

**EFFECTOS DEL USO DE PROBIÓTICOS SOBRE PARÁMETROS
MORFOMÉTRICOS EN DUODENO, YEYUNO E ÍLEON DE POLLOS DE
ENGORDE**

YUDY ELIANA GUZMÁN GARAVITO

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS ANIMALES
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
VILLAVICENCIO
2016**

**EFFECTOS DEL USO DE PROBIÓTICOS SOBRE PARÁMETROS
MORFOMÉTRICOS EN DUODENO, YEYUNO E ÍLEON DE POLLOS DE
ENGORDE**

**Estudiante en proyecto de investigación (EPI) para optar al título de
Médico Veterinario Zootecnista**

**YUDY ELIANA GUZMÁN GARAVITO
Código: 121002312**

**Directora: María Cristina Hernández Martínez
MVZ. Esp. cMSc**

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS ANIMALES
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
VILLAVICENCIO
2016**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios Todopoderoso por ayudarme y acompañarme hasta este feliz momento en el que culmino mis estudios y por capacitarme a través de mi profesión para servirle a los animales en la parte médica y a la sociedad en lo que a seguridad alimentaria respecta.

A mis padres por ser un apoyo incondicional, especialmente a mi mamita Inés Garavito, por ayudarme todos los días de mi vida y ser parte importante en mi formación como persona y profesional.

A la Dra. María Cristina Hernández, directora de proyecto, quien más que una profesora, es una gran amiga, contribuyó mucho en mi formación y en la elaboración y culminación de mi trabajo de grado.

A la Dra. María Ligia Roa por depositar en mí su confianza y permitirme trabajar en el proyecto bajo su dirección y a todas aquellas personas que de una u otra forma ayudaron día a día a enriquecer mi conocimiento y formación como persona.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GENERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3. MARCO TEÓRICO	11
3.1 AVICULTURA EN EL MUNDO.....	11
3.2 ASPECTOS SANITARIOS EN AVICULTURA	12
3.3 POLLO DE ENGORDE RAZA ROSS.....	15
3.4 APARATO DIGESTIVO EN LAS AVES	16
3.5 PROBIÓTICOS	18
3.5.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21
3.5.2 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	21
3.5.3 <i>Bacillus subtilis</i>	22
3.6 ENSAYOS EN AVICULTURA	23
4. METODOLOGÍA	26
5. RESULTADOS.....	31
6. DISCUSIÓN	40
7. CONCLUSIÓN	41
BIBLIOGRAFÍA	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Mecanismos de acción de los probióticos	20
Tabla 2. Morfometría duodeno	31
Tabla 3. Morfometría yeyuno.....	34
Tabla 4. Morfometría íleon	37

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Largo y ancho de vellosidades en duodeno.....	32
Gráfica 2. Profundidad y espesor de criptas en duodeno.....	33
Gráfica 3. Largo y ancho de vellosidades en yeyuno	35
Gráfica 4. Profundidad y espesor de criptas en yeyuno.	36
Gráfica 5. Largo y ancho de vellosidades en íleon.....	38
Gráfica 6. Profundidad y espesor de criptas en íleon.....	39

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1	¡Error! Marcador no definido.
Imagen 2 Pollo de engorde raza Ross.	15
Imagen 3. Aparato digestivo de las aves.....	17
Imagen 4. Elaboración dietas experimental	27
Imagen 5.Recepción de aves	27
Imagen 6.Distribución de unidades experimentales y administración de dietas.	27
Imagen 7. Necropsias.	28
Imagen 8.Toma y almacenamiento de muestras.....	28
Imagen 9. Montaje de placas y coloración con hematoxilina-eosina.....	29
Imagen 10. Placas histológicas de intestino delgado de pollo de engorde.	29
Imagen 11. Observación e identificación de las placas intestinales.	30
Imagen 12.Vellosidades intestinales 4X.....	30

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento constante de la población humana mundial, ha obligado al sector agropecuario a aumentar los niveles de producción de proteína de origen animal en poco tiempo, cumpliendo con la exigencia de brindar una excelente calidad e inocuidad en los productos finales, de tal forma que permita asegurar el abastecimiento de alimento para una población cada vez mayor. Esta alta demanda conlleva a la búsqueda de sistemas alternativos, que sin alterar el estado fisiológico normal de los animales permita mejorar los índices de producción sin ir en contravía de los requerimientos de la salud pública.

Uno de los renglones agropecuarios más exigidos es la avicultura, que, por ser de producción animal intensiva, de rápida rotación, es exigida en el aporte de productos alimenticios de alta cantidad e inocuidad para suplir la demanda de alimento en el mundo. Dados los riesgos sanitarios y de producción intrínsecos de la avicultura, anteriormente se permitía el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (APC), los cuales fueron reevaluados por el riesgo a la salud humana. De allí surge el uso de probióticos como una alternativa al uso de los antibióticos (APC) en la producción animal. Los microorganismos eficientes (M.E), son un conjunto de bacterias benéficas relativamente novedosas, que presentan una gran variedad de usos, dentro de los cuales está la adición en las dietas nutricionales, principalmente en pollos de engorde, ya que los resultados se pueden apreciar en un tiempo corto, debido a su ciclo de producción; como en el estudio realizado por Pelicano (2005), en donde se evaluó el efecto de diferentes probióticos sobre la morfometría de la mucosa intestinal, encontrándose cambios respecto a la altura y perímetro de las vellosidades en duodeno.

En cuanto a las bondades de estos microorganismos se encuentra el estudio realizado por García y Rodríguez (2005), en el que se demostró que el uso de M.E, mejora el balance microbiano del tejido gastrointestinal (TGI), estimula la producción de enzimas hidrolíticas y bacterias ácido lácticas favoreciendo la acidez del TGI, además de mejorar el rendimiento productivo de las aves. Cuervo *et al.*, (2002), citando a otros autores, manifiesta que el suministrar un producto que proporcione los nutrientes necesarios para los pollos resulta en una variedad de efectos positivos como el desarrollo de los órganos digestivos, en el caso del intestino, un aumento de la longitud de las vellosidades del mismo, lo que a su vez produce una mejor utilización de los nutrientes.

La región de los Llanos Orientales se vislumbra como la despensa de alimentos para Colombia y el mundo, una de las necesidades es aumentar la producción de aves de engorde para abastecer a nuestra región y al país; lo cual reta a los productores a hacer uso de aditivos alimentarios que sostengan la ganancia de peso y el estado sanitario de los animales; uno de ellos ha sido el uso de antibióticos como promotores de crecimiento, los cuales están en entre dicho por salud pública al dejar residuos en la carne de pollo que va para consumo humano.

En el departamento del Meta en los últimos años se han establecido nuevas producciones avícolas con el fin de abastecer el mercado no sólo regional sino el mercado central del país, esto obliga a los productores a aumentar el número de animales por encasetamiento o a buscar un mecanismo viable que acorte el periodo de engorde de los pollos. En esa búsqueda de nuevas opciones, surge el uso de los probióticos, que se han venido consolidado como una de las alternativas naturales al uso de antibióticos promotores de crecimiento en los animales a nivel mundial, con la ventaja de no generar efectos colaterales en el animal pero especialmente en el consumidor final, también se les atribuye que mejoran la digestibilidad, la ganancia en peso y aumentan el índice de conversión alimenticia lo que al final del ciclo productivo se refleja en mayor rentabilidad para el productor. Con el presente proyecto de investigación se pretende aportar a la comunidad científica y a los productores, información que pueda mejorar el rendimiento de las producciones teniendo en cuenta el crecimiento porcentual de la demanda de alimentos; mediante el uso de microorganismos probióticos adicionados en forma individual o en mezcla con la sustitución de un porcentaje de proteína en la dieta de los pollos de engorde, midiendo el efecto especialmente en la histopatología de las vías digestivas como un posible cambio de la morfometría intestinal.

Basados en los resultados de investigaciones anteriores, se pretende con este proyecto de investigación evaluar el efecto del uso de probióticos en la alimentación de los pollos de engorde sobre la morfometría del intestino en búsqueda de mejorar la absorción de nutrientes y por ende a mejorar la conversión alimenticia, la ganancia de peso diaria, y por qué no disminuir los costos de producción.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del uso de probióticos sobre parámetros morfométricos en pollos de engorde.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar altura y espesor de las vellosidades en duodeno, yeyuno e íleon.
- Determinar la profundidad y espesor de las criptas en duodeno, yeyuno e íleon.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 AVICULTURA EN EL MUNDO

El principal objetivo de la avicultura es la obtención de alimentos aptos para el consumo humano, de ciclo productivo rápido, teniendo en cuenta el bienestar de los animales y el respeto por el medio ambiente (Gaggia *et al.*, 2010).

El consumo de carne de pollo es uno de los indicadores más comunes para medir el cambio de interés de los compradores. La carne de pollo ocupa el segundo lugar de preferencia entre los consumidores a nivel mundial, después de la carne de cerdo, con un total de 83 millones de toneladas/año. El mercado internacional cárnico presentó importantes cambios en la última década, algunos de ellos debido a las distintas situaciones que modificaron los hábitos de consumo de la población, por la expansión o retracción de la producción mundial o el aumento del nivel de ingresos, conjuntamente con el crecimiento de la población (1,15% anual) (Errecart, 2014).

En el 2013 en Colombia se reportó el encasamiento de 30 millones de pollitos al mes en promedio, obteniendo una producción anual de 600.000 toneladas aproximadamente. La participación regional en la producción de pollo la lidera la zona central del país (Cundinamarca, Tolima y Huila) con 35% del total, seguida del Valle (19%), Santander (18%), Antioquia (11%), Costa Atlántica (10%), Eje Cafetero (3%) y la zona Oriental (1%). Esta producción se dirige especialmente a los mercados de Bogotá, Medellín, Cali y ciudades de la Costa Atlántica. A diferencia del pasado, los patrones de consumo han cambiado, por cuanto ahora los clientes demandan el pollo en presas, especialmente pierna, pernil y alas; preferiblemente empacadas en bandejas (FINAGRO, 2013).

Según la Federación Nacional de Avicultores de Colombia - FENAVI- (2015), el consumo per cápita de carne de pollo en Colombia es de 30,2 Kg aproximadamente, mostrando un aumento en los últimos 5 años de 6,8 kg, respecto al 2010 donde el consumo per cápita nacional era de 23,4 Kg.

El Departamento Nacional de Planeación -DNP- (2007) visiona al departamento del Meta como principal polo de desarrollo de la Orinoquia colombiana y centro

agroindustrial y turístico, facilitando la integración entre el oriente y el centro del país, buscando aprovechar las oportunidades que se pueden derivar del flujo de productos y servicios por los corredores viales de integración suramericana. El Meta sustenta hasta el momento su base económica en la producción primaria (agropecuaria), con muy poca transformación, dirigida en su mayoría hacia los mercados nacionales.

