dos pequeños cortes laterales hasta llegar a las costillas, y luego un corte de las costillas en dirección craneal. En este instante se evaluó la presencia de exudados diversos y el estado de sacos aéreos⁶.

Los órganos de la cavidad celómica se extrajeron conjuntamente. Se retiró el tracto gastrointestinal con el hígado y se separó el bazo. Luego de extraer el TGI completo se ubicó la Bursa en la región cercana a la cloaca y se extrajo completa. De la región del cuello se extrajo el Timo completo². Todos los órganos extraídos fueron lavados con solución salina fría, y luego fueron pesados para el análisis alométrico²¹.

Análisis alométrico

Los pesos de los órganos fueron convertidos a porcentaje de peso vivo (%PV) por medio de la fórmula:

$$\%PV = \frac{(\text{Peso órgano} \times 100)}{(\text{Peso promedio/ave})}$$

Para determinar la ontogénesis del crecimiento de los diferentes órganos y su relación con el peso corporal, se utilizó la constante de Crecimiento Alométrico (CA), según la siguiente ecuación:

$$CA = \frac{O_n / (O_h)}{PC_n / (PC_h)}$$

Donde: O= peso del órgano; n= días después del nacimiento; h= peso al nacimiento y PC= peso corporal.

Cuando el órgano crece en la misma proporción al peso corporal, CA es de 1; si el crecimiento del órgano es menor al peso corporal, CA es menor a 1; y cuando CA es mayor a 1, hay un crecimiento rápido en relación con la ganancia total de peso corporal^{5,12}.

Tabla 1. Composición de la dieta basal.

<i>Materia Prima</i>	<i>Dieta Basal Iniciación</i>	<i>Dieta Basal + Antibiótico Iniciación</i>	<i>Dieta Basal Finalización</i>	<i>Dieta Basal + Antibiótico Finalización</i>
	%	%	%	%
Maíz	65,22	65,11	69,29	69,23
Torta de soya	28,22	28,22	14,19	14,19
Soya Fríjol cocido	2,6	2,6	13	13
Carbonato de Calcio fino	1,37	1,37	1,23	1,23
Fosfato monocálcico	0,99	0,99	0,8	0,8
Aceite de Palma	0,5	0,5	0,5	0,5
Sal fina	0,33	0,33	0,33	0,33
DL-Metionina	0,18	0,18	0,14	0,14
L-Lisina HCL	0,15	0,15	0,11	0,11
GFC Broiler Premix 1.2 P	0,12	0,12	0,12	0,12
Bicarbonato de sodio	0,1	0,1	0,08	0,08
Atrapante de Micotoxina (Mycofix Secure)	0,09	0,09	0	0
Cloruro de Colina 60 %	0,07	0,07	0,05	0,05
Zinc Bacitracina 15%	0	0,05	0	0
Maduramicina 0.75% & Nicarbazina 8%	0	0,05	0	0
Sulfato de Cobre 25%	0,04	0,04	0,04	0,04
Tryptophan	0,02	0,02	0,01	0,01
Neomicina 50%	0	0,02	0	0
L-Treonina	0,01	0,01	0,12	0,12
Salinomicina 12 %	0	0	0	0,05
Enramicina 8%	0	0	0	0,01
Colistina 50%	0	0	0	0,01
Análisis Proximal de las Dietas				
EM (Kcal/Kg)	2984	2984	3152	3152
PC (%)	19,16	19,16	17	17
EE (%)	4,047	4,047	6,023	6,023
FC (%)	2,742	2,742	2,748	2,748
Humedad (%)	10,52	10,52	10,79	10,79

EM: Energía Metabolizable (Kcal/Kg); PC: Proteína Cruda (%); EE: Extracto Etéreo (%); FC: Fibra Cruda (%)

Toma de muestra y determinación del pH intestinal

Para la determinación del pH intestinal se tomó 1 g de muestra (mezcla) de contenido de duodeno, yeyuno, íleon y ciegos, para luego suspenderla en 12,5 ml de agua destilada desionizada. Esta mezcla se agitó manualmente con agitador de vidrio lavándolo después de cada registro con agua destilada. Posteriormente se insertó en

la mezcla un electrodo de pH y se realizaron las lecturas en un potenciómetro con precisión de tres decimales. El pH de la suspensión fue medido dentro de los 45 minutos subsiguientes al sacrificio de las aves ¹².

