



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

USE OF *STREPTOMYCES* SP. RL8 AS A PROBIOTIC AGENT IN LEGHORN CHICKENS

UTILIZACIÓN DE *STREPTOMYCES* SP. RL8 COMO AGENTE PROBIÓTICO EN POLLOS DE LA RAZA LEGHORN

Yoandry Martínez Arencibia^{1*}; Ricardo Medina Marrero¹; Milagros García Bernal¹;
Marisol Gutiérrez Parra²; René Cupull Santana¹; Miriam Díaz Díaz¹; Marlén Casanova González¹;
Igor Álvarez Herrera¹; Eric Javier Prendes Rodríguez³ & Manuel Ángel Soto Fexas³

¹Departamento de Microbiología. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba: yoandrym@uclv.cu

²Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba

³Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba

Corresponding author: E-mail: yoandrym@uclv.cu

ABSTRACT

Chickens in poultry facilities are subjected to stressful conditions during the first weeks of life, which cause imbalances in their intestinal microbiota and, as a consequence, they become susceptible to pathogenic microorganisms. The use of broad-spectrum antibiotics to counteract the effects of these pathogens has led to problems of bacterial resistance and food safety. Probiotics have been proposed as a means of reducing intestinal pathogens and increasing bioproductive indicators. In the present work, we assessed the probiotic activity of *Streptomyces* sp. strain RL8 on physiological and productive parameters in Leghorn chickens. It was shown that there were no significant differences between the treated and control group with respect to productive and health parameters. However, significant differences between both groups were found for some immunological and hematological components. Thus, *Streptomyces* sp. strain RL8 may be an alternative to improve the health status of chickens, by stimulating hematological parameters and modulating the immune system of birds.

Key words: chicken – intestinal microbiota – probiotics – *Streptomyces*

RESUMEN

Durante sus primeras semanas de vida los pollos de las instalaciones avícolas están sometidos a situaciones de estrés que ocasionan desbalances en la microbiota intestinal, que hacen a su vez que sean susceptibles a la incidencia de microorganismos patógenos. El uso de antibióticos de amplio espectro para contrarrestar los efectos de dichos patógenos ha originado problemas de resistencia bacteriana y de inocuidad alimentaria. Se ha propuesto la utilización de probióticos como un medio para la reducción de patógenos intestinales y aumento de indicadores bioproductivos. En el presente trabajo se evaluó la actividad probiótica de *Streptomyces* sp. cepa RL8 en indicadores fisiológicos y productivos en pollos de la raza Leghorn. Se demostró que no hubo diferencias significativas entre el grupo tratado y el grupo control en cuanto a los parámetros productivos y de salud. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para algunos componentes hematológicos e inmunológicos. Por tanto, la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 puede ser una alternativa para mejorar el estado de salud de los pollos, a través de la estimulación de parámetros hematológicos y modulación del sistema inmune de las aves.

Palabras clave: gallinas – microbiota intestinal – probióticos – *Streptomyces*

INTRODUCCIÓN

La producción avícola a nivel internacional ha ido incrementándose a medida que avanzan los nuevos métodos de crianza de gallinas ponedoras y pollos de ceba. En las instalaciones avícolas los pollitos eclosionan en un medio casi estéril y son ubicados en sus primeras semanas de vida en galpones con condiciones higiénicas estables, que imposibilitan la colonización de una microbiota intestinal beneficiosa; además de esto, los pollos están sometidos a situaciones que les producen estrés como son: una alta densidad poblacional, vacunación, altas o bajas temperaturas, humedad inadecuada, incidencia de gases tóxicos e inmunodepresión; que ocasionan desbalances de la microbiota intestinal en caso de que esta exista (Rondón *et al.*, 2008). De esta manera, las aves se encuentran expuestas a la incidencia de microorganismos patógenos que pueden causar enfermedades gastrointestinales como la salmonelosis y la colibacilosis (La Ragione *et al.*, 2001; Barnes *et al.*, 2003). Para contrarrestar los efectos de dichas enfermedades se utilizan antibióticos de amplio espectro; pero estos compuestos han originado graves problemas de resistencia microbiana y efectos residuales que ponen en riesgo la inocuidad alimentaria. Por otro lado, éstos aumentan los costos de producción y una notable disminución en los índices productivos de la industria avícola.