La perspectiva territorial de las apuestas productivas indica que se abren oportunidades para vincular las diversas zonas del departamento a la estrategia exportadora. Las zonas productivas agroindustriales se localizarían principalmente alrededor de Villavicencio y a lo largo de los corredores formados por la troncal del llano, la cuenca del río Meta y el corredor sur que se conecta con el departamento del Guaviare, cruzando la región del Ariari. Esta estructura territorial productiva se insinúa con las tendencias actuales y las vocaciones productivas que respaldan la Agenda Interna de Productividad y Competitividad del departamento.

3.2 ASPECTOS SANITARIOS EN AVICULTURA

Dentro del ciclo productivo del pollo de engorde se enfrentan frecuentemente retos de índole sanitario, en especial durante la adaptación del pollito al período posterior a la eclosión o en el aumento de los factores de estrés que se derivan de las prácticas utilizadas en la producción avícola moderna, que en conjunto pueden debilitar el sistema inmunitario y predisponer a los pollos a la colonización de diversos microorganismos patógenos en el tracto gastrointestinal, lo que representaría una seria amenaza para la salud de las aves, y a su vez, para la inocuidad y seguridad alimentaria (Wigley, 2013).

Las enfermedades en el sector avícola tienen un impacto económico y social importante, no solo por las pérdidas directas, sino también por las indirectas como consecuencia del inmuno-compromiso de los animales. Entre las pérdidas directas, están las económicas, que de acuerdo al grado de virulencia, la dosis del inocuo y la edad de las aves podría presentar una alta mortalidad. Entre las pérdidas indirectas, se encuentran problemas a nivel productivo, por las alteraciones en el crecimiento y desarrollo de las aves. Esta situación podría tener un impacto importante en salud pública, al favorecer el desarrollo de enfermedades zoonóticas (Ingrao *et al.*, 2013). Las principales enfermedades a las cuales se enfrenta la producción avícola en nuestro país son: bronquitis

infecciosa, gumboro, New Castle y enfermedades de tipo digestivo ocasionadas por coccidias

La bronquitis infecciosa es una enfermedad infecto-contagiosa, causada por un virus del género *Coronavirus*. Se caracteriza porque las aves afectadas presentan estertores traqueales, secreciones nasales, tos y estornudos; además produce trastornos en la producción de huevos en aves ponedoras y reproductoras ya que también afecta el tracto urogenital. Los daños renales asociados a infecciones por diversas cepas del virus de la bronquitis infecciosa han ido aumentando, especialmente en pollos de engorde (OIE-2014)

La bursitis infecciosa o gumboro es causado por un virus del género *Avibirnavirus*, de la familia *Birnaviridae*. La enfermedad clínica sólo la presentan los pollos. Únicamente se ven afectadas a nivel clínico las aves jóvenes. La enfermedad aguda y severa de las aves de 3 – 6 semanas de vida se asocia con una mortalidad elevada, pero es habitual una enfermedad subclínica o menos aguda en aves de 0 a 3 semanas de vida. Puede causar problemas secundarios debido al efecto del virus en la bolsa de Fabricio. El virus del gumboro provoca un descenso en la cantidad de linfocitos de la bolsa, y si esto se produce en las dos primeras semanas de vida, puede conducir a una reducción significativa de la respuesta inmune humoral (OIE-2007)

La enfermedad de New Castle es causada por virus específicos del *Paramixovirus* aviar tipo I (APMV-1) que es un serotipo del género *Avulavirus* perteneciente a la familia *Paramyxoviridae*. Existen nueve serotipos de paramixovirus aviar designados desde APMV-1 a APMV-9. Se ha demostrado que el virus es capaz de infectar más de 200 especies de aves, pero la gravedad de la enfermedad causada depende de cuál sea el hospedador y la cepa del virus. Las cepas menos patógenas pueden inducir una enfermedad grave si se exacerban por la presencia de otros organismos o mediante condiciones ambientales adversas. La prueba diagnóstica confiable es el aislamiento del virus y su subsiguiente caracterización (OIE-2014).

La coccidiosis es una enfermedad causada por protozoarios del género *Eimeria*, caracterizados por producir diversos grados de enteritis que afectan en forma negativa la producción y desarrollo del ave; con graves pérdidas económicas, debido al retraso en el crecimiento, menor conversión alimenticia, mala pigmentación, alta morbilidad y mortalidad de las aves (IASA, 2008). Esta enfermedad es de distribución mundial. Su amplia difusión, capacidad reproductiva del agente etiológico y sobre todo, su carácter resistente han hecho

que este parásito esté presente en la mayoría de las instalaciones avícolas y que la necesidad de control sea continua (Rubio, 2008).

Las coccidias invaden la pared intestinal de las aves donde se multiplican y son expulsados al exterior a través de las heces, infectando de nuevo a otros animales de la misma especie. Así, en condiciones de hacinamiento y poca higiene, la coccidiosis se propaga de manera implacable por toda la explotación (Escobar *et al.*, 2010).

Los sistemas de control establecidos en avicultura han contribuido a disminuir los casos clínicos de la coccidiosis. Actualmente las compañías farmacéuticas, centran sus investigaciones en estrategias de control que reduzcan la coccidiosis subclínica y minimicen efectos sinérgicos de otros procesos que puedan darse a nivel intestinal. Un control inadecuado de la enfermedad incide negativamente sobre los resultados zotécnicos al disminuir la ganancia de peso y el índice de conversión; al igual que aumentar la mortalidad e incrementar la susceptibilidad a otras enfermedades. (Rubio, 2008)

En las últimas décadas, como respuesta a los retos que enfrentaban los avicultores, surgió el uso de antibióticos en niveles sub-terapéuticos, que adicionados en la dieta animal actúan como promotores de crecimiento (APC) (Agostini *et al.*, 2012). Pero con el tiempo nació la preocupación mundial sobre el desarrollo de resistencia a los antibióticos y la transferencia de genes resistentes de los animales al hombre, lo cual condujo a la prohibición del uso de los APC en la Unión Europea a partir del 2006 (Huyghebaert *et al.*, 2011).

La industria de nutrición animal enfrenta un futuro sin el uso de APC, la prohibición de su uso y el retiro voluntario gradual en alimentos, ha supuesto una presión adicional para mejorar la salud y el bienestar de los animales. La industria alimentaria ha concentrado sus líneas de investigación a evaluar productos alternativos que mantengan la flora intestinal benéfica, donde se incluyen diversas clases de productos como enzimas, probióticos, prebióticos, fitogénicos y ácidos orgánicos. En la última década, éstos productos se han ensayado para evaluar sus beneficios; pero para ser aceptados, sus efectos deben ser demostrados con la mejora de los rendimientos productivos de los animales similar a la alcanzada con los APC (Ravindran, 2013).

3.3 POLLO DE ENGORDE RAZA ROSS

El pollo de engorde raza Ross es de contextura fuerte, plumaje color blanco que cubre la totalidad del cuerpo, cresta y barba de color rojo, pechuga ancha, patas grandes y bien desarrolladas. Tiene un ciclo de vida corto (6 - 8) semanas donde alcanza un peso corporal de aproximadamente 1,9 a 2,2 Kg. La raza Ross es de crecimiento rápido, eficiente conversión alimenticia y con buen rendimiento de carne. Está diseñado para satisfacer las exigencias de los clientes que necesitan consistencia de rendimiento y versatilidad para cumplir una amplia gama de requerimientos del producto final (Avicol, 2015).



Fuente: Avicol 2015

Imagen 1 Pollo de engorde raza Ross.

Es necesario mantener la parvada en su zona térmica de confort mediante el monitoreo de conducta del pollito, cuidándose de la humedad relativa baja (menos de 50% HR). Establecer un programa de ventilación mínima desde el primer día. Controlar el llenado del buche, conducta de alimentación, bebida y peso vivo a los 7 días para permitir un mejoramiento continuo del montaje del área de crianza. Mantener las aves en su zona térmica de confort durante todo el período de crecimiento. Los pollos de engorde de crecimiento rápido producen grandes cantidades de calor, particularmente en la segunda mitad del período de crecimiento total. El mantenimiento de temperaturas menores a los 21°C a partir de los 21 días puede mejorar las tasas de crecimiento, de igual forma se deben mantener altos estándares de bioseguridad e higiene para reducir el riesgo de enfermedad al mínimo. (Aviagen, 2014).

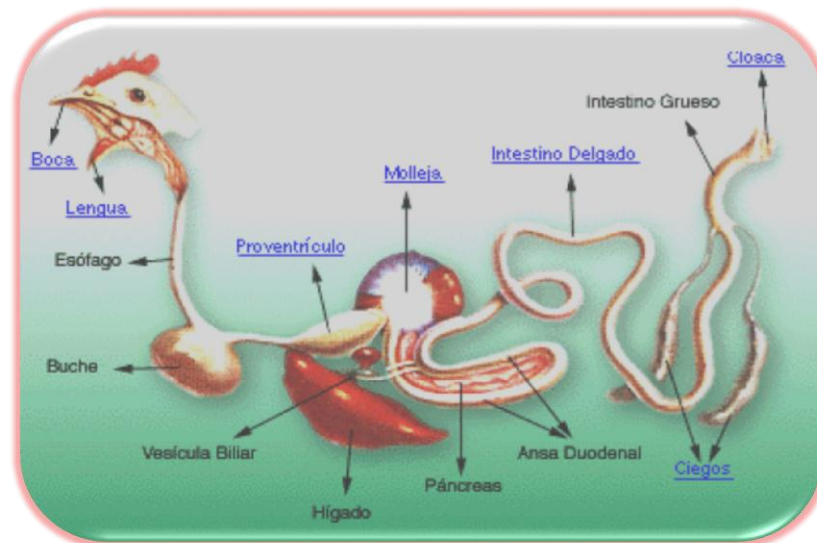
3.4 APARATO DIGESTIVO EN LAS AVES

Según Gil (2010) el aparato digestivo de las aves inicia en el pico, cuya base ósea la integran por un lado, los huesos nasal, maxilar y pre-maxilar, y por otro, el esqueleto mandibular, algunas aves lo utilizan como órgano prensil (psitácidas). Las cavidades oral y faríngea se describen como una única cavidad orofaríngea, caracterizada por la existencia de un largo paladar duro y papilas cornificadas dispuestas en hileras, la lengua se adapta a la forma del pico y puede ir provista de papilas filiformes, como en las palmípedas. Estas papilas, junto con las laminillas córneas del pico actúan como barrera para el filtrado del alimento.

La faringe se continúa con el esófago, el cual se sitúa entre la tráquea y los músculos cervicales, pero enseguida se desvía hacia la derecha, manteniendo esta posición en su recorrido por el cuello. Tanto el esófago como el buche son formaciones subcutáneas fácilmente palpables y accesibles quirúrgicamente. Una vez rebasa el corazón y los pulmones, el esófago desemboca al estómago, donde se distinguen dos porciones: proventrículo y molleja. El proventrículo, ventrículo sub-centuriado o estómago glandular, está en contacto ventralmente con el lóbulo izquierdo del hígado. Presenta una pared rica en glándulas que segregan mucus, enzimas (pepsina) y ácido clorhídrico. La molleja o estómago muscular, queda caudal y se relaciona con el hígado, pero establece un contacto más extenso con el esternón y la parte ventral de la pared abdominal izquierda. Suele alojar granos de arena y piedras para favorecer el triturado del alimento, lo que funcionalmente suple la carencia de dientes en las aves (Gómez 2010; Gil, 2010).

