



**Evaluación del potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha
(*Manchurian fungus*) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler**

Lema Paucar, Ana Gabriela

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo al título de Ingeniera en Biotecnología

Msc. Vargas Verdesoto, Rafael Eduardo

18 de agosto del 2020



Document Information

Analyzed document ANA GABRIELA LEMA PAUCAR URKUND.docx (D77836053)
Submitted 6/17/2020 2:42:00 AM
Submitted by
Submitter email revargas@espe.edu.ec
Similarity 1%
Analysis address revargas.espe@analysis.orkund.com

Sources included in the report

W	URL: https://docplayer.es/79096630-Escuela-superior-politecnica-de-chimborazo-facultad- ... Fetched: 12/15/2019 4:36:35 AM	 4
SA	ESCUELA SUPERIOR.docx Document ESCUELA SUPERIOR.docx (D10191921)	 1
W	URL: https://www.researchgate.net/profile/Abel_Guillermo_Rios_Castillo/publication/3218 ... Fetched: 6/8/2020 8:10:40 PM	 1

Firma:



Ing. Vargas Verdesoto, Rafael Eduardo. M. Sc.

DIRECTOR



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "**Evaluación del potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha (*Manchurian fungus*) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler**" fue realizado por la señorita **Lema Paucar, Ana Gabriela** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 18 de agosto de 2020

Firma:

Vargas Verdesoto, Rafael Eduardo

C.C.: 1708200538



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Lema Paucar, Ana Gabriela** con cédula de ciudadanía n° 1724984438, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **Evaluación del potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha (*Manchurian fungus*) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 18 de agosto de 2020

Firma:

Lema Paucar, Ana Gabriela

C.C.: 1724984438



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **Lema Paucar Ana Gabriela**, con cédula de ciudadanía n° 1724984438, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Título: Evaluación del potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha (*Manchurian fungus*) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 18 de agosto de 2020

Firma:

.....
Lema Paucar, Ana Gabriela

C.C.: 1724984438

Dedicatoria

Principalmente a Dios porque me acompaño cada día en este largo camino, puede sentir su amor y gracia al despertar cada día, en los momentos de debilidad su fuerza y su paz me levantaron y me ayudaron a seguir.

A mis padres por su amor, su apoyo y su ejemplo de perseverancia y valentía; a mis hermanos por demostrarme que con esfuerzo y dedicación se logran conseguir las metas planteadas y a mis abuelitos por su amor incondicional.

Ana Gabriela Lema Paucar

Agradecimientos

A Dios por su infinito amor y misericordia, por renovar mis fuerzas, darme de su sabiduría, cumplir los anhelos de mi corazón y enviar personas que fueron de gran bendición en este camino.

A mi familia por su gran amor, apoyo, palabras de aliento y oraciones; a mis tías por su cariño y consejos y a mis abuelitos por su amor y cuidado.

A Bryan, por ser un complemento en mi vida, quien me acompañó en los tiempos difíciles y nunca dejó de creer en mí, por alentarme a seguir luchando y no darme por vencida, y por enseñarme a ser esforzada y valiente, como lo es él.

A mis amigos Euni, Mairy, Jynna y Alex porque en tiempos de angustia fueron como hermanos. Gracias por su sabio consejo, por cuidarme y por sus oraciones que permitieron que cumpla esta meta.

A mis maestros por sus palabras de ánimo y su ayuda oportuna, y a mis amigas Andre, Mela, Pao y Sasha con quienes he compartido momentos de tristeza y alegría.

A los Ingenieros Rafael Vargas y Karina Ponce por confiar en mí y darme la oportunidad de aprender y crecer en mis conocimientos profesionales. Además de guiarme y apoyarme para que culmine con éxito esta etapa de mi vida.

***“Encomienda a Jehová tu camino,
Y confía en él; y él hará.”***

Salmo 37:5

Ana Gabriela Lema Paucar

Índice de Contenidos

Evaluación del potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha (<i>Manchurian fungus</i>) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler.....	1
Hoja de resultados de la herramienta Urkund.....	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos	7
Índice de Contenidos	8
Índice de Tablas	12
Índice de Figuras.....	13
Listado de Abreviaturas.....	14
Resumen	15
Abstract.....	16
Introducción.....	17
Antecedentes.....	17
Planteamiento del problema	19
Justificación del problema.....	21

Objetivos.....	23
Objetivo General	23
Objetivos Específicos	23
Marco Teórico.....	24
Suplementos alimenticios	24
Clasificación	24
Beneficios.....	25
Mercado global de suplementos	26
Probióticos.....	27
Aspectos microbiológicos	29
Características	30
Mecanismos de acción	30
Beneficios para la salud	32
Mercado global de probióticos.....	33
Kéfir	34
Granos de Kéfir	36
Producción de la bebida de Kéfir.....	37
Aspecto microbiológico.....	38
Actividad antimicrobiana.....	40
Efecto gastrointestinal	41

	10
Marco Legal	41
Kombucha.....	42
Biopelícula de celulosa.....	43
Preparación de la bebida de Kombucha	45
Aspecto microbiológico.....	46
Efecto antimicrobiano	49
Propiedades y beneficios de la Kombucha	50
Pollo de engorde.....	50
Parámetros de rendimiento:	53
Fisiología gastrointestinal	53
Intestino delgado.	56
Ciego.....	57
Aspectos microbiológicos del tracto gastrointestinal	57
Enteropatógenos avícolas	58
Materiales y Métodos	59
Cultivo de Kéfir y Kombucha.....	59
Caracterización fisicoquímica y microbiológica de Kombucha y Kéfir.....	60
pH	60
Sólidos solubles	60
Densidad	60

	11
Parámetros microbiológicos	60
Crianza de pollos Broiler	62
Instalaciones	63
Manejo	63
Recuento de la población microbiana intestinal	65
Análisis Estadístico	66
Resultados	67
Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de Kombucha y Kéfir	67
Parámetros de rendimiento	68
Características físicas y microbiológicas del intestino	75
Discusión	78
Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de Kombucha y Kéfir	78
Parámetros de rendimiento	80
Características físicas y microbiológicas del intestino	83
Conclusiones	85
Recomendaciones	86
Bibliografía	87
Anexos	110

Índice de Tablas

Tabla 1 Composición química de la bebida de Kéfir.....	35
Tabla 2 Población microbiana de la bebida de Kéfir.....	39
Tabla 3 Requisitos microbiológicos en leche fermentada.....	41
Tabla 4 Composición química de la bebida de Kombucha.....	43
Tabla 5 Población microbiana de la bebida de Kombucha.....	47
Tabla 6 Requisitos microbiológicos para alimentos zootécnicos NTE INEN 1829.....	62
Tabla 7 Análisis nutricional del balanceado proporcionado a las aves.....	64
Tabla 8 Análisis fisicoquímico y microbiológico de las bebidas fermentadas.....	67
Tabla 9 Requisitos microbiológicos para alimentos zootécnicos de aves.....	68
Tabla 10 Análisis de los pesos (g) registrados a los 14, 28 y 42 días.....	68
Tabla 11 Análisis de los datos correspondientes al consumo de alimento (g/d).....	70
Tabla 12 Índice de conversión alimenticio (g/g) obtenido por cada tratamiento.....	71
Tabla 13 Ingesta de agua (mL/d) durante un período de 42 días.....	72
Tabla 14 Análisis del Índice de rendimiento (mL/d) de los pollos de engorde.....	74
Tabla 15 Características físicas del intestino delgado de los pollos de engorde.....	75
Tabla 16 Recuento de bacterias ácido lácticas y coliformes del intestino delgado y ciego.....	76

Índice de Figuras

Figura 1 Características de los probióticos	30
Figura 2 Mercado mundial de probióticos del año 2019.....	34
Figura 3 Gránulo de Kéfir.....	36
Figura 4 Aspecto físico del hongo de Kombucha	44
Figura 5 Rutas metabólicas de los microorganismos	48
Figura 6 Sistema gastrointestinal de pollos Broiler	55
Figura 7 Comportamiento en el tiempo de la ganancia de peso corporal.....	69
Figura 8 Ingesta de alimento durante los diferentes períodos de experimentación	70
Figura 9 Índice de conversión alimenticio a los 1-14,15-28 y 29-42 días	72
Figura 10 Datos de la ingesta de agua a los 1-14, 15-28 y 29-42 días.....	73
Figura 11 Datos del índice de rendimiento al finalizar el tiempo de experimentación....	74
Figura 12 Longitud del intestino de las aves sacrificadas.....	75
Figura 13 Peso del intestino de las aves sacrificadas	76
Figura 14 Recuento de bacterias ácido lácticas presentes en el contenido intestinal....	77
Figura 15 Recuento de coliformes presentes en el contenido intestinal.....	77