En Cuba, no se emplean estos productos, pero

existe la experiencia biotecnológica necesaria para desarrollarlos con tecnologías económicamente viables, y que a su vez, mejoren el rendimiento bioproductivo y la salud de los animales (Collins & Gibson, 1999; Pérez *et al.*, 2011). En nuestro país no se han realizado estudios donde se utilice como aditivo probiótico los estreptomicetos como agentes controladores de la colibacilosis y otras enfermedades zoonóticas de origen bacteriano, cuando se conoce que los actinomicetos representan una fuente de metabolitos bioactivos para combatir la resistencia bacteriana de antibióticos usados comúnmente (Lino-Navarro *et al.*, 2016).

Por lo anteriormente expuesto se plantea la utilización de probióticos como coadyuvantes dietéticos de origen microbiano que benefician la fisiología del hospedante al modular la inmunidad de la mucosa y la inmunidad sistémica, así como mejorar el balance nutricional y microbiano en el tracto gastrointestinal durante la producción avícola (Tannock, 1999). Se reporta además que en la mayoría de los casos dichos aditivos microbianos suelen ser muy satisfactorios por los buenos rendimientos productivos. Entre los probióticos de uso avícola se destacan aquellos que contienen microorganismos autóctonos del tracto gastrointestinal de aves en estado saludable (Miroslava *et al.*, 2004), constituidos principalmente por diferentes especies de los géneros bacterianos *Lactobacillus* Beijerinck, 1901, *Bacillus*, Cohn, 1872, *Streptococcus* Rosenbach, 1884 y *Enterococcus* (ex Thiercelin & Jpuhaud,

1903) Schleifer & Kilpper-Bäiz, 1984 y levaduras del género *Saccharomyces*; los cuales han demostrado una alta eficiencia en la reducción de patógenos intestinales y en el aumento de los indicadores bioproductivos (Lara-Mantilla & Burgos-Portacio, 2012).

Los actinomicetos constituyen uno de los miembros más importantes en el mundo microbiano por su potencial para producir compuestos biológicamente activos. Se plantea que alrededor del 45 % de todos los compuestos bioactivos obtenidos a partir de microorganismos, son producidos por actinomicetos (Berdy, 2005). Los antibióticos utilizados en la práctica clínica tales como la fosfomicina, lincomicina, neomicina, estreptomycin, daptomicina, la eritromicina y la tetraciclina son producidos por el género *Streptomyces* perteneciente al Orden Actinomycetales (Mahajan & Balachandran, 2011; Ullah *et al.*, 2012). *Streptomyces* Waksman & Henrici, 1943 es un género de bacterias Gram positivas, que crece en diferentes entornos y su forma se asemeja a los hongos filamentosos. La diferencia morfológica de *Streptomyces* implica la formación de una capa de hifas que pueden diferenciarse en una cadena de esporas. Los miembros de este género son habitualmente reconocidos como microorganismos GRAS (según sus siglas en inglés) (Lanoot, 2005). La propiedad más interesante de *Streptomyces* es la capacidad de producir metabolitos secundarios bioactivos, tales como antifúngicos, antivirales, antitumorales, antihipertensivos, inmunosupresores y especialmente antibióticos. La producción de la mayoría de los antibióticos es específica de la especie, y estos metabolitos secundarios son importantes para las especies del género *Streptomyces*, ya que les confieren una capacidad especial para competir con otros microorganismos con los que entran en contacto, incluso con especies del mismo género (Prócopio *et al.*, 2012; García, 2016).

En Cuba no se emplean estos productos, pero existe la experiencia biotecnológica necesaria para desarrollarlos con tecnologías económicamente viables, que mejoren a su vez el rendimiento productivo y la salud de los animales (Collins & Gibson, 1999; Pérez *et al.*, 2011). Actualmente se utilizan antibióticos para la disminución de la carga bacteriana en muchas granjas productoras de

huevos; lo cual está trayendo consigo resistencia a los mismos que, junto a otros factores, posibilitan una amplia proliferación de bacterias patógenas con un alto grado de mortalidad en pollos de la raza Leghorn de 21 días de edad, debido a la alta colonización intestinal y resistencia causada por *Escherichia coli* (Escherich, 1885).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad probiótica de *Streptomyces* RL8 en indicadores fisiológicos y productivos en pollos de la raza Leghorn.

MATERIAL Y MÉTODOS

Evaluación de los efectos de *Streptomyces* RL8 sobre parámetros productivos y de salud

Animales y dieta basal

Para la experimentación se emplearon 60 animales, 30 hembras y 30 machos, de la raza Leghorn de un día de edad, con peso vivo promedio de 38,72 g, que se distribuyeron a razón de 30 aves por tratamiento (Figura 1). Los animales recibieron *ad libitum* el agua y el alimento a base de maíz y soya enriquecido con el suplemento probiótico a una carga de 10^8 ufc·g⁻¹.