El intestino ocupa la parte caudal de la cavidad corporal y establece relación con la molleja y los órganos reproductores. Consta de duodeno, yeyuno, íleon, dos sacos ciegos y recto. Su longitud y desarrollo dependen del tipo de alimentación, siendo muy largo en las aves granívoras y herbívoras, y más corto en las frugívoras y carnívoras. En el yeyuno puede ser observado el divertículo vitelino, resto del primitivo saco vitelino que durante los primeros días de vida nutrirá al pollito recién eclosionado. Los ciegos, ausentes en las psitácidas, se abren en la zona de tránsito del intestino delgado al grueso. Su tamaño también depende del tipo de alimentación, siendo muy corto en las granívoras y muy largo en las herbívoras. Parece ser que los ciegos facilitan la digestión de la celulosa, la absorción de agua, e incluso, en ciertas aves como las palomas, dada su riqueza en tejido linfóide actúan como auténticos órganos defensivos. El recto desemboca en la cloaca, zona de la desembocadura de los conductos genitales y urinarios (Herrera y López, 2005).

Imagen 2. Aparato digestivo de las aves



Fuente Herrera y López

La alimentación es probablemente el factor más importante en la producción de pollos de engorde, a través de la cual las aves se pueden exponer a una amplia variedad de agentes a lo largo del tracto gastrointestinal (TGI). La ingesta de alimento está acompañada por el rápido desarrollo del TGI y de los órganos asociados. Después de la eclosión, el momento y la forma de suministro de los nutrientes es fundamental para el desarrollo del intestino. El TGI de los pollos recién nacidos es básicamente estéril, no contiene microorganismos. Por medio de la alimentación, los microorganismos colonizan poco a poco el TGI, el cual forma un consorcio microbiano estable con el tiempo. Los estudios han demostrado que se necesitan de 2 a 4 semanas para que se establezca la microbiota intestinal (Ohimain y Ofongo 2012).

Durante la primera semana después de la eclosión, el crecimiento del TGI del pollo es superior a la de otros órganos en el cuerpo y es esencial para que el ave pueda alcanzar su máximo potencial genético. La función principal del TGI es absorber los nutrientes de la dieta y excretar productos de desecho; y contiene un ecosistema microbiano único que se ve afectado por los nutrientes de la dieta; las secreciones y respuestas sistémicas del ave (Torok *et al*, 2011). El TGI tiene una barrera, que separa el medio interno del entorno luminal, desarrollando un ambiente dinámico de interacciones complejas entre el contenido del lumen intestinal, microorganismos y las células epiteliales de absorción, proporcionando protección física e inmunológica (Patel *et al*, 2014).

El epitelio intestinal, junto con el moco, proporcionan la primera barrera de defensa sensorial, mediada por un transporte activo entre las bacterias nativas,

los patógenos y otros antígenos. Las bacterias residentes 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, con sus funciones metabólicas, tróficas y de protección, es capaz de afectar positivamente la integridad de la barrera intestinal (Chambers *et al*, 2011).

3.5 PROBIÓTICOS

Los probióticos son definidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura-FAO-(2006) como microorganismos vivos que, administrados en adecuadas cantidades, ejercen un efecto beneficioso sobre el huésped. La mayoría de los probióticos son bacterias del género *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp*, aunque también se emplean algunos otros géneros como *Enterococcus spp*, *Streptococcus spp*, y la levadura *Saccharomyces spp*.

La solución más adecuada para asegurar el rendimiento de la alimentación, con la consecuente ganancia de peso y aumento de la inmunología natural del animal, es la prevención de las variaciones de la microbiota, asegurando la presencia de un número suficiente de bacterias beneficiosas capaces de dominar el medio e inhibir el desarrollo de los patógenos (Carcelén. *et al*, 2005), efectos que se pueden alcanzar a través del uso de probióticos.

La población microbiana del TGI juega un rol importante en el proceso digestivo normal y en mantener la salud animal, los cambios en la dieta pueden sustancialmente afectar las bacterias y la salud. El uso de cultivos de probióticos en la industria avícola para el control de patógenos, ha ganado reciente atención debido al incremento de la restricción de antibióticos como APC (Willis y Reid, 2008).

Para que un probiótico sea efectivo, debe incrementar el número de organismos benéficos, sin causar enfermedad en el huésped y a la vez, reducir el número de patógenos. La combinación de probióticos ha mostrado más eficacia que el uso de uno solo; cuanto más variada sea la composición del probiótico, será más eficaz, se podrá usar en diferentes especies de animales, tendrá menos efectos adversos y cumplirá mejor con las características ideales de un probiótico (Chapman *et al.*, 2011).

Para que un microorganismo sea considerado probiótico debe reunir características como: tener historia de no ser patógeno, especialmente en animales inmuno-comprometidos, no estar asociado con enfermedades como endocarditis infecciosa y/o trastornos gastrointestinales. No ser sensible a enzimas proteolíticas. Ser capaz de sobrevivir el tránsito gástrico. Ser estable frente a ácidos y bilis y no conjugarse con las sales biliares. Tener capacidad para adherirse a las superficies epiteliales. Sobrevivir en el ecosistema intestinal. Ser capaz de producir componentes antimicrobianos. Permanecer vivo y estable durante su empleo. Tener un mecanismo específico de adhesión al intestino. Tener crecimiento rápido en las condiciones del ciego. Ser capaz de inmuno-estimular pero sin efectos pro-inflamatorios. Los probióticos pueden también funcionar sintetizando ciertos compuestos o produciendo subproductos metabólicos que pueden tener una acción protectora o inducir efectos positivos (Lessard, 2004; Pino y Dihigo, 2007).

Gran parte del sistema inmune está dedicado a proteger el TGI, por eso existen sistemas adicionales que protegen el sistema digestivo. Un elemento clave en la defensa del sistema digestivo es la microflora endógena. Las bacterias benéficas compiten con los patógenos por los sitios de adhesión y por nutrientes, es por ello que se necesita de nuevos enfoques para limitar la concentración de patógenos en el TGI (Salvador y Cruz, 2009).

En el TGI de los pollitos predominan durante las primeras semanas de vida, bacterias del género *Lactobacillus spp*, *Enterococcus spp* y *Bacillus spp*, esta flora autóctona es específica y determinada por condiciones físicas y químicas del aparato digestivo. Este ecosistema permanece normalmente constante durante la vida del ave adulta. Pero este equilibrio se puede perturbar, cuando sufre agresiones: estrés, desequilibrios nutricionales, vacunaciones, suministro masivo de antibióticos y sustancias que alteran el valor del pH del intestino. Entonces, los factores que trastornan el equilibrio de la flora intestinal, tienen una repercusión en la salud del animal. Se puede considerar que las disfunciones digestivas constituyen los factores más limitantes para el rendimiento (Gauthier 2008).

García (2005) explica los mecanismos por los cuales los probióticos generan beneficios en el organismo, en el cual se suministren (Tabla 1).

Tabla 1. Mecanismos de acción de los probióticos

EFFECTOS	MECANISMOS
Acción hipocolesterolemica	Inhibición de enzima hidroximetilglutaril CoA reductasa Inhibición de absorción micelas de colesterol. Aumento de sales biliares desconjugadas.
Supresión microorganismos patógenos	Producción sustancias antimicrobianas: ácidos orgánicos, H ₂ O ₂ ; bacteriocinas. Competencia por nutrientes. Competencia por los sitios de adhesión.
Alteración del metabolismo microbiano y del hospedero	Estimulación de enzimas que intervienen en digestión. Reducen la producción de toxinas. Sintetizan vitaminas y otros nutrientes deficientes en la dieta.
Estimulación de respuesta inmune del hospedero	Activación de macrófagos Estimulación de células inmunes o competentes. Generan altos niveles de inmunoglobulinas.

Fuente García *et al* (2005)

El empleo de probióticos en aves se encamina a mejorar el balance microbiano del TGI, inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, producir enzimas hidrolíticas para mejorar la utilización de alimentos y como resultado final, mejorar los rendimientos productivos (Sarker *et al.*, 2010).

El ácido cítrico y los probióticos han demostrado tener beneficio en la salud intestinal, de hecho, mejoran la cantidad de células y en consecuencia, el número y tamaño de las vellosidades intestinales. Los cambios en la cantidad y longitud de las vellosidades se explican por la acción trófica de los probióticos. Dado a que se estimula el proceso mitótico en la región cripta-vellosidad y a través de la exclusión competitiva, permitiendo mecanismos de proliferación en la mucosa intestinal (Furlan *et al.*, 2010).

3.5.1 *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura es un hongo microscópico (organismo unicelular), que suele medir de 5 a 10 micras, es facultativo anaeróbico. La propagación de las levaduras se da mediante un proceso de transformación de oxígeno y azúcar, denominado metabolismo oxidativo. La levadura en sí, proporciona vitaminas del complejo B y minerales, es una buena fuente de proteína y de aminoácidos. El *Saccharomyces cerevisiae*, tiene un 40 - 45% de proteína de alto valor biológico y abundante en vitaminas del complejo B, como biotina, niacina, ácido pantoténico y tiamina, entre otras, obteniéndose efectos beneficiosos en la producción de pollos de carne (Peralta, 2008). Aun cuando la levadura no es un ingrediente proteico como tal, su proteína está compuesta por aminoácidos esenciales como Lisina, Metionina y Triptófano, entre otros. Los principales productos utilizados comercialmente en alimentación animal provienen de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Apergyllus oryzae* (García, 2007).

Según Peralta (2008) la pared celular de la levadura, contiene mananoligosacáridos, los cuales tienen efectos beneficiosos en la salud de las aves, ya que son biorreguladores del tracto intestinal, con acción preventiva o curativa, manifestandose en mejoras en la producción sin dejar residuos en la canal.

3.5.2 *Lactobacillus acidophilus*

Son microorganismos Gram positivos de morfología bacilar, en algunas especies algo flexionados, con longitud y grosor variado, no formadores de esporas, inmóviles, catalasa negativos, no reductores de nitratos, citocromo negativos, no licuan la gelatina, su temperatura óptima de crecimiento es de 30-40°C; está ampliamente distribuido en la naturaleza, en productos de origen vegetal y en el TGI presentan metabolismo homofermentativo y heterofermentativo (Bergey y Holt, 2009).

En avicultura se ha venido incrementando el uso de probióticos a base de *Lactobacillus spp* como estrategia preventiva del dominio de bacterias benéficas sobre bacterias indeseables en el TGI (Torres *et al.*, 2007).

Los lactobacilos crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 - 4,5. La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente

aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilas o anaeróbicas. La mayor parte de lactobacilos son mesófilos (30 - 40°C), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53°C. Los miembros de este género transforman la glucosa y las hexosas aldehídicas similares, los carbohidratos que producen estos azúcares simples y los alcoholes polihidroxílicos en ácido láctico por homofermentación o bien, en ácido láctico y otros productos finales adicionales como ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico y ácido succínico (Rodríguez *et al.*, 2012).