Toma de muestra y determinación de títulos de anticuerpos posvacunales contra Gumboro

Después del sacrificio se tomó una muestra de sangre (3 ml aprox). Las muestras fueron almacenadas en tubos de ensayos tapa roja debidamente identificados, e inmediatamente centrifugada para separar el suero. La muestra fue almacenada a -70 °C hasta la realización de los análisis de laboratorio.

Diseño estadístico

El experimento se realizó según un diseño bloques al azar (4 bloques, ubicación en el galpón) en un arreglo de parcelas divididas, donde los animales fueron aleatorizados a cada uno de los tratamientos (5 dietas por 3 períodos de evaluación), y cada tratamiento tuvo un total de 8 repeticiones. El análisis estadístico fue desarrollado usando el procedimiento GLM del SAS (2007).

Consideraciones éticas

Esta investigación fue avalada por El Comité de Ética en la Experimentación Animal de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (CEMED 045 del 10 de junio de 2014).

Resultados

En general las aves que consumieron los diferentes tratamientos presentaron un buen estado de salud, y no presentaron síntoma alguno de enfermedad que causara su retiro y/o sacrificio inmediato. Además al nivel en que se fijó el suministro diario de alimento no hubo sobrantes.

En este experimento no se encontró interacción estadística entre las diferentes dietas y los días de sacrificio para ninguna de las variables en estudio, por lo que no fue necesario analizar y desglosar dichos factores de manera independiente.

Los cambios en las de las poblaciones celulares inmunes sanguíneas estudiadas entre cada una de las dietas y periodos de exposición se pueden observar en la tabla 2. Con respecto a la variable crecimiento alométrico de bursa, bazo y timo, se presentó un aumento estadístico significativo ($P < 0,01$) entre la diferentes dietas evaluadas dentro de cada período de evaluación, donde D1 obtuvo valores menores respecto a D2 y frente a las dietas con probióticos, donde los animales en D5 reportaron los valores más altos. Para las mismas variables en estudio, se presentó diferencia significativa estadística entre los diferentes días de muestreo dentro de cada una de las

dietas ($P < 0,05$), donde en el día 42 se presentaron los mayores valores para cada dieta en estudio. No obstante a lo anterior, bursa, bazo y timo presentaron un crecimiento lento ($CA < 1$) con relación al peso corporal en todas las dietas.

Para la variable pH intestinal, se presentó una disminución significativa ($P < 0,01$) entre la diferentes dietas evaluadas dentro de cada período de evaluación, donde D1 obtuvo valores mayores respecto a D2 y frente a las dietas con probióticos, donde los animales en D5 reportaron los valores más bajos. Para la misma variable en estudio, se presentó diferencia significativa estadística entre los diferentes días de muestreo dentro de cada una de las dietas ($P < 0,05$), donde en el día 42 se presentaron los menores valores para cada dieta en estudio.

Con respecto a la producción de anticuerpos sanguíneos contra Gumboro (Tabla 2), se presentó una disminución estadística significativa ($P < 0,01$) entre las diferentes dietas evaluadas dentro de cada período de evaluación, donde D1 obtuvo valores menores respecto a D2 y frente a las dietas con probióticos; además los animales en D5 reportaron los valores más altos en la producción de anticuerpos sanguíneos contra Gumboro. Para las misma variable en estudio, se presentó diferencia significativa estadística entre los diferentes días de muestreo dentro de cada una de las dietas ($P < 0,05$), donde en el día 42 se presentaron los mayores valores para cada dieta en estudio.