Listado de Abreviaturas

pH	Potencial de Hidrógeno
Kg	Kilogramos
g	gramos
mL	Mililitros
g/d	Gramos por día
mL/d	Mililitros por día
g/g	Gramos de peso vivo por gramos de alimento consumido
μL	Microlitros
°C	Grados centígrados
ICA	Índice de conversión alimenticio
IR	Índice de Rendimiento
spp.	Especies
CO ₂	Dióxido de Carbono
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación
OMS	Organización Mundial de la Salud
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización

Resumen

La crianza de pollos es una actividad económica predominante por su alta demanda; sin embargo, el empleo de antibióticos como promotores de crecimiento ha generado efectos adversos en la salud del consumidor, siendo una alternativa natural, el uso de probióticos, al mostrar buenos resultados en el crecimiento de las aves. Por lo tanto, se suministró a 50 pollos Broiler en el agua potable, diferentes concentraciones de bebidas probióticas, estableciéndose cinco tratamientos: T1 o control, sin suplementación; T2 con suplementación de 2% de Kéfir, T3 con suplementación de 4% de kéfir; T4 con suplementación de 2% de Kombucha y T5 con suplementación de 4% de Kombucha, durante un periodo de 42 días. Teniendo como resultado que el mayor aumento de peso, consumo de alimento y agua lo obtuvieron las aves tratadas con 4% de Kéfir. En cuanto a los efectos en la salud intestinal, se realizó el recuento de Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y Coliformes presentes en el intestino delgado y ciego, siendo los tratamientos de Kéfir 4% (5.51 log UFC/mL), Kombucha 2% (5.44 log UFC/mL) y Kéfir 2% (5.40 log UFC/mL) quienes alcanzaron los mayores recuentos de BAL, mientras que en la población de bacterias Coliformes no se hallaron diferencias significativas. Además, se midieron las características físicas del intestino, donde el tratamiento Kéfir 2% mostro el mayor peso (69 g) y longitud (1,81 m).

PALABRAS CLAVES:

- **PROBIÓTICOS**
- **KÉFIR**
- **KOMBUCHA**
- **POLLOS DE ENGORDE**

Abstract

Chicken breeding is a predominant economic activity due to its high demand; however, the use of antibiotics as growth promoters has generated adverse effects on the consumer's health, being a natural alternative, the use of probiotics, showing good results in the birds' growth. Therefore, fifty-one-day-old chickens were given different concentrations of fermented beverage in drinking water, establishing five treatments: T1 or control, without supplementation; T2 with 2% kefir supplementation, T3 with 4% kefir supplementation; T4 with 2% Kombucha supplementation and T5 with 4% Kombucha supplementation, for a period of 42 days. As a result, the highest weight gain, feed and water consumption was obtained by birds treated with 4% Kefir. Regarding the effects on intestinal health, lactic acid bacteria (LAB) and coliforms present in the small and cecum intestines were counted, being the treatments of Kefir 4% (5.51 log CFU / mL), Kombucha 2% (5.44 log CFU / mL) and Kefir 2% (5.40 log CFU / mL) which reached the highest BAL counts, while in the population of coliform bacteria no significant differences were found. In addition, the physical characteristics of the intestine were measured, where the 2% Kefir treatment showed the greatest weight (69 g) and length (1.81 m).

KEYWORDS:

- **PROBIOTICS**
- **KÉFIR**
- **KOMBUCHA**
- **BROILER**

Introducción

Antecedentes

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2006) definen a los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped”. En la actualidad son una alternativa segura y viable para aumentar el rendimiento de los animales, debido a su capacidad para modular la microbiota intestinal, mejorar la digestibilidad de los nutrientes, inhibir la proliferación de patógenos y potenciar el sistema inmunitario (Alayande et al., 2020).

Se conoce que las bebidas fermentadas presentan un alto efecto probiótico en la salud gastrointestinal del huésped, al contener cepas probióticas, metabolitos derivados de la fermentación, como péptidos bioactivos y poliaminas, vitaminas y prebióticos. Entre las bebidas fermentadas más conocidas se encuentra el Kéfir, que contiene un consorcio microbiano de bacterias ácido lácticas (en su mayoría), ácido acéticas y levaduras con efectos positivos en el rendimiento de animales de granja (Dimidi et al., 2019) Con respecto a los pollos de engorde se ha realizado diferentes investigados como la de Ghasemi-Sadabadi et al. (2019) quienes compararon los efectos del Kéfir, yogurt y un probiótico comercial (PrimaLac) en el rendimiento, características del canal, parámetros sanguíneos y población microbiana intestinal en pollos de engorde; los tratamientos se administraron en el agua de bebida, teniendo como resultado que el Kéfir (2% y 4%), yogurt (4%) y probiótico mejoró el aumento de peso corporal, ingesta de alimento y la relación de conversión alimenticia; en cuanto a la población microbiana, existió un mayor recuento intestinal de lactobacilos y un menor recuento de bacterias coliformes; también, se reportó que el uso del 4% de Kéfir tuvo efecto en la longitud

intestinal, el rendimiento del canal y la grasa abdominal en pollos machos y hembras. En un estudio similar, Toghiani et al. (2015) comparó el efecto del uso del 2% de Kéfir de leche, 2% de Kéfir de agua y un probiótico comercial, proporcionados en el agua de bebida de pollos de engorde durante 42 días; los resultados revelaron un efecto significativo del Kéfir de leche en la ganancia de peso corporal a los 28-42 días de edad y en la longitud del intestino y la ceca, que fue menor que el control. Lo que concuerda con los hallazgos de Cenesiz et al. (2008) quien investigó los efectos de diferentes cantidades de Kéfir en el agua de bebida de pollos de engorde. Al final de los 42 días de experimentación se obtuvo que los grupos tratados con Kéfir al 5% y 7.5% alcanzaron un mayor peso vivo en comparación con el control, además de disminuir el colesterol y los lípidos totales.

Otra bebida fermentada que ha presentado efectos positivos en el crecimiento de pollos de engorde, es el té de Kombucha debido al consorcio simbiótico de bacterias ácido acéticas (en mayor porcentaje), ácido lácticas y levaduras que posee. Afsharmanesh & Sadaghi (2014) estudiaron los efectos del té de Kombucha, té verde en polvo y un probiótico comercial en el crecimiento de pollos de engorde, suministrando cada tratamiento como una dieta húmeda. Como resultado se encontró que la inclusión de Kombucha produjo un aumento en la ingesta de alimento y el peso corporal ($p < 0.05$) en comparación con los pollos de engorde alimentos con té verde y el control, lo que estaría asociado a una mejor digestibilidad de proteínas. Por otro lado, también se han encontrado resultados positivos al suplementar el hongo de Kombucha (150 g/Kg) en la dieta de las aves, mejorando el peso corporal, consumo de alimento y eficiencia de rendimiento (Murugesan et al., 2005).

Con estos antecedentes, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto probiótico de Kombucha y Kéfir en el crecimiento y salud intestinal de pollos de engorde.

Planteamiento del problema

La crianza de pollos a nivel mundial es considerada una herramienta clave para la seguridad alimentaria de la nación (Universidad de Michigan, 2018). En Ecuador, existen alrededor de 1819 granjas avícolas que generan un ingreso bruto de \$ 1272 millones cada año, constituyendo el 18% del Producto Interno Bruto (PIB) agropecuario y 2% del PIB total (López, 2020). Solo en 2019, el sector avícola produjo 525 mil millones de toneladas de carne de pollo, estimando un consumo per cápita de 30 kg; en los siguientes años se espera que la industria avícola aumente impulsada por el crecimiento de la población (El Herald, 2020). Para Prabakaran (2003) la alta demanda de carne de pollo se debe a su costo económico, rápida preparación y propiedades nutricionales, como su alto contenido de proteína y bajo aporte de calorías.

Con el fin de aumentar la producción de carne y las ganancias, los avicultores optan por la utilización de antibióticos, debido a que mejoran la conversión alimenticia, tasa de crecimiento, previenen enfermedades y reducen la mortalidad (Sabo et al., 2020). Actualmente, evidencia científica sugiere que el uso masivo de estos compuestos ha provocado diferentes efectos adversos para el hombre y medio ambiente (Mehdi et al., 2018).

La administración constante de antibióticos deja residuos en la carne de las aves, que al ser consumida por los seres humanos producen afecciones en su salud; por ejemplo, las tetraciclinas pueden interferir con el desarrollo de los dientes en

infantes y el clenbuterol puede ocasionar intoxicación alimentaria, temblores musculares, palpitaciones y taquicardia (Kümmerer, 2009). Además, de biorresistencia (Mehdi et al., 2018) como también reportó Braykov et al. (2016) en su estudio realizado en aves de producción en Ecuador, donde detectó resistencia a la tetraciclina en el 78% de los aislamientos, al sulfisoxazol en el 69% y al trimetoprim-sulfametoxazol en el 63%. A nivel mundial cada año cerca de 70000 personas mueren por infecciones a causa de resistencia a productos antimicrobianos (Zambrano, 2019) y se estima que para el 2050 si no se toman las acciones necesarias, la cifra ascenderá a 10 millones, convirtiéndose en la principal causa de muerte a nivel global, superando el cáncer y otras enfermedades crónicas transmisibles (Kukso, 2016).