Microorganismo de ensayo

Se utilizó la cepa de *Streptomyces* RL8, la cual se creció en Caldo Triptona Soya e incubó a 28 °C con agitación; seguido de inoculación en un subproducto de la producción agrícola como sustrato sólido e incubación a 28 °C. El mismo se conservó a 25 °C hasta su utilización.

Tratamientos experimentales

Se establecieron dos grupos de animales los cuales fueron alimentados hasta los 21 días de edad. El cultivo microbiano en sustrato sólido se mezcló, diariamente, de forma manual con la dieta basal. Los grupos experimentales fueron:

Grupo control (I): con adición de sustrato sólido.

Grupo RL8 (II): con adición de sustrato sólido conteniendo *Streptomyces* RL8 a 10^8 ufc·g⁻¹ de pienso.

Condiciones experimentales y sistema de manejo de los animales:

Los animales se alojaron en jaulas metálicas a una

densidad de 25 aves m² hasta los 18 días de edad, posteriormente se redistribuyen según el tratamiento a 12-13 aves m² según (García, 2011). El sistema de vacunación de los animales consistió en una dosis de Marek y Gumboro el primer día de edad.

Procedimiento experimental para la toma y análisis de las muestras:

Los muestreos se ejecutaron a los 21 días de edad de los animales, los cuales se pesaron y sacrificaron por desangramiento de la vena yugular descrito por Lissette (2015). Se tomó una muestra de 1 mL de sangre por cada animal en tubos conteniendo

heparina sódica. Se determinó el efecto de la cepa de *Streptomyces* RL8 sobre los parámetros de crecimiento en función de los siguientes indicadores: Peso vivo, Ganancia de peso vivo (GMD), Incremento de Peso (IP), Peso relativo de: Pechuga y Piernas. Para analizar los parámetros morfométricos se pesaron, Intestino Delgado (ID), Intestino Grueso (IG), los Ciegos vacíos, Hígado y Pechuga. Se determinó el peso del bazo como órgano inmune en una balanza técnica Sartorius BL 1 500 según - (Asghar *et al.*, 2015). El peso relativo de estos órganos se expresó en g·kg⁻¹ de peso vivo del animal descrito por (Herrera *et al.*, 2007; García, 2011).

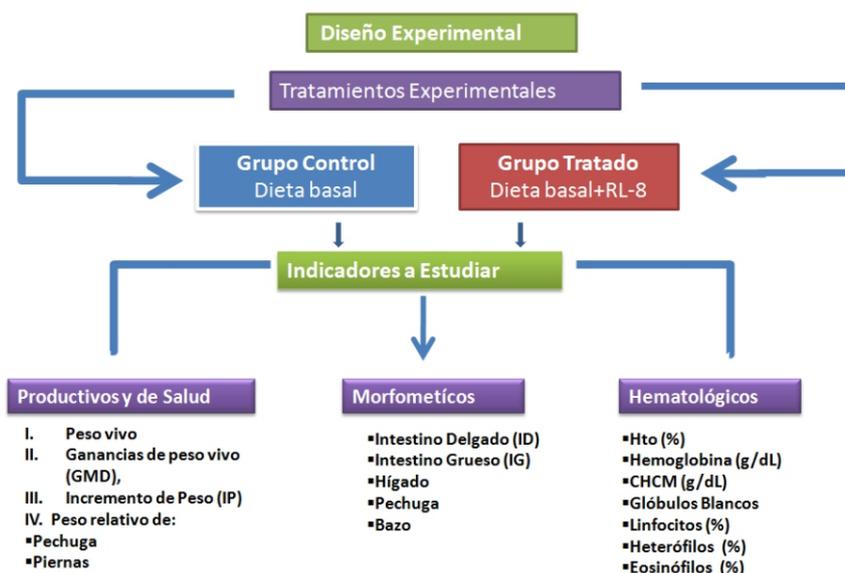


Figura 1. Diagrama para la evaluación de la actividad probiótica de *Streptomyces* RL8 en pollos Leghorn a los 21 días de edad.

Caracterización de los efectos hematológicos de *Streptomyces* RL8 en aves

A las muestras de sangre de cada animal se le determinó la hemoglobina (Hb) (g·dl⁻¹), hematocrito (Ht) (%) y Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) (g·dl⁻¹), linfocitos (%), glóbulos blancos (GB), heterófilos (%) y eosinófilos (%) (Asghar *et al.*, 2015). Para la determinación de hemoglobina se utilizó el método de la cianometahemoglobina (Crosby *et al.*, 1954), tomando 0,2 mL de sangre diluida con 5 mL del reactivo de Drabkin seguido de lectura a 540 nm después de 10 min, usando agua destilada como blanco.