Discusión

El timo es el principal órgano linfóide en las aves, es el lugar donde se maduran principalmente los linfocitos T y pequeñas cantidades de células B. La bolsa de Fabricio es el sitio principal de maduración de linfocitos B para la síntesis de inmunoglobulinas. El bazo también se considera un órgano linfóide esencial que juega un papel importante en la inmunidad mediada por células, por ejemplo, su función en el desarrollo de las células T supresoras⁹.

Durante la evaluación, el crecimiento de la Bursa presentó un descenso en el peso, lo que coincide con lo reportado por Perozo¹⁹, donde encontraron que la disminución en el peso de este órgano fue inducida por atrofia tisular normal. Un tamaño y peso adecuado del Timo es un indicador sensible del estado de salud, así como de la respuesta tanto aguda como crónica a situaciones de estrés, ya que el timo responde con atrofia tisular a la presencia de glucocorticoides y factores estresantes¹⁹. El peso del Timo tuvo un crecimiento constante a lo largo de

Tabla 2. Crecimiento alométrico de órganos linfoides, pH intestinal, y producción de títulos de anticuerpos posvacunales de pollos que consumieron dietas con cepas probióticas (*L. acidophilus*, *L. casei* y *E. faecium*) durante 42 días.

Variable		Días	D1	D2	D3	D4	D5	EEM
Bursa	(%PV)	14	0,093 ^X	0,089 ^X	0,087 ^X	0,094 ^X	0,088 ^X	0,003
		28	0,132 ^{A,Y}	0,131 ^{A,Y}	0,143 ^{B,Y}	0,144 ^{B,Y}	0,155 ^{C,Y}	
		42	0,162 ^{A,Z}	0,162 ^{A,Z}	0,194 ^{B,Z}	0,221 ^{C,Z}	0,252 ^{D,Z}	
	CA	14	0,121 ^X	0,118 ^X	0,117 ^X	0,113 ^X	0,115 ^X	
		28	0,152 ^{A,Y}	0,161 ^{A,Y}	0,171 ^{B,Y}	0,174 ^{B,Y}	0,185 ^{C,Z}	
		42	0,191 ^{A,Z}	0,219 ^{B,Z}	0,223 ^{B,Z}	0,235 ^{C,Z}	0,247 ^{D,Z}	
Bazo	(%PV)	14	0,085 ^X	0,086 ^X	0,084 ^X	0,091 ^X	0,087 ^X	0,002
		28	0,153 ^{A,Y}	0,148 ^{A,Y}	0,151 ^{AB,Y}	0,155 ^{BC,Y}	0,162 ^{C,Z}	
		42	0,184 ^{A,Z}	0,182 ^{A,Z}	0,189 ^{A,Z}	0,209 ^{B,Z}	0,221 ^{C,Z}	
	CA	14	0,145 ^X	0,151 ^X	0,151 ^X	0,148 ^X	0,149 ^X	
		28	0,164 ^{A,Y}	0,172 ^{A,Y}	0,188 ^{C,Y}	0,188 ^{D,Y}	0,197 ^{E,Y}	
		42	0,194 ^{A,Z}	0,203 ^{B,Z}	0,212 ^{C,Z}	0,222 ^{D,Z}	0,231 ^{E,Z}	
Timo	(%PV)	14	0,237 ^X	0,241 ^X	0,239 ^X	0,242 ^X	0,237 ^X	0,004
		28	0,258 ^{A,Y}	0,262 ^{A,Y}	0,259 ^{A,Y}	0,279 ^{B,Y}	0,296 ^{C,Y}	
		42	0,279 ^{A,Z}	0,298 ^{B,Z}	0,314 ^{C,Z}	0,316 ^{C,Z}	0,331 ^{D,Z}	
	CA	14	0,311 ^X	0,314 ^X	0,316 ^X	0,321 ^X	0,319 ^X	
		28	0,324 ^{A,Y}	0,337 ^{B,Y}	0,354 ^{C,Y}	0,359 ^{C,Y}	0,385 ^{D,Y}	
		42	0,347 ^{A,Z}	0,360 ^{B,Z}	0,374 ^{C,Z}	0,381 ^{C,Z}	0,404 ^{D,Z}	
Intestino (pH)		14	6,38 ^X	6,39 ^X	6,38 ^X	6,38 ^X	6,37 ^X	0,02
		28	6,25 ^{A,Y}	6,17 ^{B,Y}	6,09 ^{C,Y}	6,01 ^{D,Y}	5,94 ^{E,Y}	
		42	6,15 ^{A,Z}	6,08 ^{B,Z}	6,03 ^{B,C,Z}	5,99 ^{C,Z}	5,87 ^{D,Z}	
Anticuerpos vacunales		14	168,05 ^X	174,01 ^X	162,47 ^X	170,63 ^X	171,31 ^X	8,19
		28	295,29 ^{A,Y}	335,98 ^{B,Y}	325,25 ^{B,Y}	476,94 ^{C,Y}	715,07 ^{D,Y}	
		42	331,56 ^{A,Z}	374,56 ^{B,Z}	488,65 ^{C,Z}	686,24 ^{D,Z}	860,15 ^{E,Z}	