Se ha reportado que del 30% al 90% del antibiótico administrado es excretado en la orina y heces de los animales, que al ser eliminados a las aguas residuales contaminan ríos u otros cuerpos de agua (Carvalho & Santos, 2016). Además, algunos agricultores suelen usar las heces como abono, contaminando el suelo, ya que dependiendo de las características fisicoquímicas del antibiótico, unos persistirán en la superficie, como la norfloxina y tetraciclina, y otros como la sulfametazina y eritromicina se infiltrarán con las lluvias en el subsuelo o las aguas subterráneas (Mehdi et al., 2018). También se ha reportado bacterias biorresistentes en el aire de granjas de engorde, provocando la propagación de enfermedades epidémicas (Vela et al., 2012).

De acuerdo con Liguoro et al. (2003) la biotransformación y biodegradación de antibióticos puede tomar hasta 150 días; además, los subproductos que se originan pueden ser más tóxicos y móviles. Lo mismo sucede con las bacterias resistentes que pueden persistir durante varias semanas en la granja de pollos, contaminando las nuevas parvadas (Mehdi et al., 2018).

Para contrarrestar el impacto producido por el abuso de antibióticos, la Organización Mundial de la Salud junto con diferentes países, desarrolló un Plan de Acción Global que incluye leyes que limitan el uso de antibióticos en la producción de animales de consumo humano (Landy & Kavyani, 2013). En 2015, Ecuador se une a esta lucha formando un grupo de investigación multidisciplinario conformado por delegados de los sectores de Agricultura, Ganadería, Acuicultura, Pesca, Educación, Ambiente y Salud, para establecer un plan nacional contra la resistencia a antibióticos que se termina de desarrollar en el 2018 (Organización Panamericana de la Salud-Ecuador, 2019). En base a estos lineamientos, Agrocalidad emite una resolución que “prohíbe la fabricación, formulación, importación, comercialización, registro y uso de productos que contengan el ingrediente activo colistina (polimixina E) de uso veterinario, debido a que representa un grave riesgo para la salud pública, al ser un antibiótico de uso restringido en medicina humana”. Esta entidad también ha iniciado la vigilancia y control de resistencia a antimicrobianos a escala nacional (Agrocalidad, 2019).

Justificación del problema

El constante abuso de antibióticos en la producción de pollos de engorde por la falta de conocimiento o el mal asesoramiento de los avicultores ha originado que granjas avícolas queden al borde de la quiebra y aún lleguen a fracasar, en la mayoría de casos, la administración de antibióticos se realiza desde que el pollito llega a la granja, para contrarrestar el estrés del transporte, hasta que obtiene un peso comercial, evitando deficiencias alimenticias o enfermedades patogénicas (Villagómez, 2018). La situación se agrava por la implementación de dosis de antibióticos en los alimentos para animales con el fin de obtener mejores resultados que conducen a una mayor venta y por ende mayores ganancias para este segmento de la industria (Productor Agropecuario, 2017).

Como consecuencia existe un rápido aumento de cepas bacterianas resistentes a múltiples antibióticos o superbacterias, que afectan mortalmente a los animales y seres humanos (Espinoza et al., 2019), siendo obligatorio el desarrollo e implementación de leyes regulatorias que controlen la disponibilidad y utilización de antimicrobianos; generando el desarrollo de un gran número de investigaciones con interés comercial en el área vegetal y microbiología (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2016).

Las alternativas más estudiadas son los prebióticos, probióticos y simbióticos debido a sus buenos resultados al mejorar la disponibilidad y digestibilidad de los nutrientes (Pineda et al., 2019), producir una baja tasa de mortalidad, un buen nivel de rendimiento, preservar el medio ambiente y la salud del consumidor (Mehdi et al., 2018). Entre estos, los más populares son los productos probióticos que contienen microorganismos benéficos con potencial (Afsharmanesh & Sadaghi, 2014) para producir perfiles nutricionales superiores, promover efectos positivos en la microflora intestinal y mejorar la respuesta inmunitaria, reduciendo la colonización de patógenos entéricos (Mahrose et al., 2019).

Entre los probióticos naturales se encuentran el kéfir y la Kombucha, cuyo potencial probiótico ha sido comprobado por diferentes estudios como los de Chifiriuc et al. (2011) y Dimidi et al. (2019) en los que se observó la competitividad e inhibición de los siguientes patógenos: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Candida albicans*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, entre otros; siendo las dos primeras especies las que comúnmente atacan a las aves de corral, causando su muerte y produciendo pérdidas económicas.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el potencial probiótico de un suplemento alimenticio de Kombucha (Manchurian fungus) y Kéfir en la tasa de crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler.

Objetivos Específicos

- Estandarizar el tiempo de fermentación y pH del suplemento alimenticio elaborado a partir de Kombucha y Kéfir.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos: pH, sólidos solubles (°Brix), densidad (g/mL) y microbiológicos de los suplementos alimenticios.
- Calcular el índice de conversión alimenticia y rendimiento de los pollos Broiler al adicionar a su dieta diaria, el suplemento alimenticio de kéfir y Kombucha por 42 días.
- Evaluar el efecto probiótico de Kombucha y Kéfir en la salud intestinal de pollos Broiler mediante la caracterización (peso y longitud) del intestino delgado y el recuento e identificación de microorganismos ácido lácticos y coliformes presentes en el intestino delgado y ciego.

Marco Teórico

Suplementos alimenticios

La Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARSCA, 2018) en la Normativa Sanitaria para control de suplementos alimenticios, resolución 28, menciona que “los suplementos son productos alimenticios no convencionales destinados a complementar la ingesta diaria de una persona sana mediante la incorporación de nutrientes en concentraciones que no generen indicaciones terapéuticas. Como vitaminas, proteínas, ácidos grasos esenciales, plantas, probióticos y otros componentes permitidos” (pág. 11).

“Los suplementos alimenticios se pueden comercializar en formas sólidas (comprimidos, cápsulas, granulados, polvos u otras), semisólidas (jaleas, geles u otras), líquidas (gotas, solución, jarabes) u otras formas de absorción gastrointestinal” (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2016, pág 6).

El uso de suplementos alimenticios dependerá del tipo de animal, edad, estado fisiológico, nivel de explotación (CORPOICA, 2007).

Clasificación

Chicaiza (2014) y Serrano et al. (2018) clasifican los suplementos alimenticios de acuerdo al tipo de nutriente que se utiliza para su producción.

- **Nutrientes naturales:** De origen animal, vegetal y mineral que tras el procesamiento mantienen su estructura y función, entre estos están el aceite de hígado de pescado, ajo, minerales, entre otros.

- **Nutrientes de origen natural:** Son aquellos que provienen de fuentes naturales, pero son expuestos a procesos de refinamiento antes de ser utilizados, como vitaminas A, D y E.
- **Nutrientes iguales a los naturales:** Son elaborados de forma industrial debido a que de forma natural su obtención sería costosa y no existiría suficiente cantidad. El producto final posee características idénticas a los nutrientes naturales, ejemplo la vitamina C y B.
- **Nutrientes sintéticos:** Elaborados aplicando distintos procesos industriales, producen efectos similares a los naturales, pero tienen diferente estructura, como la vitamina E.
- **Nutrientes obtenidos de levaduras:** Se realiza el cultivo en medios enriquecidos con determinados minerales y vitaminas para que puedan ser asimilados y producidos por las levaduras.

Beneficios

Ferrari (2016) menciona que los suplementos alimenticios se utilizan en el área de producción animal con la finalidad de obtener los siguientes beneficios.

- **Incremento de la ganancia de peso:** Al proporcionar suplementos alimenticios se logra cubrir de forma completa los requerimientos nutricionales de los animales, lo que permite un crecimiento normal y saludable.
- **Prevención de enfermedades:** La adición de un suplemento contribuye al fortalecimiento del sistema inmune y a la mitigación de déficit nutricionales, disminuyendo la susceptibilidad a diferentes enfermedades; por ejemplo, diarreas o deficiencias minerales.

- **Disminución del efecto de condiciones de estrés:** Se conoce que durante la cría del animal, este es sometido a diferentes prácticas que provocan depresión, ansiedad, miedo, entre otros factores. Lo que produce una baja en las defensas e incluso la muerte, dejando grandes pérdidas económicas.

Mercado global de suplementos

A nivel mundial, el mercado de suplementos para animales está en crecimiento debido a la alta demanda en la producción de aves, cerdos, acuicultura y otros animales para el consumo y las normas regulatorias establecidas por los gobiernos regionales para proteger la salud del consumidor (Market Research Future, 2020). El tamaño del mercado global de suplementos alimenticios se estimó en \$123.38 mil millones en 2019 alcanzando más de \$30 mil millones los suplementos para animales (Mordor Intelligence, 2019).