Según Lastras (2009), el *Lactobacillus acidophilus* es una bacteria gram positiva dominante en el intestino delgado, donde se produce la mayor parte de la digestión, mientras que *Bifidobacterium bifidum* reside en el intestino grueso donde se procesan los desechos para ser evacuados. El *L. acidophilus* absorbe la lactosa y la metaboliza formando ácido láctico. Durante la digestión, también ayuda en la producción de niacina, ácido fólico y vitamina B6 (piridoxina). La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias patógenas.

3.5.3 *Bacillus subtilis*

El *Bacillus subtilis* es una bacteria Gram positiva, aerobio facultativo comúnmente encontrada en el suelo, tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas (Lastras 2009).

Según Millan (2008), otros de los elementos que caracteriza a los *Bacillus sp.* es la producción de enzimas hidrolíticas que ayudan a mejorar la utilización de los alimentos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas y las glicosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos son absorbidos más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias benéficas para el establecimiento de una microflora intestinal balanceada. El empleo de estas bacterias es dado por su capacidad de producción de enzimas, que al mejorar la digestión en el hospedero, son capaces de inhibir el crecimiento microbiano de bacterias patógenas.

El empleo de endosporas de *Bacillus sp.* puede contribuir a una disminución de la acidez del intestino en las aves, favorecer el crecimiento de *Lactobacillus*, estimular el sistema inmune y contribuir a la resistencia ante patógenos ambientales, así como inhibir el crecimiento microbiano de bacterias dañinas y favorecer los procesos digestivos.

El uso de *Bacillus spp.* en la avicultura mejora los mecanismos y modos de actuar del sistema inmunológico y fisiológico de las aves e incrementa la viabilidad y los indicadores productivos. De este modo, se obtienen aves con mayor inmunocompetencia ante agentes patógenos, en condiciones de producción. El estudio de los probióticos, a partir de *Bacillus spp.* y sus endosporas es una vía más para mejorar las producciones (Millan, 2008).

3.6 ENSAYOS EN AVICULTURA

Acosta *et al* (2007), analizaron el efecto de una mezcla probiótica (*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus rhamnosus*) en el comportamiento productivo, rendimiento en canal e indicadores económicos del pollo de engorde a los 21, 35 y 42 d de edad, teniendo como resultado que las aves que consumieron el probiótico ganaron más peso y, aunque realizaron un mayor consumo de alimento en todas las etapas, tuvieron mejor conversión alimentaria, lo que denota mayor eficiencia en el uso y aprovechamiento de los nutrientes ingeridos.

Ignatova *et al* (2009), utilizando suplementos *Lactobacillus* y cepas de *Bifidobacterium*. Con 200 pollos que fueron asignados en dos grupos experimentales durante siete semanas; reportaron efectos positivos sobre el peso corporal final en un 14,4%, además de mayor consumo de alimento en 7,7%; y la utilización alimenticia mejoró 8,1%.

Salvador-Ávalos *et al* (2012) realizaron un ensayo en pollos de engorde adicionando un probiótico en el agua de bebida durante 35 días a base de bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus acidophilus* y *Pediococcus acidilacticii* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con lo cual obtuvieron una mejora del 7,1 % en el peso corporal de los machos, en la cuarta semana; las hembras mostraron un aumento de 6,8 % con respecto al grupo que no recibió el probiótico, a la quinta semana.

Arce *et al* (2008) evaluaron el comportamiento productivo y los cambios morfológicos en las vellosidades intestinales del pollo de engorde a los 21 días empleando 500 gr por tonelada de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en 200 pollos en comparación con el uso de avilamicina como APC. Las variables estudiadas mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en peso corporal y conversión alimenticia; con aumento en la amplitud, número y área de las vellosidades intestinales, explicando en parte el efecto benéfico sobre los parámetros productivos.

Gómez *et al* (2009), Evaluaron en pollos de engorde raza Ross la productividad, digestibilidad ileal, retención de nutrientes y morfología intestinal en pollos de 28 a 42 días de edad alimentados con mananoligosacáridos y un cultivo de levaduras (MOS+CSc) combinados con *Bacillus subtilis* (Bs) vivo; donde la inclusión de MOS+CSc incrementó la ganancia de peso y el rendimiento de la pechuga; La digestibilidad ileal de materia seca, cenizas y energía fue menor con la dieta sin aditivos, con la dieta adicionada con Bs y la dieta adicionada con MOS+CSc y Bs, la digestibilidad de estos nutrientes fue mayor. El espesor de las vellosidades fue mayor con la dieta con MOS+CSc combinado con Bs (interacción de MOS+CSc y Bs); la profundidad y grosor de las criptas fueron mayores con MOS+CSc y Bs.

Rodríguez *et al.* (2010) desarrollaron un trabajo de investigación con el objetivo de determinar cambios morfométricos en las vellosidades intestinales, en pollos de engorde alimentados con la inclusión del 10% de microorganismos eficientes (ME) en su dieta a partir de los 21 días de crecimiento, donde se concluyó que la inclusión de M.E. en la dieta a nivel de duodeno no produjo cambios significativos en las vellosidades en el alto y ancho pero si los hubo en la densidad a favor del grupo que consumió solo alimento balanceado. A nivel del ciego la inclusión de M.E. produjo un aumento significativo en la altura de las vellosidades, similitud en el ancho y menos densidad que en los pollos que consumieron solo alimento balanceado.

Rodríguez e Ignacio (2012), realizaron un ensayo para evaluar el efecto de la adición en el agua de bebida del probiótico "Lactobac®" en el desarrollo alométrico de las vellosidades duodenales y los parámetros zootécnicos en pollos de engorde; donde se presentó efectos benéficos en cuanto a largo, ancho y cantidad de las vellosidades duodenales en pollos de engorde ayudando en el desarrollo alométrico de las mismas. Las vellosidades en forma de zig-zag con el tratamiento de probióticos Lactobac® se mantuvieron hasta el día 15 aproximadamente lo cual permitió una mejor absorción y aprovechamiento de los nutrientes reflejándose positivamente en la ganancia de peso.

Barrera *et al.* (2014), Evaluaron el efecto de la adición de ácido cítrico y un probiótico comercial en el agua de bebida, sobre el desarrollo pos-eclosión del duodeno y parámetros productivos en pollos de engorde donde se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para las variables morfométricas de cantidad, longitud y ancho de las vellosidades y para los parámetros zootécnicos, a favor del grupo suplementado con el probiótico comercial, en el agua de bebida. El uso de probióticos desde el primer día de edad en pollos de engorde, favoreció el desarrollo pos-eclosión de la morfometría duodenal y los parámetros zootécnicos en este tipo de producción.

Linares *et al.* (2010), verificaron la acción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* asociada o no a vitamina E sobre las variables productivas y la calidad de la canal con ciento veinte pollos parrilleros donde los broilers que recibieron la dieta en la cual se combinó la levadura de cerveza con la vitamina E, tuvieron significativamente ($P < 0,05$) mejor Índice de conversión; el rendimiento de canal fue semejante en todos los grupos, pero el peso de los muslos fue 10% mayor en el grupo que recibió la combinación de Levadura y vitamina E.

4. METODOLOGÍA

El proyecto de investigación se desarrolló en un galpón con capacidad para 2000 aves de la Unidad avícola en la Granja pecuaria Barcelona de la Universidad de los Llanos, ubicada en Villavicencio, km 12 vía Puerto López, vereda Barcelona, con una temperatura de 28°C y humedad relativa del 85% en promedio.

Se emplearon 300 pollitos de engorde raza Ross de un día de nacidos; manejados mediante protocolos zootécnicos y control sanitario habitual, con disponibilidad de agua a voluntad, alimento suplementado en comederos y manejo de cortinas, entre otros.

A los pollitos se les brindó calefacción y alimento comercial (Italcol) de pre-iniciación hasta los 15 días de edad, luego se alojaron en jaulas metálicas de tres niveles, dividiéndolas en cinco tratamientos dietarios con tres replicaciones simultáneas de cinco aves cada una, para un total de 15 pollitos por tratamiento, con y sin probiótico; sustituyendo la proteína de torta de soya con harina de botón de oro (*Tithonia diversifolia*): T₁: 0% (Control), T₂: 5%; T₃: 10%; T₄: 15%, con y sin adición de probióticos en la dieta P₁ (Control): sin adición, P₂: *Saccharomyces cerevisiae* (SC); P₃: *Lactobacillus acidophilus* (LA), P₄: *Bacillus subtilis* (BS) y T₄: Mezcla de SC+LA+BS, asegurando la concentración de 10⁷ ufc/g de dieta experimental.

Las dietas se prepararon en la granja Barcelona y se balancearon (isoproteicas e isoenergéticas) al 21% de proteína y a 3000 Kcal/K de alimento, con núcleo vitamínico y mineral. Las dietas se analizaron bromatológicamente antes de iniciar la etapa experimental. Se utilizaron como materias primas: Torta de soya, harina de botón de oro, salvado de trigo, torta de palma africana, sorgo y melaza.



Imagen 3. Elaboración dietas experimental



Imagen 4.Recepción de aves .



Imagen 5.Distribución de unidades experimentales y administración de dietas.

A los 44 días de vida de los pollos, se sacrificaron dos aves por tratamiento tomados al azar, para un total de 40 aves. Se realizó la necropsia de acuerdo al protocolo establecido en el Laboratorio de Histopatología del Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, obteniendo muestras de tejido intestinal de aproximadamente 2 cm, se extrajo duodeno de la parte proximal en la porción media del páncreas; el yeyuno se extrajo de la porción posterior del vestigio del saco vitelino y el íleon en la porción inmediatamente anterior a los sacos ciegos. Se realizaron 3 cortes de forma tubular, abierta y cerrado fijándolo con formol al 10%. Las muestras se almacenaron en frascos tapa rosca con formalina bufferada, para proceder a la realización de las placas histológicas.

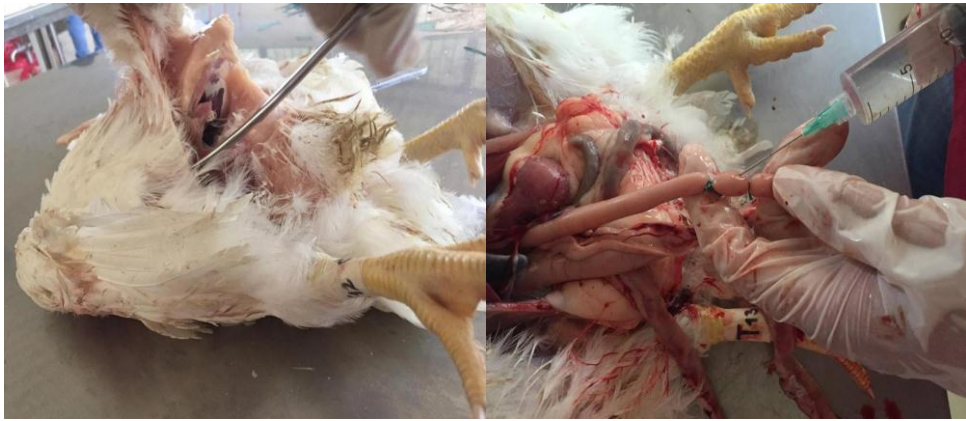


Imagen 6. Necropsias.