Para la determinación de hematocrito se llenaron

de sangre los capilares para microhematocrito hasta una tercera parte del capilar. Estos se sellaron con mechero y se centrifugaron durante diez minutos en microcentrífuga. Posteriormente, se realizó la lectura en equipo de microhematocrito marca Hawkley con lector de escala móvil que permitió situarlo en el nivel de los sedimentos hemáticos y proceder entonces a la lectura (García, 2011).

Tratamiento estadístico

Se utilizó el software STATISTICA 8.0.360 para Windows. Para los datos paramétricos se realizó un ANOVA. Para datos que no presentan una distribución normal se realizó la prueba *a posteriori* de Duncan para $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de *Streptomyces* RL8 sobre los parámetros productivos y de salud

Productivos y de Salud

La tabla 1 muestra el comportamiento de los indicadores productivos de los animales durante la evaluación del microorganismo candidato a

probiótico. Estadísticamente no hubo diferencias significativas entre el grupo tratado con la cepa de *Streptomyces* RL8 y el control. Los valores obtenidos en este experimento fueron muy inferiores a los que obtuvo (García, 2016; Rahimi & Khaksefidi, 2006b) al tratar pollos de ceba tratados con *Lactobacillus* spp. Todo parece indicar que el probiótico utilizado no ejerce efecto sobre el peso de los pollos evaluados.

Tabla 1. Pesos relativos de los órganos (g·Kg⁻¹) a los 21 días de tratamiento.

Tratamientos	Indicadores			
	Peso Inicial (g) 1d	Peso Final (g) 21d	Incremento de peso (g) a los 21d	Ganancias de peso vivo (g) a los 21 d
RL8-H	39,07	108,38	69,31	3,30
RL8-M	38,56	86,93	48,37	2,30
RL8-T	38,82	97,65	58,83	2,80
Control-H	38,86	108,33	69,47	3,30
Control-M	38,32	98,146	59,82	2,84
Control-T	38,59	103,24	64,65	3,07
EE±	0,50	18,02	7,98	0,38

RL8-H: Media de los Tratamientos con la Cepa RL8 en pollos en Hembras, RL8-M: Media de los Tratamiento con la Cepa RL8 en pollos Machos, RL8-T: Media Total del tratamiento con la cepa RL8, Control-H: Grupo control Hembra sin probiótico, Control-M: Grupo Control Macho sin probiótico, Control-T: Media total del grupo control sin probiótico, EE±: Error estándar de la media. ANOVA para un valor de $p < 0,05$.

Los parámetros productivos y de salud mostrados en la tabla 2, peso de Pechuga (g) y Muslos + Piernas (g), no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con *Streptomyces* RL8 y el grupo control. Esto no quiere decir que no se detectaran algunas diferencias entre los grupos. Los mayores pesos de la Pechuga se encontraron en el grupo tratado con la cepa RL8, mientras que los mayores valores encontrados en cuanto al peso de los Muslos más Piernas fueron mostrados por el grupo control. Es posible que los microorganismos candidatos a probióticos evaluados actúen en el metabolismo del animal, tanto energético como proteico, al obtenerse un estado eubiótico en el intestino, acción que da lugar al aumento del tiempo de recambio de las células intestinales, lo que provoca ahorro sustancial en los nutrientes digeridos por el animal y posibilita que estos puedan utilizarse en la producción de masa muscular, entre otras funciones (García, 2011). Es importante destacar que se evaluaron gallinas ponedoras de la raza

Leghorn, las cuales no se caracterizan por una elevada producción de carne, su importancia económica radica en la puesta de huevos, lo cual no fue objeto de estudio de esta investigación.

Morfométricos

La tabla 3 muestra los resultados de los indicadores morfométricos de las aves a los 21 días de edad. No se encontraron diferencias significativas para el peso relativo del hígado, intestino delgado, intestino grueso y ciego; quizás debido a que los aditivos microbianos evaluados no ejercieron acción en estos órganos, efecto similar al observado por Milián (2009), Rondón (2009), Gunal *et al.* (2006) y García (2011), al evaluar pollos de engorde con cepas de *Lactobacillus pentosus* (ex Fred 1921) Zanoni *et al.* 1987 LB 31, *Wickerhamomyces anomalus* (E.C. Hansen) Kurtzman, Robnett & Basehoar-Powers 2008 LV6, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872 y *Lactobacillus salivarius* Rogosa *et al.* 1953, respectivamente (García, 2011).