La región líder en el mercado con 41% de participación es Asia-Pacífico, siendo China el país con mayor crecimiento por la industria cárnica; en segundo lugar, con el 25% de participación se encuentra América del Norte con Estados Unidos a la cabeza por sus leyes regulatorias; en el caso de América Latina el país con mayor crecimiento es Brasil al existir una creciente demanda de carne porcina y avícola (Market Research Future, 2020).

Y finalmente, la preferencia del mercado se inclina por los suplementos alimenticios en polvo seguido de la presentación líquida (Market Research Future, 2020).

Probióticos

El término probiótico proviene de las palabras griegas “pro” y “biótico” que significa “para la vida”, a lo largo de la historia ha tenido diversas definiciones. En 1906, Tessier un pediatra francés observó que la microbiota intestinal de los lactantes que no sufrían diarreas estaba dominada por bastones con forma de Y, denominados luego como bifidobacterias, a los cuales atribuyó la buena salud de los lactantes (Kechagia et al., 2013). Pero, fue Vergin en 1940 quien introdujo por primera vez el término probiótico cuando estudiaba los efectos perjudiciales de los antibióticos y otras sustancias microbianas en la población de microflora intestinal, observando que los probióticos fueron favorables. En 1960, Lilly y Stillwell plantean a los probióticos, como una sustancia producida por microorganismos que estimula el crecimiento de otros microorganismos (Pandey et al., 2015). En 1989 el concepto es redefinido por Fuller que describe a “los probióticos como suplementos alimenticios microbianos vivos que afectan benéficamente al huésped mejorando el equilibrio microbiano” (Food and Agriculture Organization [FAO] & World Health Organization [WHO], 2006; Kechagia et al., 2013). En 1992, Havennar y Huis extienden el concepto, refiriéndose a los probióticos como un “cultivo único o mixto de bacterias vivas que, cuando se aplica al animal o al hombre, afecta beneficiosamente al huésped mejorando las propiedades de la flora indígena” (FAO & WHO, 2006). En la actualidad se utiliza mundialmente la definición dada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) que redefinen a los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped” (Cheng et al., 2020; FAO & WHO, 2006; Kechagia et al., 2013; Sanders, 2008).

En cuanto al uso de probióticos en animales de granjas, no fue hasta 1960, año donde se demuestra por primera vez que la bacteria *Lactobacillus* podía estimular significativamente el crecimiento de cerdos (Agazzi, 2015).

Los probióticos se han consumido durante siglos, ya sea como componentes naturales de los alimentos o en fermentados; el interés en el uso dietético de probióticos y su efecto en la microbiología intestinal floreció a finales de 1800 y principios de 1900, pero no fue hasta el desarrollo de estudios *in vivo* e *in vitro* donde se demostró que la microbiota intestinal comensal inhibe los patógenos, confirmando que la adición de probióticos aumenta la resistencia a infecciones (Patterson & Burkholder, 2003).

En la actualidad, la gama de productos alimenticios que contienen cepas probióticas es amplia y sigue creciendo; los principales productos existentes en el mercado son los lácteos, donde se incluyen las leches fermentadas, queso, helado, suero de leche, leche en polvo y yogures; en menor cantidad se encuentran los alimentos no lácteos a base de soya, barras nutritivas, cereales y una variedad de jugos; estos productos evolucionan continuamente, como resultado de los avances de la tecnología alimentaria y la creciente demanda (Kechagia et al., 2013).

En su mayoría, los probióticos se administran por vía oral (Rainard & Foucras, 2018) y se aconseja consumir un total de 10^8 a 10^9 microorganismos viables diariamente para obtener un efecto en la salud. En cuanto al producto final debe contener una concentración mínima de 10^6 UFC/mL o gramo (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2011a; Kechagia et al., 2013). Además, Kechagia et al. (2013) mencionan que la viabilidad de los microorganismos es un requisito para la funcionalidad de los probióticos, ya que, potencia mecanismos, como la adherencia, reducción de la permeabilidad intestinal y la inmunomodulación. Sin embargo, ciertos

estudios han demostrado que incluso la pared celular de algunas bacterias probióticas o el ADN pueden tener efectos significativos en la salud (Rainard & Foucras, 2018).

Aspectos microbiológicos

Los microorganismos probióticos utilizados habitualmente en la industria alimentaria, farmacéutica y veterinaria pertenecen al grupo de bacterias ácido lácticas (BAL) debido a que son consideradas por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos, como microorganismos seguros (Sabo et al., 2020). Son bacterias Gram positivas, catalasa negativa y auxotróficas (Kechagia et al., 2013) adaptadas a ambientes ricos en nutrientes como lácteos, frutas y productos alimenticios a base de vegetales (Koh et al., 2018), en los que pueden crecer rápidamente y alcanzar altas concentraciones. Deben su nombre a que durante la fermentación hidrolizan los carbohidratos produciendo ácido láctico, los géneros más conocidos son *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* (Rainard & Foucras, 2018).

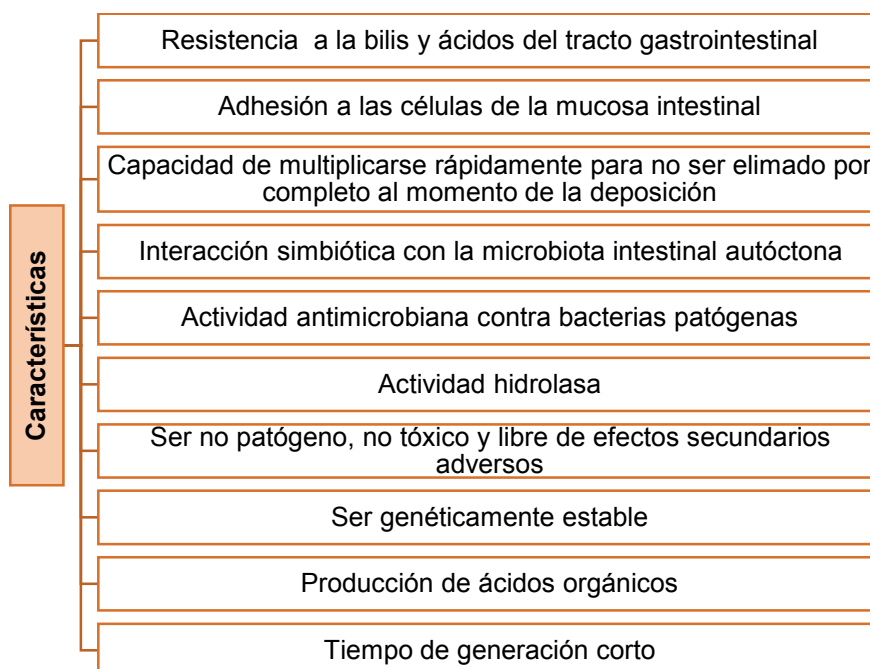
El mercado mundial de probióticos según el tipo de ingredientes se divide en bacterias y levaduras. Las bacterias probióticas incluyen *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli* cepa Nissle 1917, *Enterococcus faecium* SF68, bifidobacterias y las levaduras *Saccharomyces boulardii* (Ballou et al., 2019). Los formadores de esporas bacterianas, en su mayoría del género *Bacillus*, dominan la escena, estos probióticos se agregan a los alimentos, particularmente a los productos lácteos fermentados (Pandey et al., 2015).

Características

La FAO / OMS han definido algunas características que deben poseer los probióticos para que puedan ser aprovechados sus efectos benéficos.

Figura 1

Características de los probióticos



Nota. Listado de características que verifican que un producto tenga efectos probióticos (FAO & WHO, 2006; Kechagia et al., 2013; Pandey et al., 2015; Sabo et al., 2020).

Mecanismos de acción

Exclusión competitiva, donde se establece una competencia entre las bacterias probióticas y los posibles patógenos por un espacio en el epitelio intestinal, así como por los nutrientes que permiten el crecimiento bacteriano y la adherencia al epitelio; cuantas más bacterias benéficas colonicen la mucosa, menor será la cantidad de

bacterias patógenas causantes de enfermedades entéricas como *Cryptosporidium*, *Eimeria*, rotavirus y coronavirus (Ballou et al., 2019).

Disminución del pH del tracto gastrointestinal (TGI) que se producirá por la secreción de diferentes ácidos orgánicos en su mayoría ácido láctico y ácido acético, por parte de las bacterias benéficas que colonizan el intestino; el ambiente ácido evita la presencia de bacterias patógenas (Ballou et al., 2019).

Modulación del sistema inmune de la mucosa, a través de la interacción con monocitos, macrófagos, células dendríticas (Rainard & Foucras, 2018), inducción de la fagocitosis, secreción de Ig A, modificación de las respuestas de células T (Kechagia et al., 2013). Las respuestas inmunitarias generadas en un lugar de la mucosa pueden transferirse a otras superficies a través del tráfico y la recirculación de leucocitos efectores y de memoria (Ballou et al., 2019).