D1: Alimento comercial sin probiótico y Sin antibiótico; D2: Alimento comercial + antibiótico; D3: Alimento comercial sin antibiótico + *L. acidophilus*; D4: Alimento comercial sin antibiótico + *L. casei*; D5: Alimento comercial sin antibiótico + *E. faecium*.

$$\%PV = \frac{(\text{Peso } \acute{o}\text{rgano} \times 100)}{(\text{Peso promedio/ave})}$$

CA = (On / Oh) / (PCn / PCh); Donde: O = peso del órgano; n = días después del nacimiento; h = peso al nacimiento y PC = peso corporal. CA < 1: crecimiento lento con relación al peso corporal. CA = 1: crecimiento proporcional con relación al peso corporal. CA > 1: crecimiento rápido con relación al peso corporal

^{A,B,C,D,E} Dentro de una misma fila medias con un superíndice común no difieren estadísticamente (P < 0.05).

EEM: Error estándar de la media.

los diferentes períodos de tiempo evaluados, y presentó su peso máximo el día ⁴², indicando que los animales se encontraban en un ambiente tolerable por ellos ^{5,14,19}. El aumento en el tamaño de estos órganos, especialmente de la bursa la cual contiene numerosos linfocitos B, y del timo en el que se encuentran los linfocitos T, permiten una mejor respuesta inmune ^{9,20}.

El uso de probióticos en la alimentación de aves tiene ventajas considerables en comparación con los aditivos antibacterianos, debido a que estos no inducen resistencia a los antibióticos, no son tóxicos y por tanto no producen efectos secundarios indeseables cuando son utilizados en la alimentación; además, en el caso de animales destinados al consumo, no se producen residuos tóxicos en la canal ⁸. Las aves que consumieron D5 (*E. faecium*) presentaron un pH más bajo en comparación con los demás tratamientos, debido principalmente a que estos microorganismos crecen rápidamente en el intestino, y provocan un descenso del pH que funciona como un antiséptico del sistema digestivo, y al mismo tiempo minimiza la proliferación de microorganismos patógenos al competir por nutrientes y espacio en las paredes intestinales ⁷. La disminución en el pH intestinal se produce debido a la fermentación por parte de la microbiota, la cual aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta ^{1,8,15}.