Imagen 7. Toma y almacenamiento de muestras.

El procesamiento y análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Histopatología de la Universidad de los Llanos, donde se realizaron los cortes

para incluirlos en los cassettes debidamente identificados y rotulados y colocarlos en el Histotecnión durante 18 horas. Las muestras se incluyeron en parafina fundida a 60°C en los moldes para solidificarlas y poder realizar los cortes en el micrótom.

Los cortes se montaron en láminas de vidrio, y se introdujeron en horno a 60°C para retirar el exceso de parafina y realizar la coloración con hematoxilina y eosina.

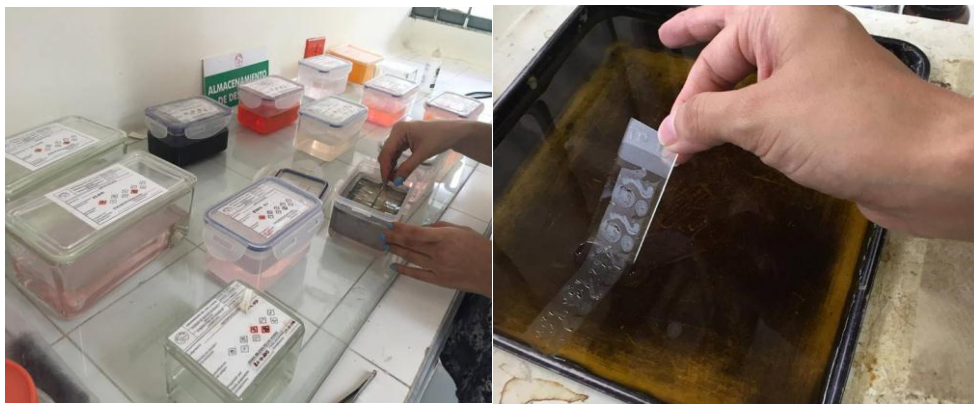


Imagen 8. Montaje de placas y coloración con hematoxilina-eosina.

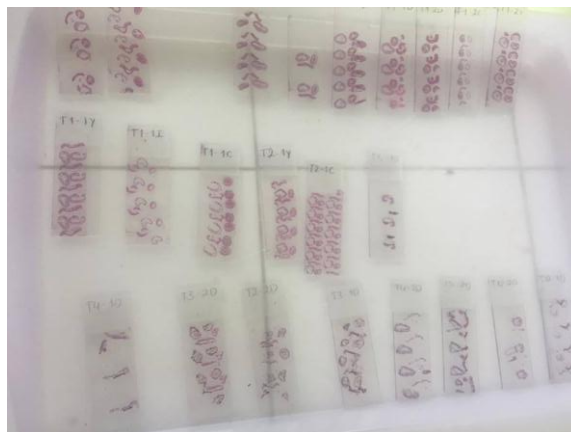


Imagen 9. Placas histológicas de intestino delgado de pollo de engorde.

La medición de las vellosidades intestinales (Alto y ancho) y de las criptas intestinales (Profundidad y espesor) se realizó en un microscopio óptico marca Leyca, con objetivo 4X; tabulando los datos y procesándolos para su posterior análisis.

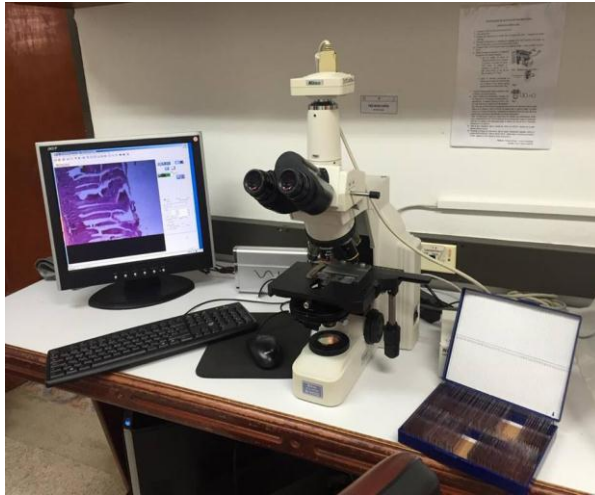


Imagen 10. Observación e identificación de las placas intestinales.

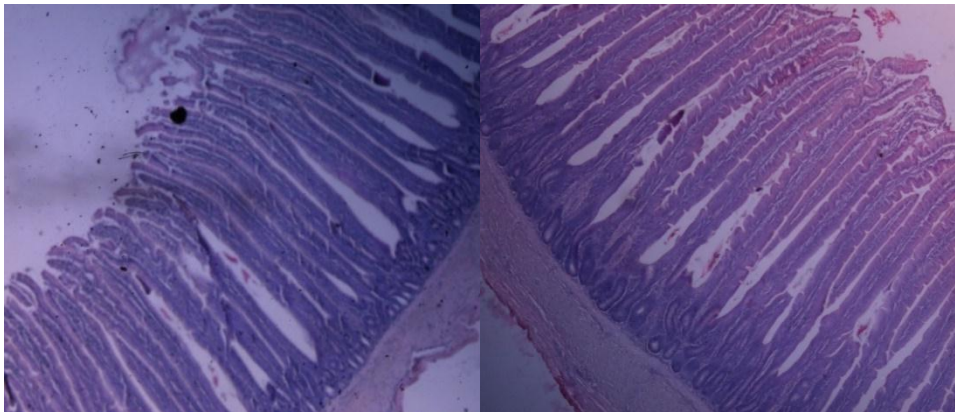


Imagen 11. Vellosidades intestinales 4X

Para la medición de las vellosidades se utilizó el programa ImageJ; en cada lámina se observaron cuatro campos; y en cada vellosidad se tomaron dos medidas, una en la parte media y otra en el ápice. La medición de las criptas se realizó de igual forma en la parte media para su espesor.

5. RESULTADOS

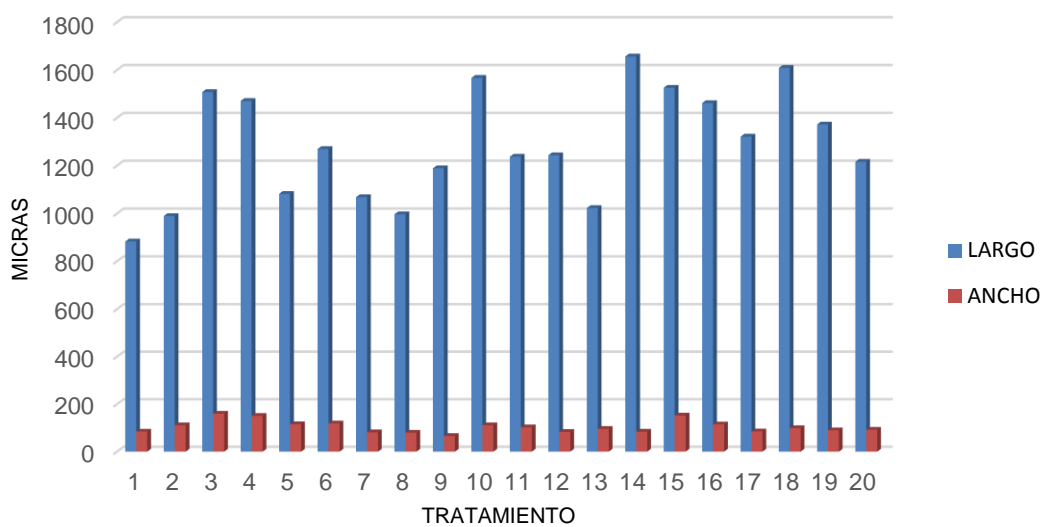
La información obtenida se tabuló en tablas Excel de Microsoft® y se promedió la lectura de los cuatro campos, para sacar un dato por lámina de cada ave, en el alto-ancho de la vellosidad y profundidad-espesor de las criptas. Los datos se analizaron para ver la tendencia de los mismos, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 2. Morfometría duodeno

TRATAMIENTO	VELLOSIDADES		CRIPTAS	
	LARGO µm	ANCHO µm	PROFUNDIDAD µm	ESPESOR µm
1	882,7	84,1	169,45	47
2	989,1	110,8	202,8	43,95
3	1507,55	159,75	217	96,05
4	1470,4	150,45	302,6	72,65
5	1081,8	115,35	154,5	66,75
6	1269,35	118,35	237,65	92,45
7	1068,2	81,25	158,35	32
8	996,45	79,55	287,25	58,9
9	1188,7	65,65	191,35	54,1
10	1566,95	110,75	267	65,15
11	1237,4	102,2	249,45	62,3
12	1243,5	82,85	251,15	49,25
13	1022,45	95,5	285,85	85,75
14	1656,35	83,75	305,1	65,2
15	1525,55	151,9	186,4	53,15
16	1461,65	114,6	223,1	56,9
17	1321,15	85,25	253,4	58,2
18	1608,9	98,7	272,5	54,65
19	1371,95	89,6	234,2	85
20	1215,9	91,9	215,4	63,85

Se analizó primero en la morfometría del duodeno, el largo de las vellosidades (Gráfica 1), encontrándose una mejor tendencia de comportamiento en T₁₄ (1656,5µm), seguido del T₁₈ (1608,9 µm) y T₁₀ (1566,9 µm), correspondientes a la adición de *Bacillus subtilis* (BS), la mezcla de *Saccharomyces cerevisiae* con

Lactobacillus sp y *B. subtilis* y *Lactobacillus sp* respectivamente, cuando el nivel de sustitución de proteína era del 5% con harina de botón de oro. Y una menor tendencia en los tratamientos T₁ (882,7μm) y T₂ (989,1 μm), correspondientes a los tratamientos control sin adición de probiótico con 0 y 5% de nivel de sustitución de proteína respectivamente.