Potenciación de la barrera epitelial, al colonizar el epitelio sirviendo como un escudo de protección, mejorar el grosor de la capa de mucosa mediante la estimulación de células caliciformes secretoras de mucina, renovar las células epiteliales e inducir la producción de péptidos antimicrobianos, como defensinas y catelicidinas (Rainard & Foucras, 2018).

Producción de compuestos antimicrobianos, como ácido láctico, ácidos grasos de cadena corta, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico, reuterina, bacteriocinas (péptidos) y bacteriolisinas (proteínas) que inhiben las bacterias patógenas (Rainard & Foucras, 2018). En general las bacteriocinas y las bacteriolisinas son producidas en los ribosomas bacterianos y exportados al medio extracelular (Sabo et al., 2020) para obtener una ventaja competitiva sobre otros taxones que ocupan el mismo nicho. Son

de gran interés porque pueden contribuir con la calidad y seguridad de los alimentos al conservarlos y protegerlos de patógenos (Leech et al., 2020). En cuanto a los ácidos orgánicos la actividad antimicrobiana se basa en su difusión a través de la membrana de bacterias lipofílicas causando una disminución en el pH del citoplasma, interrupción de reacciones enzimáticas y del sistema de transporte (Mehdi et al., 2018).

Degradación de toxinas, micotoxinas y bloqueo de sus receptores, mediante la secreción de enzimas y ácidos orgánicos, como ácido láctico, ácido acético y ácido butírico, protegiendo al huésped contra graves diarreas (Agazzi, 2015; Pandey et al., 2015).

Mejora de la digestibilidad, al producir ácidos orgánicos y secretar enzimas exógenas que ayudan a la degradación de proteínas poco digeribles que en condiciones normales tardan en fermentarse produciendo amoníaco, ácidos grasos de cadenas ramificadas, ácido graso volátiles y gases (hidrógeno, dióxido de carbono y metano) algunos de los cuales pueden tener efectos adversos en el rendimiento del crecimiento (Mehdi et al., 2018).

Interferencia en la absorción de colesterol en el intestino y producción de productos de fermentación final que afectan los niveles sistémicos de lípidos en sangre, produciendo un efecto antihipertensivo (Kechagia et al., 2013).

Beneficios para la salud

- Mantienen el equilibrio del ecosistema intestinal (Zhou et al., 2020) al secretar enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas y sustancias antibacterianas, previniendo o tratando enfermedades entéricas (Afsharmanesh & Sadaghi, 2014).

- Restablecen el estado normal de la microflora después de una perturbación por el uso de antibióticos o enfermedades (Sanders, 2008).
- Mejoran el proceso de fermentación y utilización de nutrientes mediante la producción de enzimas y ácidos orgánicos, lo que origina un incremento en la ingesta de alimento y el crecimiento (Ballou et al., 2019).
- Reducen el colesterol en suero y controlan la presión arterial (Kechagia et al., 2013).
- Diferentes estudios realizados con aves de corral han demostrado beneficios sobre el crecimiento, eficiencia alimentaria y producción de huevos, por lo que, pueden ser usados como promotores de crecimiento naturales (Zulkifli et al., 2000). También se han visto efectos positivos en la calidad de la carne, como la mejora del color, perfil de ácidos grasos, composición química, capacidad de retención de agua y estabilidad a la oxidación (Mehdi et al., 2018).

Mercado global de probióticos

Los factores que impulsan el crecimiento del mercado mundial de probióticos son el aumento en el cuidado de la salud y la producción de suplementos alimenticios. A nivel mundial la venta de ingredientes, suplementos y alimentos probióticos fue de \$48.38 mil millones en 2018 (Grand View Research, 2019) y se prevé que alcance \$50 mil millones para 2023, presentando una tasa de crecimiento anual compuesta de 8.15%. Las regiones que lideran el mercado mundial de probióticos son Asia y Pacífico con un crecimiento significativo en India, China y Japón debido al desarrollo de nuevas tecnologías y la inversión en actividades I+D para la a creación de cepas probióticas eficientes. Se anticipa un crecimiento en los mercados de América Latina y África (Mordor Intelligence, 2020).

Figura 2

Mercado mundial de probióticos del año 2019



Nota. La zona verde indica una alta demanda, la zona amarilla un demanda media y la zona rosa una baja demanda. Tomado de Mordor Intelligence (2020).

Considerando el tipo de producto, las bebidas probióticas fermentadas fueron el segmento más grande en 2018 con un ingreso de \$39.560 millones (Grand View Research, 2019).

En cuanto al mercado de animales, los probióticos generaron \$3.56 mil millones en 2018 y se proyecta que alcancen \$6.29 mil millones para el 2026, con una tasa de crecimiento anual de 7.30%; siendo las regiones dominantes en el mercado América del Norte y Europa y el género más utilizado *Lactobacillus* (Fortune Business Insight, 2019).

Kéfir

El término kéfir se deriva de la palabra turca *kef*, que significa “sabor agradable” (Frag et al., 2020). Es una bebida de leche fermentada por la acción de bacterias y levaduras que coexisten de manera simbiótica en una matriz en forma de grano; tiene su origen en Europa y desde finales del siglo XIX se ha expandido a nivel mundial (Leite

et al., 2013). Actualmente, Kéfir en Ecuador es producido artesanalmente (Keif Organics, 2019).

La bebida de Kéfir presenta sabor ácido, consistencia, cremosa, olor agrio y una leve efervescencia, producto de la acción fermentativa de bacterias y levaduras (Dimidi et al., 2019; Leite et al., 2013). En cuanto a las propiedades fisicoquímicas tiene un pH ácido de 4.6 y alcohol entre 0,5% a 2% (Farag et al., 2020; Gul et al., 2015).

La composición química del kéfir depende de varios factores, como los granos de kéfir, el origen geográfico, temperatura, tiempo de fermentación y especialmente del tipo de leche (vaca, camello, cabra, oveja o búfalo) y el volumen utilizado (Farag et al., 2020).

Los principales compuestos del kéfir generados mediante procesos de lipólisis, glicólisis y proteólisis se pueden encontrar en la Tabla 2.

Tabla 1

Composición química de la bebida de Kéfir

Componentes	Descripción
Lípidos	3.5 g /100 g
Proteínas	3 - 3.4 g /100 g
Azúcares	Lactosa (2 - 3.5 g /100 g)
Etanol	0.5 - 2% p/p
CO ₂	0.08 - 0.2% p/p
Aminoácidos	Serina, treonina, alanina, lisina, valina, isoleucina, metionina, fenilalanina. triptófano
Macroelementos	Calcio, magnesio, fósforo, sodio
Microelementos	Cobre, zinc, hierro
Ácido orgánicos	Ácido láctico (0.6 - 1%), ácido acético, succínico, fórmico, caproico, caprílico y laurico
Vitaminas	B1, B2, B5, B12, A, C, K, caroteno, ácido fólico
Componente aromáticos	Diacetilo, acetaldehído, etilo
Antioxidantes	Catequina

Nota. Tomado de Farag et al. (2020); Leite et al. (2013) y Plaza (2019).

Se ha demostrado que Kéfir presenta propiedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatorias, cicatrizantes, antihipertensivos, anticancerígenos, reductores de glucosa y colesterol, y específicamente en animales un estímulo del sistema inmunitario e hipocolesterolémicas (Dimidi et al., 2019; Farag et al. 2020).

Granos de Kéfir

El grano de Kéfir es un polisacárido biodegradable, formado por galactosa, glucosa, proteínas, restos de células microbianas y otros materiales, que no se han especificado hasta ahora (Nejati et al., 2020; Pais et al., 2019). Tienen un tamaño entre 0.3 a 3.5 cm de diámetro y se caracteriza por tener forma semejante a una coliflor, textura viscosa, elasticidad, superficie irregular, multilobular, unida por una sección central y coloración blanca, amarilla clara o pálida (Leite et al., 2013).

Figura 3

Gránulo de Kéfir



Nota. Tomada de Farag et al. (2020).

El gránulo de kéfir alberga un consorcio de microorganismo entre bacterias que se localizan en la parte externa e interna del grano y levaduras ubicadas con más frecuencia en la parte externa; la Organización de las Naciones Unidas para la

Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugieren que los granos de kéfir deben contener un mínimo de 10^7 unidades formadoras de colonias (UFC)/g de microorganismos (Webb, 2005).

Su coexistencia de forma estable se debe a interacciones tróficas e intercambio de metabolitos bio-activos esenciales para su crecimiento (Nejati et al., 2020). Por ejemplo, el género *Lactococcus* hidroliza lactosa produciendo ácido láctico que disminuye el pH y crea un ambiente adecuado para el crecimiento de levaduras. Por lo que a menudo cuando microorganismos se aíslan individualmente de los granos, no crecen bien o muestran una actividad bioquímica reducida (Leite et al., 2013).