Tabla 2. Pesos relativos de los órganos (g·Kg⁻¹) a los 21 días de tratamiento.

Tratamientos	Indicadores	
	Pechuga (g) 21 d	Muslos + Piernas (g) 21d
RL8-H	10,5	19,72
RL8-M	9,21	18,52
RL8-T	9,63	17,86
Control-H	8,56	19,65
Control-M	7,68	16,08
Control-T	8,11	19,12
EE±	0,98	1,36

RL8-H: Media de los Tratamientos con la Cepa RL8 en pollos en Hembras, RL8-M: Media de los Tratamiento con la Cepa RL8 en pollos Machos, RL8-T: Media Total del tratamiento con la cepa RL8, Control-H: Grupo control Hembra sin probiótico, Control-M: Grupo Control Macho sin probiótico, Control-T: Media total del grupo control sin probiótico, EE±: Error estándar de la media. ANOVA para un valor de $p < 0,05$.

Los valores de intestino delgado variaron de acuerdo al grupo control y al tratado con la cepa RL8. La inclusión del microorganismo candidato a probiótico en la dieta de los pollos aumentó el peso relativo del intestino delgado a los 21 días. Este comportamiento pudiera estar relacionado con lo informado por Awad *et al.* (2010), quien sugiere que cuando se incluyen probióticos en la dieta de los animales se mejora la estructura intestinal y

aumenta la eficiencia de los procesos digestivos y abortivos (García, 2011).

En el caso de los valores de intestino grueso e hígado fueron superiores a los obtenidos por García (2011), en pollos de engorde a los 21 días de edad, bajo tratamiento con *Lactobacillus* spp. Los ciegos de los animales tratados mostraron valores superiores a los obtenidos por García (2011).

Tabla 3. Pesos relativos de los órganos (g·Kg⁻¹) a los 21 días de tratamiento.

Tratamientos	Intestino Delgado 21 días	Intestino Grueso 21 días	Ciegos 21 días	Hígado 21 días	Bazo
RL8-H	98,94	0,98	11,13	38,19	2,35
RL8-M	101,94	0,764	11,31	40,31	2,23
RL8-T	100,46	0,87	11,22	39,25	2,29
Control-H	88,45	0,85	8,88	37,04	1,81
Control-M	92,96	1,036	12,31	37,157	1,72
Control-T	90,71	0,94	10,59	37,10	1,77
EE±	10,82	0,12	1,34	2,73	0,29

RL8-H: Media de los Tratamientos con la Cepa RL8 en pollos en Hembras, RL8-M: Media de los Tratamiento con la Cepa RL8 en pollos Machos, RL8-T: Media Total del tratamiento con la cepa RL8, Control-H: Grupo control Hembra sin probiótico, Control-M: Grupo Control Macho sin probiótico, Control-T: Media total del grupo control sin probiótico, EE±: Error estándar de la media. ANOVA para un valor de $p < 0,05$.

Efecto de *Streptomyces* RL8 sobre los parámetros hematológicos de aves

La tabla 4 muestra los resultados del análisis hematológico. Aunque los valores de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto) se mantuvieron dentro de los rangos normales de crianza (23-55 % y 7,0-18,6

g·dL⁻¹, respectivamente (Anon, 2013)) en ambos grupos, este último parámetro fue significativamente superior en el grupo tratado con *Streptomyces* RL8. Sin embargo, estos valores de hemoglobina y hematocrito fueron inferiores a los que obtuvo (Fernández *et al.*, 2014) en pollos de ceba, pero coinciden con los obtenidos por García

(2011) al evaluar *L. pentosus* LB-31, *W. anomalus* LV-6 y su mezcla en pollos de engorde; y con Gutiérrez & Corredor-Matus (2017) quienes evaluaron pollos de ceba tratados con *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen 1883, *Lactobacillus acidophilus* (Moro 1900) Hansen & Mocquot 1970, *B. subtilis* y una mezcla de los tres.

Haile & Chanie (2014) plantean que los pollos suelen tener valores de hematocrito relativamente bajos (tan bajo como 24%), los cuales aumentan con la edad. Los resultados difieren de los encontrados por Cardoso *et al.* (2014) con valores medios de hematocrito del 36% en pollos de engorde alimentados con probióticos a base de *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium*. Igualmente Fernández *et al.* (2014) encontraron valores de hematocrito de 36% en pollos de engorde suplementados con *B. subtilis*. Es probable que el tipo de dieta, proporciones de los nutrientes utilizados, y la raza, pudieran influir en los resultados discrepantes (Gutiérrez & Corredor-Matus, 2017).