Los probióticos en el organismo de un animal sano pueden estimular la respuesta inmune no específica y mejorar la protección inmune; además, pueden mejorar los niveles de IgA a nivel intestinal, lo que repercute en un efecto positivo sobre el crecimiento, la producción y la capacidad de resistencia a las enfermedades ^{3,9,17,20}. Los títulos de anticuerpos vacunales contra gumboro presentaron diferencias ($P < 0,05$) según el tipo de dieta que consumieron las aves, donde las que consumieron Dy D2 presentaron los menores valores, mientras que las aves que fueron adicionadas con D5 (*E. faecium*) presentaron un mayor título de anticuerpos contra gumboro, demostrando que el uso de bacterias ácido lácticas ayuda al desarrollo y maduración del sistema inmune, incrementando la producción de anticuerpos ¹⁶. En este trabajo los títulos de anticuerpos vacunales contra gumboro presentaron un descenso entre el día 14 y 28 (Tabla 2) a pesar de las vacunaciones en incubadora y en campo. Este fenómeno puede explicarse como la consecuencia de la interferencia de los anticuerpos maternos con la respuesta inmune a la vacunación, ya que la inmunidad pasiva genera una incapacidad de la proge de responder adecuadamente a las vacunaciones ¹⁹.

Stringfellow *et al.*, ²⁴ reportaron que el suministro de probióticos en el agua de bebida de pollos de engorde mejoraron los títulos de anticuerpos post-vacunales, debido a que las bacterias probióticas activan el sistema inmune de la mucosa a través de la estimulación de las células presentadoras de antígeno para promover la protección. La administración de probióticos puede ofrecer una mayor protección en el momento de la vacunación o tener un efecto adyuvante modulando el sistema inmune del hospedero ²⁴. Salim y colaboradores ²² reportaron que se presentó mayor cantidad de anticuerpos en pollos alimentados con probióticos en comparación con el control debido a que los probióticos aumentan la respuesta humoral, mejorando la función inmune y promoviendo la síntesis de péptidos antimicrobianos endógenos en el intestino, lo que se ve reflejado en animales más sanos.

La inclusión de probióticos como promotores de crecimiento, específicamente *L. acidophilus* y *E. faecium*, en la alimentación de pollos de engorde, influyen en el peso de órganos linfoides y pH intestinal, lo cual se vio reflejado en la mayor producción de anticuerpos post-vacunales, lo que podría favorecer la salud del animal, y a su vez, influir de manera positiva sobre el bienestar de las aves. Por lo anterior, *E. faecium*, puede ser utilizado en la alimentación de aves durante todo el ciclo productivo como promotor de crecimiento.

Referencias

1. Abdelqader A, Al-Fataftah A-R, Daş G. Effects of dietary *Bacillus subtilis* and inulin supplementation on performance, eggshell quality, intestinal morphology and microflora composition of laying hens in the late phase of production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2013;179(1-4):103-111. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.11.003.
2. Acevedo M. Técnica de necropsia en aves. In: *Mem. Conf. Interna Med. Aprovech. Fauna Silv. Exót. Conv.*; 2012:4-15.
3. Butel M. Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine Mal. Infect.* 2014;44(1):1-8. doi:10.1016/j.medmal.2013.10.002.
4. Chambers JR, Gong J. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. *Food Res. Int.* 2011;44(10):3149-3159. doi:10.1016/j.foodres.2011.08.017.