Después del proceso de fermentación es posible recuperar y conservar los granos de kéfir, ya sean liofilizados, secos o húmedos (Farag et al., 2020). Los granos secos pueden mantener su actividad entre 12 a 18 meses, los granos húmedos entre 8 a 10 días mientras que el método de liofilización resulta en un metabolismo reducido de lactosa, así como modificaciones en el perfil bacteriano; después del periodo de conservación, para evaluar la actividad microbiana se tiene como principal indicador el aumento de biomasa post fermentación siendo aproximadamente del 5–7% (Leite et al., 2013).

Producción de la bebida de Kéfir

Método artesanal o tradicional, donde la leche esterilizada se inocula con una cantidad variable de granos, durante un periodo de fermentación de 18 a 24 horas o hasta alcanzar un pH de 4.4 a una temperatura de 20 a 25 °C (Leite et al., 2013). Al final del proceso de fermentación, los granos son separados y la bebida resultante se

almacena a 4 °C siendo recomendado su consumo entre los 3 y 12 días (Frag et al., 2020).

Método industrial, donde se emplean de forma individual o combinada cultivos iniciadores de BAL (Bacterias Ácido Lácticas), levaduras o BAA (Bacterias Ácido Acéticas), aislados de los granos de kéfir (Gul et al., 2015; Leite et al., 2013).

Aunque se puede usar diferentes tipos de leche, un estudio realizado por Frag et al. (2020) mostró que la leche de vaca produce más altos niveles de ácido láctico (7,30 mg / mL), ácido acético (6,50 mg / mL) y ácido málico (4,00 mg / mL).

Ismail et al. (2011) mencionan que el peso inicial del grano de kéfir afecta el pH, viscosidad y perfil microbiológico del producto final y consideran una proporción adecuada de 1: 10 granos de kéfir por mL de leche.

Aspecto microbiológico

Las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) son bacilos o cocos Gram positivos en su mayoría aerotolerantes, representan entre el 65%-80% de la población de los granos de kéfir (Dimidi et al., 2019; Nejati et al., 2020; Yang et al., 2010). Crecen a un pH de 4.0 a 4.5 y al carecer de citocromos y porfirinas son catalasa y oxidasa negativa; según su metabolismo se dividen en homofermentativas (ácido láctico como principal producto final) y heterofermentativas (productor de ácido láctico, ácido acético y dióxido de carbono) (Monar et al., 2014). Su función primordial es convertir lactosa en ácido láctico, bajando el pH de la leche e inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos (Frag et al., 2020). También se conoce una producción en menor cantidad de peróxido de hidrógeno, bacteriosina, diacetil y CO₂ (Monar et al., 2014). Otro grupo de bacterias presentes en menor cantidad en la bebida de Kéfir (10⁵ UFC/g) son las bacterias ácido

acéticas que también disminuyen el pH del medio al producir ácido acético (Dimidi et al., 2019).

La población de levaduras fermentadoras y no fermentadoras de lactosa es de 10^6 - 10^7 UFC/mL (Dimidi et al., 2019). Estas sintetizan vitaminas del complejo B e hidrolizan proteínas de la leche, utilizando oxígeno para producir CO₂ y etanol que contribuyen al olor y efervescencia de la bebida; también participan en la producción de metabolitos clave como péptidos y aminoácidos (Leite et al., 2013).

Tabla 2

Población microbiana de la bebida de Kéfir

Microorganismos	Género	Especies
Bacterias Ácido Lácticas	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. kefir</i> (80% del consorcio)
		<i>L. paracasei</i>
		<i>L. casei</i>
	<i>Lactococcus</i>	<i>L. kefiranofaciens</i>
		<i>L. acidophilus</i>
		<i>L. lactis</i>
Bacterias Ácido Acéticas	<i>Acetobacter</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
		<i>Acetobacter lovaniensis</i>
Levaduras	Fermentadoras de lactosa	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
		<i>Kluyveromyces lactis</i>
		<i>Debaryomyces hansenii</i>
	No fermentadoras de lactosa	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
		<i>Pichia fermentans</i>
		<i>Saccharomyces turicensis</i>

Nota. La Tabla muestra los diferentes microorganismos que coexisten en la bebida de Kéfir. Tomado de Dimidi et al. (2019); Farag et al. (2020) y Leite et al. (2013).

Se han observado algunos tipos de interacciones entre bacterias y levaduras que aseguran la supervivencia de ambos microorganismos; es así que, las levaduras al consumir ácido láctico, como fuente de carbono, evitan una acumulación que puede dañar y matar BAL, llegando a un equilibrio; también las levaduras heterofermentativas como *S. cerevisiae*, con la producción de CO₂ proporcionan una atmósfera favorable para el crecimiento de *Lactobacillus* spp. (Nejati et al., 2020).

Existen diferencias entre la comunidad microbiana que se encuentra en los granos y la presente en el producto final, según Leite et al. (2013) se debe a las condiciones de fermentación, como tiempo, temperatura, grado de agitación, tipo de leche, relación inóculo (g) /leche (mL) y distribución de microorganismos, etc.

Finalmente, Nejati et al. (2020) refiere que la dinámica del microorganismo propio del kéfir puede verse afectada por algunos factores, como alta acidez, cambios drásticos de temperatura, limitación de nutrientes, presencia de patógenos, entre otros.

Actividad antimicrobiana

Estudios realizados por Farag et al. (2020), Leite et al. (2013) y Chifiriuc et al. (2011) han confirmado la actividad antimicrobiana del kéfir frente a diferentes bacterias, como *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Shigella sonnei*, presentando un efecto aun mayor que los antibióticos como la ampicilina.

La actividad antimicrobiana del kéfir está asociada con la producción de ácidos orgánicos, péptidos (bacteriocinas), dióxido de carbono, peróxido de hidrógeno, etanol y diacetilo (Leite et al., 2013).

Efecto gastrointestinal

De acuerdo con Leite et al. (2013) consumir kéfir aumenta el número de BAL en la mucosa intestinal y reduce la población de enterobacterias y clostridios. Además de estimular a las células del sistema inmune innato, lo que concuerda con la investigación de Farag et al. (2020) que evidenció un efecto de modulación microbiana intestinal mediante el aumento de poblaciones de Bifidobacterias y Lactobacilos incluso encontraron en ratones una reducción de infección por *Giardia intestinali*, un protozoo, evidenciando una activación de diferentes mecanismos de inmunidad humoral y celular.

Monar et al. (2014) señala que las bacterias ácido lácticas son capaces de incrementar el número de macrófagos, Ig A, linfocitos y el nivel de interferón gamma, lo que produce el fortalecimiento del sistema inmune.

Marco Legal

Según la Norma NTE INEN:2395, (2011) las leches fermentadas como el Kéfir deben cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos.

Tabla 3

Requisitos microbiológicos en leche fermentada

Requisitos	m	M
Coliformes totales, UFC/g	10	100
Recuento de <i>E. coli</i> , UFC/g	<1	-

Nota. m = Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad y M = Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. Tomado de INEN (2011^a).

Kombucha

La palabra 'Kombucha' proviene de los términos japoneses *kombu* - algas y *cha* – té (Marsh et al., 2014). Es una bebida de té fermentada que se originó alrededor del año 220 A.C en la región noreste de China (Dimidi et al., 2019; Marsh et al., 2014). Está formado por un caldo líquido agrio y una biopelícula de celulosa (Jayabalan et al., 2014) denominada *Manchurian fungus* (Morales, 2014) que se origina por la interacción de un sistema simbiótico (May et al., 2017; Nejati et al., 2020) conformado por Bacterias Ácido Acéticas (BAA), Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y levaduras (Nguyen et al., 2015; Yang et al., 2010). En la actualidad, es muy popular a nivel mundial encontrándose disponible comercialmente (Dimidi et al., 2019).

La bebida endulzada de Kombucha tiene un color amarillo translúcido, olor agrio y producto de la fermentación de bacterias y levaduras, presenta un sabor ligeramente ácido y refrescante pero puede llegar a tener un sabor a vinagre con el tiempo (Kapp & Sumner, 2019; Marsh et al., 2014; May et al., 2019; Morales, 2014). En general, tiene un pH bajo entre 2.5-3.5 (Coton et al., 2017; Kaewkod et al., 2019; Kamp Kombucha, 2013; Morales, 2014; Yang et al., 2010), una densidad entre 1.012-1.019 g/mL (Coton et al., 2017) y 6°- 10° Brix de sólidos solubles, estos parámetros varían dependiendo del tiempo de fermentación (Kaewkod et al., 2019).

La composición química de la Kombucha (Tabla 4) dependerá en gran medida de los parámetros aplicados en la producción, como tiempo de fermentación, contenido inicial de sacarosa y té negro o verde, temperatura y composición del cultivo inicial (Jayabalan et al., 2014).