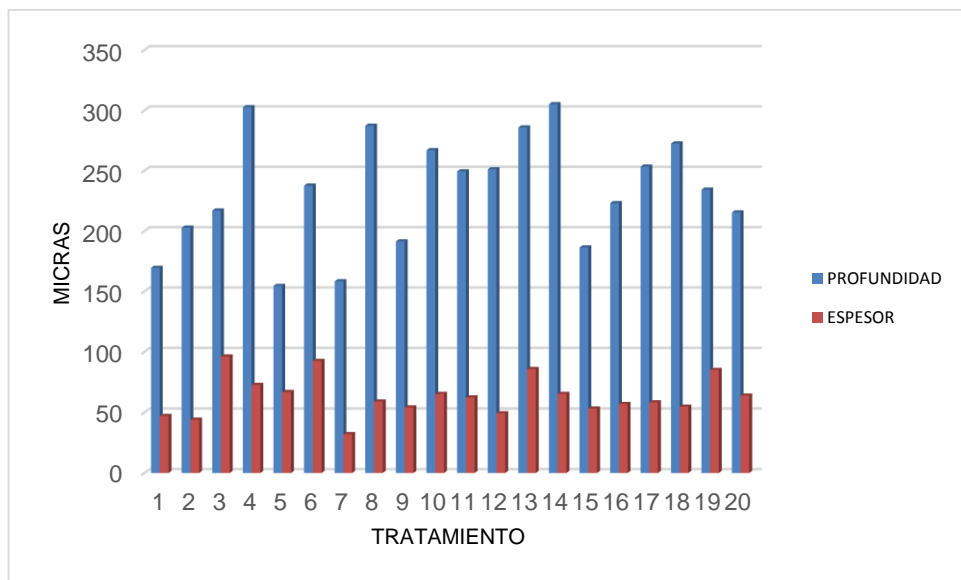


Gráfica 1. Largo y ancho de vellosidades en duodeno

En el ancho de las vellosidades del duodeno (Gráfica 1) se encontró una mejor tendencia de comportamiento en el T₃ (159,7μm), seguido del T₁₅ (151,9μm), correspondientes a tratamiento control sin adición de probiótico y con adición de *Bacillus subtilis* respectivamente, cuando el nivel de sustitución de proteína era del 10% con harina de botón de oro. Y se presentó una menor tendencia en los tratamientos T₉ (65,5μm) y T₈ (79,5μm) correspondientes a la adición de *Lactobacillus sp.* y *Saccharomyces cerevisiae* con 0 y 15% de nivel de sustitución de proteína, respectivamente.

En la profundidad de las criptas del duodeno (Gráfica 2), se encontró una mejor tendencia de los datos en T₁₄ (305,1μm), T₄ (302,6μm) y T₈ (287,3μm) correspondientes a la adición de *B. subtilis*, con un porcentaje de sustitución del 5% de proteína; sin probiótico con una inclusión del 15% de proteína y *S. cerevisiae*, con sustitución del 15% de proteína. La menor tendencia se observó en los datos obtenidos en T₅ (154,5μm), T₇ (158,3μm) y T₁ (169,4μm), que corresponden a *S. cerevisiae* sin sustitución de proteína y el mismo probiótico

con sustitución de proteína del 10%; seguido del tratamiento control (sin probiótico y 0% de sustitución de proteína).



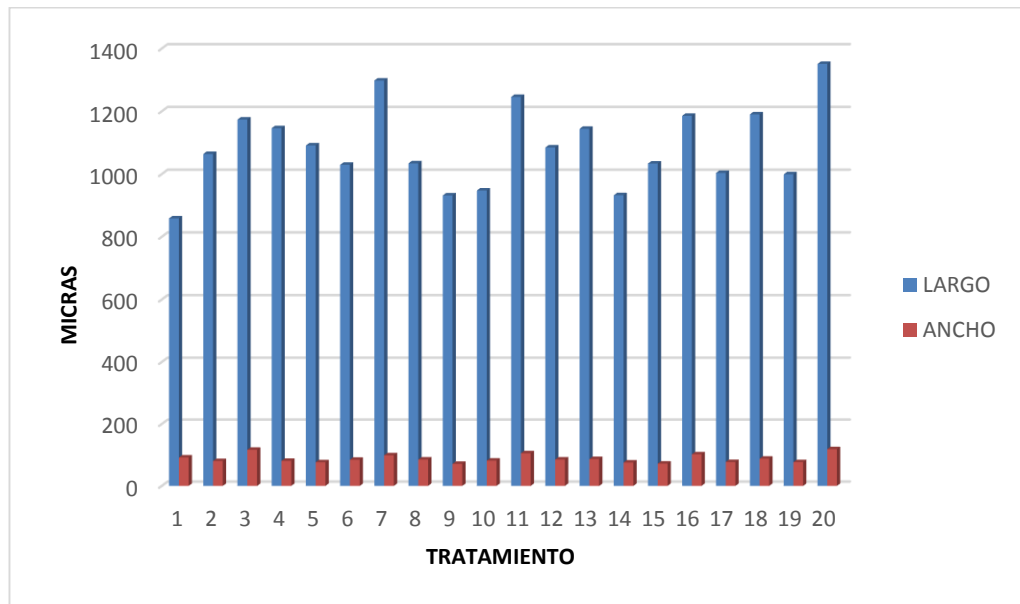
Gráfica 2. Profundidad y espesor de criptas en duodeno

Para el espesor de las criptas en el duodeno se obtuvo datos con mejor tendencia en T₃ (96µm), T₆ (92,4µm), T₁₃ (85,7µm), que corresponden a tratamiento sin probiótico con sustitución del 10% de proteína; *S. cerevisiae* con sustitución de proteína del 5% y *B. subtilis* sin sustitución de proteína. Los datos con menor tendencia fueron: T₇ (32µm), T₂ (43,9µm) y T₁ (47µm), que corresponden a *S. cerevisiae* con un porcentaje de sustitución de proteína del 10%; sin probiótico con sustitución del 5% y del 0%, respectivamente.

Tabla 3. Morfometría yeyuno

TRATAMIENTO	VELLOSIDADES		CRIPTAS	
	LARGO μm	ANCHO μm	PROFUNDIDAD μm	ESPESOR μm
1	858,7	91,7	197,2	54
2	1063,9	80,35	233,15	50,8
3	1173,7	116,55	233	50,45
4	1146,3	80,95	164,1	64,35
5	1091,2	76,4	283,25	60,6
6	1029,5	84,6	151,9	51,15
7	1298,05	98,9	248,75	85,8
8	1034	85,1	314,25	52,45
9	931,7	71,2	182,3	57,9
10	947,65	81,75	241,4	50,15
11	1245,85	105,4	242,85	57,65
12	1084,9	85,35	256,4	48,45
13	1144,15	86,7	330,8	73,1
14	932,6	75,65	224,3	45,15
15	1033,55	72	279,05	56,3
16	1185,75	102,15	242,45	72,4
17	1003,65	77,2	158,55	59,3
18	1190,2	88,05	198,2	60,15
19	999,3	76,85	193,5	62,8
20	1351,2	118,7	212,95	71,8

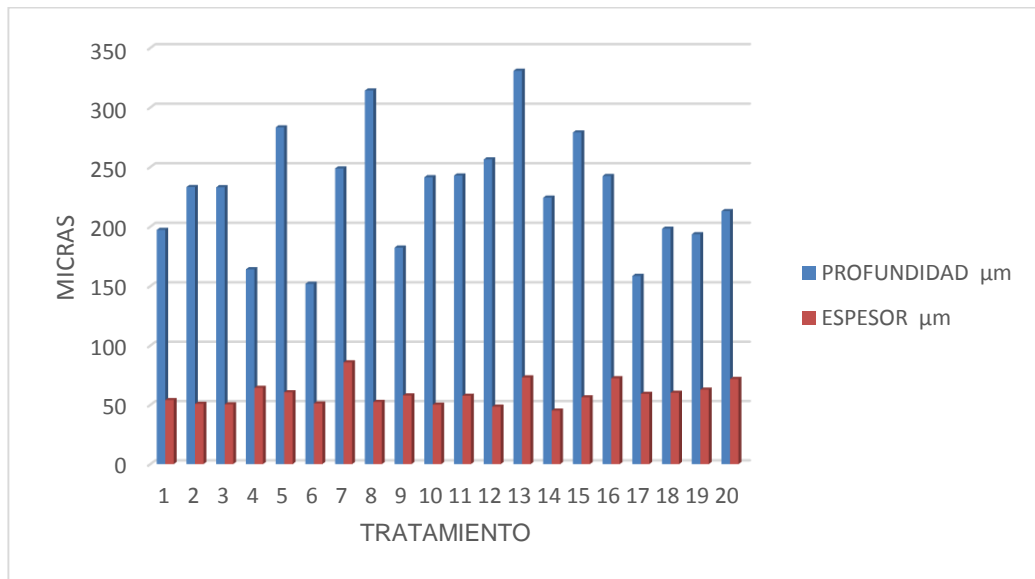
Para el largo de las vellosidades en yeyuno (Gráfica 3), se encontró una mejor tendencia en T₂₀ (1351,2 μm) seguido de T₇ (1298 μm) y T₁₂ (1245,8 μm), correspondientes al tratamiento con la mezcla de *Saccharomyces cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis*; tratamiento con solo *S. cerevisiae* y *Lactobacillus sp*, respectivamente, con nivel de sustitución de proteína del 15%, 10% y 15%. Una menor tendencia se observó en T₁ (858,7 μm), seguido de T₉(931,7 μm) y T₁₄ (932,6 μm), con un nivel de inclusión de proteína de 0% para T₁ y T₉ y del 5% para T₁₄.



Gráfica 3. Largo y ancho de vellosidades en yeyuno

Para el ancho de las vellosidades en yeyuno (Gráfica 3), se observó una mejor tendencia en T₂₀ (118,7 μ m), T₃(116,5 μ m) y T₁₁ (105,4 μ m), correspondientes al tratamiento con la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis*, con nivel de sustitución de proteína del 15%; tratamiento sin probiótico y con nivel de sustitución del 10% de proteína y tratamiento con inclusión de *Lactobacillus sp* con sustitución del 10% de proteína, respectivamente. La menor tendencia se observó en los tratamientos T₉(71,2 μ m), T₁₅(72 μ m) y T₁₄(75,6 μ m), que corresponden a los tratamientos con *Lactobacillus sp*, con un nivel de proteína del 0%; *B. subtilis*, con un nivel de sustitución de proteína del 10% y *B. subtilis*, con un nivel de sustitución de proteína del 5%, respectivamente.

Para la profundidad de las criptas en yeyuno (Gráfica 4), se observó una mejor tendencia en los datos de T₁₃ (330,8 μ m), T₈ (314,2 μ m) y T₅ (283,2 μ m), correspondientes a *B. subtilis* sin sustitución de proteína, *S. cerevisiae* con sustitución del 15% y del 5% de proteína, respectivamente. Los datos con menor tendencia fueron T₆(151,9 μ m) T₁₇(158,5 μ m) y T₄(164,1 μ m), que corresponden a *S. cerevisiae* con un 5% de sustitución de proteína, la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis* sin sustitución de proteína y sin probiótico con el 15% de sustitución proteica.



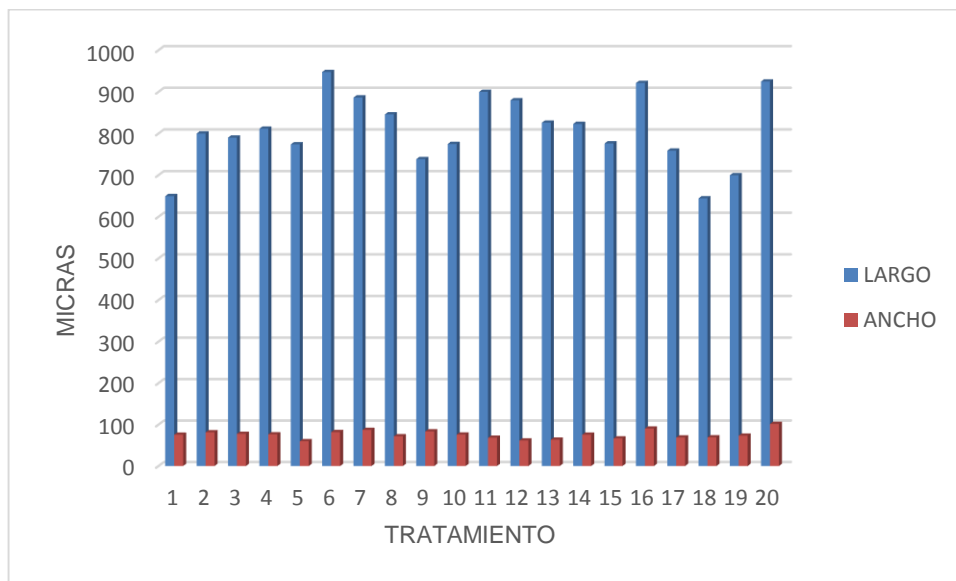
Gráfica 4. Profundidad y espesor de criptas en yeyuno.