5. Cortés L, Villamarin S. Características morfométricas de órganos linfoides y estudios serológicos en levante de ponedoras utilizando un inmunomodulador, vitaminas y aminoácidos. *Spei Domus* 2013;9(18):29-36.
6. Dolz R, Majó N. *Atlas de Necropsia Aviar*. Zaragoza, España: Servet; 2011:96.
7. Franz CM a P, Huch M, Abriouel H, Holzapfel W, Gálvez A. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int. J. Food Microbiol.* 2011;151(2):125-40. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.014.
8. Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 2010;141 Suppl :S15-28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031.
9. He J, Zhang KY, Chen DW, Ding XM, Feng GD, Ao X. Effects of vitamin E and selenium yeast on growth performance and immune function in ducks fed maize naturally contaminated with aflatoxin B1. *Livest. Sci.* 2013;152(2-3):200-207. doi:10.1016/j.livsci.2012.12.018.
10. Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet. J.* 2011;187(2):182-8. doi:10.1016/j.tvjl.2010.03.003.
11. Ingraio F, Rauw F, Lambrecht B, van den Berg T. Infectious Bursal Disease: a complex host-pathogen interaction. *Dev. Comp. Immunol.* 2013;41(3):429-38. doi:10.1016/j.dci.2013.03.017.
12. Jaramillo A. Evaluación de la mezcla de un ácido orgánico y un prebiótico en los parámetros productivos y alométricos de pollos de engorde con alimentación controlada. *Rev. Colomb. Cienc. Anim.* 2012;5(1):52-66.
13. Korver DR. Implications of changing immune function through nutrition in poultry. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2012;173(1-2):54-64. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.12.019.
14. Li SP, Zhao XJ, Wang JY. Synergy of Astragalus polysaccharides and probiotics (Lactobacillus and Bacillus cereus) on immunity and intestinal microbiota in chicks. *Poult. Sci.* 2009;88(3):519-25. doi:10.3382/ps.2008-00365.
15. Lutful Kabir SM. The role of probiotics in the poultry industry. *Int. J. Mol. Sci.* 2009;10(8):3531-46. doi:10.3390/ijms10083531.
16. Machado LSC, Jurado SCV. Características morfométricas de órganos linfoides y estudios serológicos en levante de ponedoras utilizando un inmunomodulador, vitaminas y aminoácidos. *Spei Domus* 2013;9(18):29-36.
17. Musa HH, Wu SL, Zhu CH, Seri HI, Zhu GQ. The Potential Benefits of Probiotics in Animal Production and Health. *J. Anim. Vet. Adv.* 2009;8(2):313-321.
18. Ohimain E, Ofongo R. The Effect of Probiotic and Prebiotic Feed Supplementation on Chicken Health and Gut Microflora: A Review. *J. Anim. Vet. Adv.* 2012;4(2):135-143.
19. Perozo F, Nava J, Mavárez Y, Arenas E, Serje P, Briceño M. Caracterización morfométrica de los órganos linfoides en pollos de engorde de la línea ross criados bajo condiciones de campo en el estado Zulia, Venezuela. *Rev. Científica* 2004;14(3):1-18.
20. Rajput IR, Li LY, XXin XX, et al. Effect of Saccharomyces boulardii and Bacillus subtilis B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. *Poult. Sci.* 2013;92:956-965. doi:dx.doi.org/10.3382/ps.2012-02845.
21. Reis S, Guerrero C, Aguilera B, Mariscal L. Efecto de diferentes cereales sobre la morfología intestinal de lechones recién destetados. *Téc Pecu Mex* 2005;43:309-321.
22. Salim HM, Kang HK, Akter N, et al. Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens. *Poult. Sci.* 2013;92(8):2084-90. doi:10.3382/ps.2012-02947.

23. Stewart CR, Keyburn AL, Deffrasnes C, Tompkins SM. Potential directions for chicken immunology research. *Dev. Comp. Immunol.* 2013;41(3):463-8. doi:10.1016/j.dci.2013.05.011.
24. Stringfellow K, Caldwell D, Lee J, et al. Evaluation of probiotic administration on the immune response of coccidiosis-vaccinated broilers. *Poult. Sci.* 2011;90(8):1652-8. doi:10.3382/ps.2010-01026.
25. Tellez G, Pixley C, Wolfenden RE, Layton SL, Hargis BM. Probiotics/direct fed microbials for Salmonella control in poultry. *Food Res. Int.* 2012;45(2):628-633. doi:10.1016/j.foodres.2011.03.047.