Tabla 4*Composición química de la bebida de Kombucha*

Componentes	Descripción
Proteínas	0.3 g/100 g
Ácidos orgánicos	Ácido glucurónico (1.58 g / L)
	Ácido glucónico (70.11 g / L)
	Ácido ascórbico (0.70 g / L)
	Ácido acético (11.15 g / L)
	Ácido succínico (3.05 g / L)
	Ácido D-sacárico 1,4 lacton DSL (5.23 g / L)
	Ácido láctico, Ácido cítrico, Ácido málico, Ácido malónico, Ácido oxálico, Ácido tartárico, Ácido pirúvico, Ácido úsnico.
Azúcares	Sacarosa, glucosa, fructosa
Aminoácidos	Lisina, alanina, tirosina, valina, fenilalanina, leucina, isoleucina, serina y treonina
Vitaminas	B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , C, ácido fólico
Antioxidantes	Polifenoles, Catequina, flavonoides, taninos.
Alcaloides	Cafeína, teobromina, teofilina
Etanol	Se han encontrado pequeñas trazas (0.3-0.7% v/v)
Enzimas	Invertasa, amilasa, proteasa, catalasa
Minerales	Hierro, potasio, zinc, níquel, manganeso, cobre, calcio, magnesio, fluoruro

Nota. Tomado de BioKombucha (2018); Kaewkod et al. (2019); Kapp & Sumner (2019); Jayabalan et al. (2014); Morales (2014) y Yang et al. (2010).

Biopelícula de celulosa

Denominada también hongo del té, cultivo madre, hongo Kombucha, Manchurian fungus (Illana, 2007) o SCOBY (Dimidi et al., 2019) contiene una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias. Se produce por *Acetobacter xylinum* una bacteria ácido

acética que transforma los monómeros de glucosa en celulosa (May et al., 2017). La biopelícula aparece al tercer día de fermentación como una membrana delgada, transparente, similar a un gel, después de 10 a 14 días forma un disco de 2 cm de espesor que cubre todo el diámetro de la superficie, adoptando la forma del recipiente, una vez que se forma la biopelícula el proceso de fermentación se acelera y se origina un olor fuerte ha fermentado con presencia de burbujas (Kaewkod et al., 2019)

Figura 4

Aspecto físico del hongo de Kombucha



Nota. Tomado de Illana (2007).

La biopelícula cumple varias funciones durante la fermentación: Actúa como barrera encapsulante protegiendo a toda la microbiota de cambios ambientales severos y patógenos adversos, ayuda a que sobrevivan ciertas especies intolerantes a las condiciones de la parte líquida, aumenta el acceso al oxígeno atmosférico, almacena recursos, retiene agua y resiste a los rayos UV, evitando la desecación (May et al., 2017, 2019).

Jayabalan et al. (2014) y Didimi et al. (2019) informaron que la microbiota residente en la capa de celulosa está conformada por un cultivo mixto de bacterias, como *A. xylinum*, *A. pasteurianus*, *A. aceti*, *Gluconobacter oxydans*, *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp y levaduras del género *Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Candida* spp.

Preparación de la bebida de Kombucha.

Su producción se realiza mediante la fermentación aeróbica de té negro o verde, azúcar blanco y el cultivo simbiótico de bacterias ácido acéticas (Acetobacteraceae), bacterias ácido Lácticas y levaduras que se encuentran en una matriz de celulosa (Kapp & Sumner, 2019).

El proceso tradicional inicia preparando una infusión de té que se endulza con 5–10% (p/v) de azúcar, se deja enfriar a temperatura ambiente (20 ° C) y se inocula con un 10 a 20% (v/v) de líquido de kombucha de un lote anterior y una biopelícula madura que se coloca encima de la solución (May et al., 2019). El recipiente se cubre con una toalla de papel para mantener protegido el fermento de insectos y se deja reposar durante 8 a 10 días (Marsh et al., 2014; Coton et al., 2017) a una temperatura entre 18-26 °C. Concluido este tiempo la bebida resultante se filtra y se almacena en una botella de vidrio tapada a 4 °C (Jayabalan et al., 2014). El producto final es rico en ácidos orgánicos, etanol, y CO₂ (Coton et al., 2017).

Otros sustratos utilizados para la preparación de Kombucha son el té jazmín, vino, agua de coco, leche, zumo de fruta e infusiones (Kapp & Sumner, 2019).

La cantidad y tipo de cada ingrediente, así como el tiempo de fermentación varían según la localidad, lo que puede contribuir a la diversidad de comunidades microbiológicas que se encuentran en la bebida (May et al., 2019).

Aspecto microbiológico

En el estudio realizado por Arıkan et al. (2020) y May et al. (2017) se encontró que el número de bacterianas y levaduras aumenta hasta el día 6 a 10 de la fermentación y luego comienza a disminuir debido a la falta de nutrientes y al incremento de la acidez del medio ambiente. Teniendo recuentos totales al inicio de la fermentación de 5.54 log UFC/mL de Bacterias y 5.79 log UFC/ mL de levaduras y al final de 5.30 log UFC/mL de bacterias y 4.69 log UFC/ mL de levaduras (Kanurić et al., 2018). También se ha informado que los recuentos microbianos son mayores en el caldo de té que en la biopelícula de celulosa (May et al., 2017).

Según Coton et al. (2017), Dimidi et al. (2019) y May et al. (2017), la población bacteriana sistemáticamente dominante es la de bacterias ácido acéticas (70%) ubicadas en su mayoría en la biopelícula en condiciones aerobias que de bacterias ácido lácticas (30%) que residen en gran parte del caldo de té en condiciones anóxicas (May et al., 2017).

Marsh et al. (2014) detectaron la presencia de BAL, como *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Lactococcus* en la bebida de Kombucha, siendo más frecuentes en las últimas etapas de la fermentación.

Tabla 5*Población microbiana de la bebida de Kombucha*

Microorganismos	Género	Especie	
Bacterias Ácido Acéticas	<i>Acetobacter</i>	<i>Acetobacter xylinum</i> <i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Acetobacter peroxydans</i> <i>Komagataeibacter xylinus</i> <i>Komagataeibacter intermedius</i>	
	<i>Gluconobacter</i>	<i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Gluconobacter saccharivorans</i>	
	<i>Gluconactobacter</i>	<i>Gluconacetobacter europaeus</i>	
	Bacterias Ácido Lácticas	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus nageli</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>
		<i>Lactococcus</i>	
		<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc oeni</i>
		<i>Bifidobacterium</i>	
	Levaduras	<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> <i>Zygosaccharomyces rouzii</i>
		<i>Candida</i>	<i>Candida famata</i>
<i>Pichia</i>		<i>Pichia membranaefaciens</i>	
<i>Brettanomyces</i>		<i>Brettanomyces bruxellensis</i> <i>Brettanomyces intermedius</i>	
<i>Saccharomyces</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	

Nota. Tomado de Arikan et al. (2020); Dimidi et al. (2019); Illana (2007) y May et al. (2017).

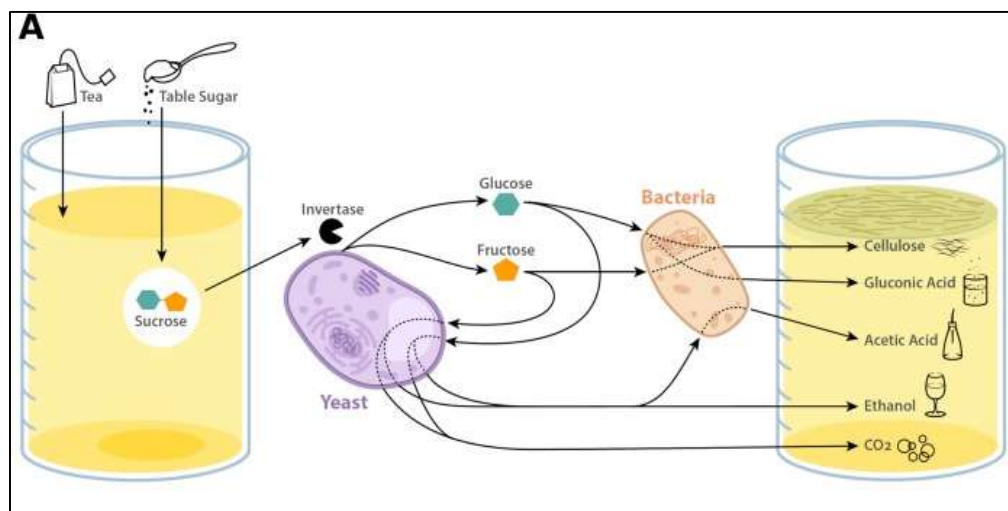
Levaduras y bacterias están involucradas en diferentes rutas metabólicas, las levaduras hidrolizan la sacarosa en glucosa y fructosa por acción de la enzima Invertasa y convierten estos monómeros en etanol y CO₂ (Kaewkod et al., 2019). Las bacterias ácido acéticas utilizan la glucosa para producir ácido glucónico y oxidan el etanol para generar ácido acético, ácido glucorónico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, ácido succínico, ácido sacárico, ácido pirúvico, disminuyendo el pH del medio (May et al.,

2017). Las bacterias también producen celulosa a partir de la glucosa que conduce a la formación de la biopelícula (Marsh et al., 2014).