Los valores de eosinófilos aumentaron significativamente en el grupo tratado con *Streptomyces* RL8 en relación al grupo control (Tabla 3). Al parecer el sistema inmune se vio estimulado por este microorganismo, efecto que se ve reflejado con el aumento del bazo como órgano modulador (Tabla 2). Superiores a los encontrados por Asghar *et al.* (2015) y Gutiérrez & Corredor - Matus (2017), donde utilizaron *S. cerevisiae*, *L. acidophilus*, *B. subtilis* y una mezcla entre ellos.

No se detectaron diferencias significativas entre el grupo control y el tratado con la cepa RL8 en cuanto al conteo linfocitario; cuyo valor estuvo dentro del rango del 68-77 % (Asghar *et al.*, 2015; Avilez-Colon *et al.*, 2015), quienes usaron el probiótico comercial Gallipro®. Por el contrario, Hassan Khan *et al.*, (2011) obtuvieron valores inferiores a los alcanzados en este trabajo durante una investigación con pollos ponedores de la raza Hy-Line W-98, utilizando dietas enriquecidas con enzimas, probióticos y combinaciones entre ambos.

El conteo de glóbulos blancos no difirió entre el grupo tratado y el control, y se mantuvo dentro de los valores normales para aves. Sin embargo,

fueron inferiores a los que obtuvo Rahimi & Khaksefidi (2006a) al tratar pollos de engorde con el antibiótico virgiamycin y el probiótico comercial BioPlus 2B®, y similares a los que obtuvo Asghar *et al.* (2015) al tratar pollos de ceba con Gallipro®.

La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) no varió en ninguno de los dos grupos. El uso de probióticos en forma combinada ha reportado mejores resultados que al utilizarlos individualmente, lo cual podría explicar la indiferencia entre los grupos (Veizaj-Delia *et al.*, 2010). Sin embargo, estos valores difieren de lo encontrado por Cardoso *et al.* (2014) quienes reportan un valor medio de CHCM en aves alimentadas con probióticos, antibióticos y un grupo control de 22,56; 23,42 y 23,115 g·dl⁻¹, respectivamente. Por el contrario coinciden con Avilez-Colon *et al.* (2015) con valores de CHCM de 33,17 g·dl⁻¹. Es posible según Gutiérrez & Corredor-Matus (2017) que a primera vista, la diferencia sea grande al confrontarla con nuestros resultados; sin embargo, el tipo de probiótico así como las condiciones geográficas, climáticas, nutricionales y sanitarias en que se desarrolló el experimento pudieron influir en el resultado.

Los heterófilos son leucocitos polimorfonucleares de aves de corral que son homólogos a los neutrófilos en los mamíferos. Tienen acción fagocítica primaria en la respuesta inflamatoria contra agentes infecciosos, como bacterias y hongos (Marietto-Gonçalves *et al.*, 2014). La relación de heterófilos a linfocitos se ha aceptado como un índice confiable para determinar el estrés en aves de corral. Los heterófilos son parte de la inmunidad natural y defensa celular contra las infecciones microbianas, y los linfocitos son células que producen anticuerpos. Los aumentos en la relación de heterófilos a linfocitos en pollos desafiados se pueden atribuir a una mayor secreción de corticosterona (Vleck *et al.*, 2000), lo que finalmente da como resultado una disminución del título de anticuerpos. En la reciente investigación se muestra una notable diferencia en cuanto al conteo de heterófilos entre el grupo tratado con la cepa RL8 y el control no tratado. Las aves fueron analizadas minuciosamente *post-mortem*, buscando evidencias de agentes patógenos dentro del grupo tratado y no se mostraron síntomas infecciosos, lo cual indica que el agente

probiótico ejerció una fuerte influencia sobre el sistema inmune de las aves. Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Asghar *et al.* (2015), Vleck *et al.* (2000) y de Rahimi & Khaksefidi (2006), quienes demostraron que la suplementación de la dieta con probióticos aumentó significativamente el recuento de

glóbulos blancos en comparación con el grupo de control.

Todo parece indicar que la cepa utilizada en esta investigación está ejerciendo una fuerte influencia sobre el sistema inmune, lo cual pudiera contribuir al fortalecimiento del mismo.