En cuanto al espesor de las criptas en yeyuno (Gráfica 4), la mejor tendencia se observó en T₁₃ (73,1 μm), T₁₆ (72,4 μm) y T₂₀ (71,8 μm), que corresponden a *B. subtilis* sin sustitución de proteína, seguido del 15% de sustitución con el mismo probiótico y la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis* con el 15% de sustitución de proteína. Las menores tendencias en los datos fueron para T₁₄ (45,1 μm), T₁₂ (48,4 μm) y T₁₁ (50,1 μm), que corresponden a *B. subtilis* con el 15% de inclusión, *Lactobacillus sp* con el 15% y el 10% de sustitución de proteína, respectivamente.

Tabla 4. Morfometría íleon

TRATAMIENTO	VELLOSIDADES		CRIPTAS	
	LARGO μm	ANCHO μm	PROFUNDIDAD μm	ESPESOR μm
1	649,55	75,45	144,2	50,15
2	799,75	81,25	140,55	62,25
3	789,9	77,6	167,15	51,1
4	811,4	76,45	191,1	47,75
5	773,9	59,8	200,5	48,25
6	947,5	81,75	208,85	47,65
7	886,4	87,1	141,2	58,95
8	845,85	71,8	186,7	50,35
9	738,3	83,5	186,55	55,5
10	774,6	75,8	197,45	38,45
11	899,75	68,3	168,75	58,45
12	879,7	61,6	177,6	47,55
13	825,95	63,7	221,75	42,85
14	822,9	75,55	194,8	42,95
15	776,05	66,6	161,2	48,05
16	921,3	90,4	185,75	44,7
17	758,75	68,8	180	44,05
18	644,2	69,2	164,45	38,65
19	699,75	73,3	154,45	47,35
20	924,65	101,5	177,65	47,95

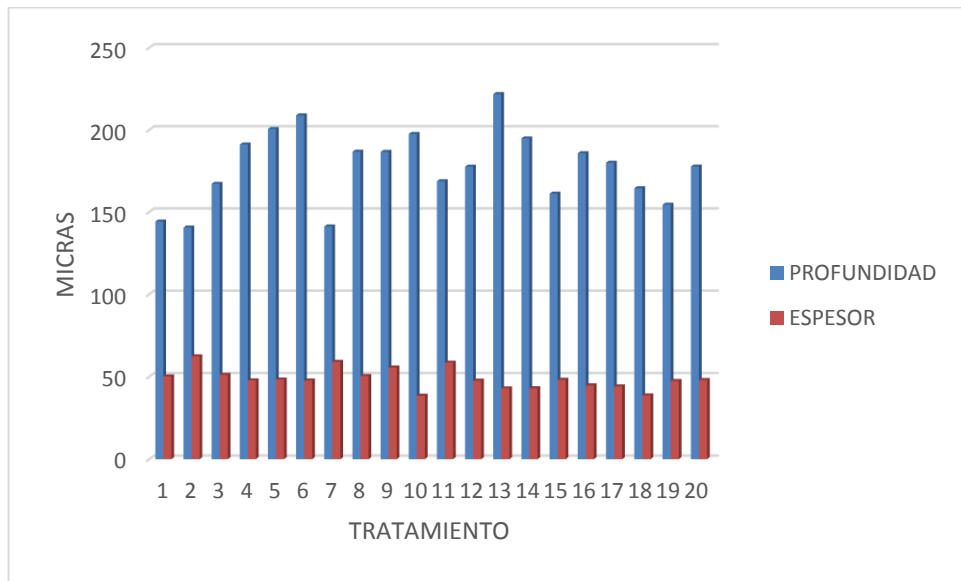
Para el largo de vellosidades en íleon (Gráfica 5), se observó una mejor tendencia en T₆ (947,5 μm), T₂₀ (924,6 μm) y T₁₆ (921,3 μm), correspondientes a *S. cerevisiae* con el 5% de sustitución de proteína, la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis* con el 15% de sustitución de proteína y *B. subtilis* con el 15% de sustitución de proteína. La menor tendencia se observó en los datos de T₁₈ (644,2), T₁ (649,5) y T₁₉ (699,7), que corresponde a la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis* con el 5% de sustitución de proteína, sin probiótico y sin sustitución de proteína y la mezcla de los probióticos con un nivel de sustitución de proteína al 10%.



Gráfica 5. Largo y ancho de vellosidades en íleon

Para el ancho de las vellosidades en íleon (Gráfica 5), se observó una mejor tendencia en los datos de T₂₀ (101,5 μ m), T₁₆ (90,4 μ m) y T₇ (87,1 μ m), correspondientes a la mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis*, *B. subtilis* con sustitución del 15% de proteína y *S. cerevisiae* con el 10% de sustitución de proteína. Las menores tendencia se observaron en los datos de T₅ (59,8 μ m), T₁₂ (61,6 μ m) y T₁₃ (63,7 μ m); que corresponde a *S. cerevisiae* sin sustitución de proteína, *Lactobacillus sp* con sustitución del 15% de proteína y *B. subtilis* sin sustitución de proteína.

En cuanto a la profundidad de las criptas en íleon (Gráfica 6), se observó una mejor tendencia en T₁₃ (221,7), T₆ (208,8) y T₅ (200,5), correspondientes a *B. subtilis* sin sustitución de proteína, *S. cerevisiae* con sustitución del 5% y del 0%, respectivamente. Una menor tendencia se presentó en los datos obtenidos de T₂ (140,5), T₇ (141,2) y T₁ (144,2), que corresponden al tratamiento sin probiótico con el 5% de sustitución de proteína, *S. cerevisiae* con el 10% de sustitución de proteína y al tratamiento sin probiótico y sin sustitución proteica.



Gráfica 6. Profundidad y espesor de criptas en íleon.

En los datos obtenidos para espesor de criptas en íleon se observó una mejor tendencia en T₂ (62,2), T₇ (58,9) y T₁₁ (58,4), correspondientes a tratamiento sin probiótico con 5% de sustitución de proteína, *S. cerevisiae* con el 10% de sustitución de proteína y *Lactobacillus sp* con sustitución del 10% de proteína. Una menor tendencia se observó en T₁₀ (38,4), T₁₈ (38,6) y T₁₃ (42,8), que corresponden a *Lactobacillus sp* con sustitución de proteína del 5%, mezcla de *S. cerevisiae* con *Lactobacillus sp* y *B. subtilis* con una sustitución del 5% de proteína y *B. subtilis* sin sustitución proteica.

6. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos durante la investigación se pudo observar una diferencia entre los tratamientos; ya que las medidas para largo y ancho de vellosidades en los cuales se utilizaron probióticos fueron mayores, presentando un mejor resultado el tratamiento con adición de *Bacillus subtilis* con una sustitución del 5% de proteína con harina de Botón de Oro (*Tithonia diversifolia*) donde las vellosidades duodenales presentaron mayor altura, lo cual fisiológicamente permite una mejor absorción de nutrientes al aumentar la superficie de absorción, reflejado en los parámetros zootécnicos del estudio; coincidiendo con lo reportado por Rodríguez e Ignacio (2012) quienes realizaron un ensayo para evaluar el efecto de la adición en el agua de bebida del probiótico “Lactobac®” en el desarrollo alométrico de las vellosidades duodenales y los parámetros zootécnicos en pollos de engorde, encontrando efectos benéficos en la longitud (largo) y amplitud (ancho) de las vellosidades duodenales en pollos de engorde ayudando en el desarrollo alométrico de las mismas.

En el yeyuno se observó un mejor comportamiento en la altura de las vellosidades con la mezcla de *S. cerevisiae*, *Lactobacillus sp* y *B. subtilis*; los cuales podemos comparar con los resultados obtenidos por Chávez *et al.*, (2016) quienes realizaron un estudio para observar el crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* o *Enterococcus faecium*) en el agua de bebida; donde la inclusión de probióticos, específicamente *E. faecium*, mejoró el peso, desarrollo y crecimiento de órganos de importancia digestiva, específicamente intestino, lo cual se vio reflejado en vellosidades con mayor altura y amplitud, y criptas menos profundas ($p < 0,01$) lo que podría mejorar la absorción de nutrientes y por consiguiente la salud de los animales.

En el íleon, el mejor comportamiento lo presentó *S. cerevisiae* donde esta levadura obtuvo diferencia en la altura de las vellosidades intestinales y en la profundidad de las criptas ayudando así a mejorar la absorción, lo que concuerda con el estudio realizado por Medina *et al* (2015) quienes evaluaron en 210 pollos raza Ross; la morfología intestinal con o sin suministro de biomasa de levaduras donde hallaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en altura de las vellosidades y profundidades de criptas. Aunque la altura de las vellosidades y profundidades de criptas cambiaron solo en algunos casos se le pudo atribuir efectos benéficos a la presencia de levaduras.

7. CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, se puede concluir que el uso de los probióticos administrados de forma individual o en mezcla para la alimentación de pollos de engorde, tiene un efecto positivo, que se ve reflejado en la diferencia morfológica intestinal en duodeno, yeyuno e íleon de los tratamientos experimentales con respecto a los tratamientos control. Ayudando de esta manera a mejorar la absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal de las aves, al ampliar la superficie de absorción de nutrientes proporcionados en la dieta alimenticia, lo cual se ve reflejado de forma positiva en los parámetros zootécnicos de mayor interés para el avicultor (Conversión alimenticia, ganancia de peso diaria, ganancia de peso total e índices de mortalidad).