Tabla 4. Resultados del análisis hematológico.

Tratamientos	Hb (g·dl ⁻¹)	Hto (%)	GB x 10 ³	L (%)	H (%)	E (%)	CHCM (g·dl ⁻¹)
RL8	8,8 ^a	26,5 ^a	17,9 ^a	76,4 ^a	21,3 ^a	9 ^a	33,3
Control	8,2 ^a	24,8 ^b	17,2 ^a	76,4 ^a	20,3 ^b	3 ^b	33,3
EE+	0,17	0,51	0,87	2,7	2,6	2,22	0

Hb-Hemoglobina, Hto-Hematocrito, GB-Glóbulos Blancos, L-Linfocitos, H-Heterófilos, E-Eosinófilos. ^{a,b}. Dentro de la misma columna, Indica diferencias entre las medias para un valor de P<0,05 (Duncan, 1955).

Se concluye que la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 pudiese ser utilizada como agente probiótico en pollos raza Leghorn de 0-21 días de edad, principalmente como estimulante hematológico y por su función moduladora sobre el sistema inmune celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anon, 1993. Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW joint working group on refinement. *Laboratory Animals*, 27: 1-22.
- Asghar, A.; Shawrang, P. & Shakorzadeh, S. 2015. Immune response of *Salmonella* challenged broiler chickens fed diets containing Gallipro, a *Bacillus subtilis* probiotic. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 7: 24-30.
- Avilez-Colon, B.L.; Rugeles-Pinto, C. C.; Jabib-Ruiz, L. & Herrera-Benavides, Y.M. 2015. Parámetros hematológicos en pollos de engorde criados en una granja de producción cerrada en el trópico bajo. *Revista Medica Veterinaria*, 29: 33-39.
- Awad, W.; Ghareeb, K. & J., B. 2010. Effect of addition of a probiotic micro-organism to broiler diet on intestinal mucosal architecture and electrophysiological parameters. *Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94: 486-494.
- Barnes, H.J.; Vaillancourt, J. P. & Gross, W. B. 2003. *Colibacillosis diseases of poultry*. 11th Ed, Section II, Chapter 18.
- Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 58: 1-26.
- Cardoso, L.; Da Silva, C. & Rangel, P. 2014. Efeitos do uso de probióticos na resposta imunológica e nos parâmetros sanguíneos das aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, 11: 3450-3464.
- Collins, M. D. & Gibson, G. R. 1999. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 1042-1057.
- Crosby, W.H.; Munn, J.I. & Furth, F.W. 1954. Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. *U.S. Armed Forces Med*, 5: 693-703.
- Duncan, B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11: 1-42.
- Fernández, H.T.; Morales, M.; Amela, M.I.; Salerno, C.; Rodríguez Ganduglia, H.; Arenaz, F. & Zamponi, A.M. 2014. Efectos de la adición de probiótico (*Bacillus subtilis*) y omega 3 (*Salvia hispanica* L.) sobre los parámetros sanguíneos en pollos parrilleros *Revista de Agronomía del Noroeste de Argentina*, 34: 113-116.