Este trabajo nos permite concluir que podría considerarse como una opción la inclusión de los probióticos, ya sea en el alimento o en el agua de bebida, al mejorar la productividad, el estado sanitario y la economía del pequeño y mediano productor, permitiéndoles participar de la seguridad alimentaria de la región.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta A, Lon-Wo E, García Y, Dieppa O, Febles M. 2007. Efecto de una mezcla probiótica (*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus rhamnosus*) en el comportamiento productivo, rendimiento en canal e indicadores económicos del pollo de ceba. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Vol 4 pag 355-358.
2. Arce J, Ávila E, López C. 2008. Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*. *Veterinaria México*. Universidad Nacional autónoma de México. Vol. 39 No. 002. pp 223-228.
3. Agostini, P, Oriol S, Nofrarías M, Barroeta C , Gasa J, Manzanilla G. (2012). Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science*, 147(1-3), pp 113–118.
4. Avicol S.A. 2015 Reproductoras Ross 308 Consultado 10-11-2015, disponible en : <http://avicol.co/contenido/productos/hy-line-w36>
5. Aviagen. 2014. Broiler ross 308. Objetivos de rendimiento Manual técnico Consultado 4-11-2015 . disponible en: http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/Ross-308-Broiler-PO-2014-ES.pdf
6. Barrera MH, Rodríguez SP , TorresGV Efectos de la adición de ácido cítrico y un probiótico comercial en el agua de bebida, sobre la morfometría del duodeno y parámetros zootécnicos en pollo de engorde, revista *ORINOQUIA* - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta, Colombia. Vol. 18 - No 2 - Año 2014
7. Bergey D; Holt J. 2009. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Systematic Bacteriology.9 ed. USA.
8. Carcelén F; Torres M; Ara M. 2005. Efecto de probióticos en el alimento de marranas sobre los parámetros productivos de lechones. Revista de *Investigaciones Veterinarias del Perú*, Vol.16 n.2. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php>. Obtenida el 21 Abr 2008.
9. Chambers, J,Gong J, 2011. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. *Food Research International*, 44(10), 3149–3159. doi:10.1016/j.foodres.2011.08.017
10. Chapman, C; Gibson M, Rowland, G. 2011. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains?. *Eur J Nutr.*, 50(1),1-17. doi: 10.1007/s00394-010-0166.
11. Chávez L, López A, Parra J. 2016. Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. *Archivos de zootecnia* vol. 65, núm. 249, p. 51-58.
12. Cuervo M, Gomez C, Romero H; 2002, Efecto de la utilización de un suplemento nutricional hidratado en pollos de engorde recién nacidos. En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol.15, n°3, pp. 319

13. Departamento Nacional de planeación (2007) Agenda interna para la productividad y competitividad, documento regional Meta. Consultado : 2-11-2015 . Disponible en: <http://www.incoder.gov.co/documentos/Estrategia%20de%20Desarrollo%20Rural/Pertiles%20Territoriales/ADR%20Sur%20del%20Cesar/Otra%20Informacion/Agenda%20interna%20Meta.pdf>
14. Errecart V. 2014. Análisis del mercado mundial de carnes. Escuela de economía y negocios, Universidad Nacional de San Martín. CERE
15. Escobar M, Grimaldi A, Rivas L, Ramírez A 2010. determinacion de fuentes de transmision de coccidiosis (*eimeria spp*) en aves de la linea hy line brown desarrolladas en jaula en dos granjas de el paisnal. departamento de san salvador, el salvador. Consultado 10-11-2015, disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/1582/1/13100835.pdf>
16. FAO/WHO. (2006). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. FAO Food and Nutrition paper 85. P. 1 – 33.
17. Federación Nacional de avicultores de Colombia (FENAVI), (2015). Consultado 3-11-2015. Disponible en : http://www.fenavi.org/index.php?option=com_content&view=article&id=2167&Itemid=1172
18. Fondo para el financiamiento del sector agropecuario (FINAGRO) 2013. Avicultura pp-1-19
19. Furlan R, Macari M, Luguetti C, 2010. “Como Avaliar os Efeitos do Uso de Prebióticos Probióticos e Flora de Exclusão Competitiva”. URL:http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais1004_acave_furlan.pdf
20. Gaggia, F., Mattarelli, P, Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141 Suppl , S15–28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031
21. García, A 2007. Importancia de los concentrados de levadura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) en el desempeño productivo y la calidad de la canal de bovinos de engorda. Memorias de XL Seminario Internacional de Actualización Sobre Engorda de Ganado Bovino en Corral. Monterrey, México.
22. Garcia C, Rodriguez Y; 2005, Probioticos una alternativa para mejorar el comportamiento animal, Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 39, No. 2, p 129-140
23. García Y, Elias A, Herrera F 2005. Dinámica microbiana de la fermentación *in vitro* de las excretas de gallinas ponedoras. Revista Cubana Ciencia agrícola. Pag 14-156.

24. Gauthier R, 2008. "La salud intestinal: Clave de la productividad - El caso de los ácidos orgánicos". Consultado 15-10-2015. Disponible en: . URL: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/salud-intestinal-clave-productividadt518/p0.htm>.
25. Gil, F. 2010 Anatomía específica de aves: aspectos funcionales y clínicos. Unidad docente de anatomía y embriología. Facultad de veterinaria. Universidad de Murcia
26. Gómez SR, Angeles LM, Albarrán E, Ávila DF, Varela C, Mojica MC. 2009 Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal – INIFAP. Ajuchitlán, Querétaro. Universidad de Guadalajara, Jalisco México, SynBios SA de CV
27. Gómez V, López C, Maldonado B, Ávila C. 2010 El sistema inmune digestivo en las aves Investigación y Ciencia. Consultado: 13 de noviembre de 2015] Disponible en: <<http://redalyc.org/articulo.oa?id=67413203003>> ISSN 1665-4412
28. Ignatova M, Sredkova V, Marasheva V. 2009 "Effect of Dietary Inclusion of Probiotic on Chickens Performance and Some Blood Indices". Biotech Anim Hus. 2009; 25(5-6): 1079-1085
29. Herrera N, López C 2005 Adición de un probiótico y un ácido orgánico en pollos de engorda. Tesis profesional Universidad veracruzana. México D:F:
30. Huyghebaert, G, Ducatelle R, Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. The Veterinary Journal, 187(2), 182–8. doi:10.1016/j.tvjl.2010.03.003
31. Ingraó, F., Rauw, F., Lambrecht, B, Berg, T. (2013). Infectious Bursal Disease: a complex host-pathogen interaction. Developmental and Comparative Immunology, 41(3), 429–38. doi:10.1016/j.dci.2013.03.017
32. Lastras P. 2009. Probióticos, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, Suplementos nutricionales, Salud BIO, 12 p. Consultado el 18/10/2015 en <http://saludbio.com/articulo/suplementos/probioticos-lactobacillus-acidophilusbifidobacterium-bifidum>
33. Lessard M, 2004. "El uso de probióticos: Potencial de la salud del intestino". URL: Consultado 15-10-2015. Disponible en: http://www.agrireseau.qc.ca/porc/documents/Lessard_Martin.pdf
34. Linares MJ, Peralta MF, Miazzo RD, Nilson AJ. 2010. Efecto de la levadura de cerveza (*s. cerevisiae*) asociada con vitamina E sobre las variables productivas y la calidad de la canal de pollos parrilleros. Sitio Argentino de producción animal. En www.produccion-animal.com.ar 12-11-2015
35. Millán G, Pérez M, Puentes Y, Bocourt R. 2008 "Empleo de probióticos a base de *Bacillus sp* y sus endosporas en la producción avícola". Revista Cubana Ciencias Agropecuarias. ; 42(2): 117-122.
36. Ohimain, E., Ofongo, R. (2012). The Effect of Probiotic and Prebiotic Feed Supplementation on Chicken Health and Gut Microflora: A Review. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2), 135–143.
37. OIE. 2007. Organización mundial de sanidad animal. Sección 2.7. enfermedades aviares de la lista b. Bursitis infecciosa. Capítulo 2.7.1.

38. _____. 2014. Organización mundial de sanidad animal. Manual sobre animales terrestres. Bronquitis infecciosa aviar. Capítulo 2.3.2
39. _____. 2014. Organización mundial de sanidad animal. Manual sobre animales enfermedad de NewCastle. Capítulo 2.3.14.
40. Patel, P, Singh S, Panaich S, Cardozo L. 2014. The aging gut and the role of prebiotics, probiotics, and synbiotics: A review. *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics*, 5(1), 3–6. doi:10.1016/j.jcgg.2013.08.003
41. Pelicano E 2005, Carcass and cut yields and meat qualitative traits of broilers fed diets containing probiotics and prebiotics, *Brasileira de ciencia avícola*, vol 7 no 3, pp.169-175. disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?Script=sci_arttext&pid=S1516-635X2005000300006
42. Peralta, M.F.; Miazzo, R.D.; y Nilson, A. Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) en la alimentación de pollos de carne. 2008 REDVET. Vol. IX, N° 10 Octubre, 6p.
43. Pino A, Dihigo L. E. 2007. Ensayo sobre el efecto de los probióticos en la fisiología animal. Instituto de Ciencia Animal. La Habana.
44. Ravindran V. 2013. Disponibilidad de piensos y nutrición de aves de corral en países en desarrollo. Revisión del desarrollo avícola Primera Ed., pp. 62–66.
45. Rodríguez F, Eliecer J, Alsina S, 2010. Cambios morfológicos en vellosidades intestinales, en pollos de engorde alimentados a partir de los 21 días con una dieta que incluyó el 10% de microorganismos eficientes. *Citecsa* . vol 1. Pag 40-46
46. Rodríguez H, Salazar M, Villalobos E. 2012. *Lactobacillus* spp. del tracto intestinal de *Gallus gallus* con potencial probiótico. *Rebiol*. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú
47. Rodríguez S, Ignacio P 2012 . Evaluación alométrica de las vellosidades duodenales y los parámetros zootécnicos en pollos de engorde al adicionar probiótico (Lactobac®) en el agua de bebida. Fundación Universitaria Juan D Castellanos. Consultado 4-11-2015 . Disponible en: <https://prezi.com/m-3-sekad9mv/paopollos2/>
48. Rubio, J. 2008. Coccidiosis aviar: una actualización a los métodos de control. Laboratorio Hipra S.A. Jornadas profesionales de avicultura. Aranda de Duero. Consultado 11-10-2015 Disponible en www.wpsa-aeca.com.
49. Salvador-Ávalos JM, Contreras D, Prado-Rebolledo OF, Contreras JL, Macedo RJ, García LJ, Morales JE, Téllez IG. 2012. Efecto de un probiótico en pollos de engorda. *Abanico veterinario*. 2(1). Pag 28-31
50. Salvador F, Cruz D. 2009. Nutracéuticos. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia. México D.F.
51. Sarker K, Parque A, Kim G, Chul Y. “Alternativa a los antibióticos para la producción de pollos de engorde”. *Plantas Medicinales de Investigación*. 2010; 4(5): pp 415-420.
52. Sección Técnica, División Aves Investigación Aplicada S.A. de C.V. (IASA). 2008 Coccidiosis aviar. México.

53. Torok, V, Allison G, Percy N, Keller K, Hughes R. 2011. Influence of antimicrobial feed additives on broiler commensal posthatch gut microbiota development and performance. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10), 3380–90. doi:10.1128/AEM.02300-10
54. Torres A, Donoghue AM, Donoghue DJ, Barton JT, Tellez G, Hargis BM. 2007. Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus spp*-Based probiotic. *Poultry Science*. 86:444:446.
55. Wigley, P. (2013). Immunity to bacterial infection in the chicken. *Developmental and Comparative Immunology*, 41(3), 413–7. doi:10.1016/j.dci.2013.04.008
56. WILLIS W, Reid L. 2008. Investigating the effects of dietary probiotic feeding regimens on broiler chicken production and *Campylobacter jejuni* presence. *Poultry Science*.87:606-611