- García, M. 2016. *Obtención de actinomicetos marinos con acción probiótica en ostiones y camarones*. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara, Cuba, 150 pp.
- García, Y. 2011. *Obtención de microorganismos con actividad probiótica a partir de excretas de pollos de ceba fermentadas*. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Departamento de Fisiología y Bioquímica. Instituto de Ciencia Animal, La Habana. 184 pp.
- Gunal, M.; Yayli, G. & Kaya, O. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Internacional Journal Poultry Science*, 5: 149-155.
- Gutiérrez, I. & Corredor-Matus, J.R. 2017. Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Veterinaria y Zootecnia*, 11: 81-92.
- Hassan-Khan, S.; Nasir-Mukhtar, M.A.; Rehman, A. & Fareed, G. 2011. Effects of supplementation of multi-enzyme and multi-species probiotic on production performance, egg quality, cholesterol level and immune system in laying hens. *Journal of Applied Animal Research*, 39: 386-398.
- Haile, Y. & Chanie, M. 2014. Comparative aspects of the clinical hematology of birds: A Review. *British Journal of Poultry Sciences*, 3: 88-95.
- Herrera, I.; Ramón, I. & Muñiz, O. 2007. *Eficiencia Técnica y Económica en la Producción Avícola de Pollos de Engorda*. Facultad de estudios superiores Cuatitlán. Departamento de Ciencias Sociales. Departamento de Ciencias Pecuarias Producción. (citado el 14 de marzo del 2017).
- La Ragione, R.M.; Coles, K.E.; Jorgensen, F.; Humphrey, T.J. & Woodward, M.J. 2001. Virulence in the chick model and stress tolerance of *Salmonella enterica* serovar Orion var. 15+. *International Journal of Medical Microbiology*, 290: 707-718.
- Lanoot, B. 2005. *Improved taxonomy of the genus Streptomyces*. PhD thesis, Faculty of Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium. 42 pp.
- Lara-Mantilla, C. & Burgos-Portacio, A. 2012. Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14: 31-40.
- Lino-Navarro, M., León Quispe, J. & Huamán Iturrizaga, M. 2016. Evaluación de la capacidad antagonista de un antimicrobiano producido por *Streptomyces* sp. CEPA 13A-2 frente a microorganismos resistentes a B-Lactámicos de origen hospitalario. *Revista Peruana de Investigación Materno Perinatal*, 5: 28-34.
- Lisette, S. 2005. Problemas del pollo de engorde antes y después del beneficio-pollo en canal. *Revista Electrónica de Veterinaria R E D V E T*, 6 : <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605/060517.pdf>
- Marietto-Gonçalves, G.A.; Curotto, S.M.R.; Baptista, A.A.S.; Donato, T.C.; Takazira, R.K.; Sequeira, J.L. & Andreatti Filho, R.L. 2014. Effects of *Lactobacillus* Probiotic, P22 Bacteriophage and *Salmonella typhimurium* on the Heterophilic burst activity of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 16: 257-264.
- Mahajan, G. B. & Balachandran, L. 2011. Antibacterial agents from actinomycetes-a review. *Front Biosci. (Elite ed.)* 4: 240-253.
- Milián, G. 2009. *Obtención de cultivos de Bacillus spp. y sus endosporas. Evaluación de sus actividad probiótica en pollos (Gallus gallus domesticus)*. Instituto de Ciencia Animal. 134 pp.
- Miroslava, M.; Viola, S.; Klaudia, B.; Andrea, L. & Sona, G. 2004. Effect of probiotic Activity of *Enterococcus faecium* EE3 strain against *Salmonella* infection in Japanese quails. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 48: 387-390.
- Pérez, M.; Laurencio, M.; Rondón, A.J.; Milian, G.; Bocourt, R. & Arteaga, F. 2011. Actividad antimicrobiana de una mezcla probiótica de exclusión competitiva y su estabilidad en el tiempo. *Salud Animal*, 33: 147-153.
- Procópio, R. E.; da Silva, I. R.; Martins, M. K.; de Azevedo, J. L. & de Araújo, J. M. 2012.

- Antibiotics produced by *Streptomyces*. Braz. Journal Infections Diseases, 16: 466-471.
- Rahimi, S. & Khaksefidi, A. 2006. A comparison between the effects of a probiotic (Bioplus 2B) and an antibiotic (virginiamicin) on the performance of broiler under heat stress condition. Iran Journal of Veterinary Research, 7: 23-28.
- Rondón, A. J. 2009. *Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación de su efecto probiótico en estos animales*. La Habana. Instituto de Ciencia Animal. 131 pp.
- Rondón, A.J.; Samaniego, L.M.; Bocourt, R.; Rodríguez, S.; Milián, G.; Ranilla, M.J.; Laurencio, M. & Pérez, M. 2008. Aislamiento, identificación y caracterización parcial de las propiedades probióticas de cepas de *Lactobacillus* sp. procedentes del tracto gastrointestinal de pollos de ceba. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 6: 56-63.
- Tannock, G.W. 1999. A fresh look at the intestinal microflora. In: Probiotics. A Critical Review. G. W. Tannock. Horizon Scientific Press. England, 161 pp.
- Ullah, I.; Arshad, M.; Chuadhry, M.J.I.; Noureen, U.; Jadoon, W. A. & Jadoon, M.A. 2012. Actinomycetes screening for bioactive potential isolated from the moist forest soils of Pakistan. Records: Zoological Survey of Pakistan, 21: 10-13.
- Veizaj-Delia, E.; Piu, T.; Lekaj, P. & Tafaj, M. 2010. Using combined probiotic improve growth performance of weaned piglets on farm conditions. Livestock Science, 134: 249-25.
- Vleck, C.M.; Vertalino, N. & Vleck, D. 2000. Stress, cortico-sterone, and heterophil to lymphocyte ratios in free-living adult penguins. The Condor, 102: 392-400.

Received February 22, 2019.

Accepted March, 20, 2019.