La interacción de bacterias y levaduras es imprescindible para la supervivencia de ambas especies, las bacterias ácido acéticas como ácido lácticas utilizan el etanol como fuente de carbono y lo transforman en ácidos orgánicos que producen la disminución del pH, impidiendo la colonización de patógenos y evitando la acumulación de etanol que puede producir daños en la estructura, función e integridad de la membrana celular (May et al., 2017). Además, Nguyen et al. (2015) y Marsh et al. (2014) informaron que BAL mediante la producción de xilitol y ácido acético ayuda al crecimiento de especies de BAA, aumenta la producción de celulosa, así como la producción de DSL y ácido glucorónico.

Figura 5

Rutas metabólicas de los microorganismos



Nota. Tomada de May et al. (2017).

Los perfiles microbianos de la Kombucha parecen variar según el origen geográfico, tipo y concentración de té y azúcar, tiempo de fermentación, temperatura,

almacenamiento, concentración de oxígeno y composición del SCOBY (May et al., 2019). Incluso existen diferencias microbianas entre las distintas regiones de Kombucha, como la película, el líquido y la interfaz que tiene filamentos en forma de tentáculos que descienden desde la película (May et al., 2017).

Efecto antimicrobiano

Estudios realizados *in vitro* han mostrado que el consorcio de Kombucha previene el crecimiento de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas, como *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Entamoeba cloacae*, *Helicobacter pylori*, *Leuconostoc monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* a través de la producción de ácido acético que reduce el pH e induce la acidificación citoplasmática creando un ambiente adverso para el crecimiento de otras bacterias y componentes biológicamente activos, como bacteriocinas, catequinas, proteínas, enzimas, compuestos fenólicos y taninos (Dimidi et al., 2019; Kaewkod et al., 2019; Jayabalan et al., 2014; May et al., 2019).

Aunque se sugiere también la existencia de otros mecanismos con efectos antimicrobianos (Dimidi et al., 2019), ya que las propiedades antimicrobianas persisten, incluso con la neutralización de la solución y desnaturalización térmica a 80 ° C durante 30 min (May et al., 2019).

Propiedades y beneficios de la Kombucha

La Kombucha posee varias propiedades funcionales potenciales, como producción de vitaminas, compuestos antimicrobianos, sustancias antioxidantes (ácido ascórbico, ácido D-sacárico 1,4 lactona), moléculas farmacológicamente activas (Jayabalan et al., 2014), como el ácido glucorónico que juega un papel importante en la desintoxicación del hígado y la excreción de químicos exógenos (Kaewkod et al., 2019) o los polifenoles que inhiben mutaciones genéticas y mecanismos de formación y proliferación de cáncer (Yang et al., 2010). También, se han encontrado efectos positivos sobre la diabetes, úlceras gástricas, colesterol alto y la respuesta inmune (Marsh et al., 2014).

En estudios con animales se identificaron efectos sobre la glucemia sanguínea, el estrés oxidativo, la nefrotoxicidad inducida químicamente, la hipercolesterolemia, la ulceración gástrica, la capacidad de eliminación de radicales superóxido *in vitro* y la ganancia de peso (Dimidi et al., 2019). Todas estas características junto con su tolerancia al pH hacen de la Kombucha un potencial probiótico y posible sustituto de promotores de crecimiento, como los antibióticos (May et al., 2019).

Pollo de engorde

El pollo de engorde conocido generalmente como pollo “Broiler” presenta un metabolismo acelerado provocando su rápido crecimiento, pero a diferencia de otras aves domésticas presenta una menor resistencia a condiciones desfavorables, como deficiencia en su alimentación o malas condiciones de manejo, su período normal de vida varía entre seis y ocho semanas, dependiendo del peso que se desee obtener (Friedmann & Weil, 2010).

En general, la carne de aves es preferida por su bajo costo, su preparación rápida y sus propiedades nutricionales, como su contenido de proteína que es 22% a 24% mayor que las carnes rojas, su bajo aporte calórico (150 calorías por 100 g de carne) adecuado en dietas para el control de peso y su baja cantidad de ácidos grasos saturados, evitando altos niveles de colesterol. En cuanto a sus características físicas, presenta fibras tiernas, fáciles de masticar, moler y digerir (Prabakaran, 2003).

La alimentación es un aspecto de gran importancia económica en la cría de aves comerciales, no solo porque es responsable del crecimiento de las aves, sino que principalmente representa el mayor costo en el ciclo de producción (Neves et al., 2014).

Vaca (2003) menciona que los alimentos avícolas son distribuidos en el mercado con diferentes presentaciones:

- **Harina:** Todos los ingredientes son molidos y mezclados procurando que queden totalmente homogéneos, ya que, si existen diferencias de tamaño, un grupo de pollos comería las partículas grandes y otros, las pequeñas.
- **Pellet o gránulos:** La harina es precocida y con altas temperaturas se moldea en forma de pequeños cilindros, agrupando todos los nutrientes; de esta manera, se asegura una alimentación balanceada y uniforme.
- **Cumbles o migajas:** Se producen al triturar los pellets con el fin de disminuir su tamaño para que puedan ser consumidas en los primeros días de crianza.

En general, su dieta se basa en granos de maíz, soya o trigo combinados con vitaminas y minerales para suplir todas las necesidades nutricionales, de acuerdo a la etapa de crecimiento del ave (Barros, 2018).

- **Alimento fase pre-inicial:** Se suministra a partir del primer día hasta el séptimo día de edad, en este tiempo se da el desarrollo final de los órganos internos, por ende, se debe asegurar formar corazones fuertes y pulmones grandes necesarios para sostener el metabolismo acelerado del Broiler (Avesca, 2019).
- **Alimento fase inicial:** Se suministra a partir del día 8 hasta el 21, fortalece las estructuras anatómicas para que puedan soportar el gran depósito de carne que se obtendrá en las siguientes semanas, y mejora el sistema inmune para enfrentar enfermedades o condiciones adversas (Avesca, 2019).
- **Alimento fase de crecimiento:** Se utiliza desde los 22 días hasta los 42 días (Sierra), este alimento proporciona proteína, energía metabolizable, aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales necesarios para un rápido incremento muscular; además, contiene xantofilas para otorgar la coloración amarillenta que atrae al consumidor (Avesca, 2019).
- **Alimento fase de engorde:** Se emplea en la última semana de vida de los pollos hasta alcanzar un peso de 5.5 a 6 lb, no contiene anticoccidiales, para permitir un máximo crecimiento y eliminar residuos de aditivos en el producto final; como resultado se logra mejorar el índice de conversión (Avesca, 2019).

Según Arbor Acres (2009) la explotación eficiente de pollos de engorde requiere de cuatro condiciones principales:

- Calidad genética de las aves
- Nutrición adecuada
- Prevención y tratamiento de plagas y enfermedades
- Eficientes técnicas de manejo

Parámetros de rendimiento:

- **Peso corporal:** Va a depender de factores, como la edad, el tipo de alimento suministrado, condiciones de manejo, salud y raza; generalmente se alcanza pesos promedios de 1,90 kg a las siete semanas en lotes de pollos mixtos (Vaca, 2003).
- **Cantidad de alimento consumido:** La cantidad de alimento consumido aumenta proporcionalmente con la edad y peso de las aves, representa el 65-70% de los costos para producir un kilo de carne (Vaca, 2003).
- **Índice de conversión alimenticio (ICA):** Se obtiene dividiendo el total de kilos de alimento consumido entre el total de kilos de pollo vivo producido; la relación se establece entre 2:1, es decir, dos kilos de alimento para producir un kilo de carne (El-Kholy et al., 2018).

$$\text{ICA} = \frac{\text{Ingesta de alimento (g)}}{\text{Ganancia de peso corporal (g)}}$$

- **Índice de rendimiento (IR):** Es un parámetro que indica el nivel de éxito que pueden obtener los productores de pollos de engorde, cuanto mayor sea el valor de IR, mayores serán las posibilidades de obtener altas ganancias (Sanmorino & Gustriansyah, 2017), se calcula según la fórmula propuesta por Bird (1955).

$$\text{IR} = \frac{\text{Ganancia de peso corporal total (g)}}{\text{Índice de conversión alimenticio final}}$$

Fisiología gastrointestinal

El tracto gastrointestinal aviar se divide en ocho secciones discretas: cavidad oral, esófago, proventrículo, molleja, intestino delgado, ceca, intestino grueso y cloaca; el esófago almacena alimentos en la mayoría de las especies de aves; el proventrículo

tiene un ambiente ácido que digiere químicamente los alimentos, mientras que la molleja es un estómago muscular que degrada los alimentos mecánicamente (Grond et al., 2018).

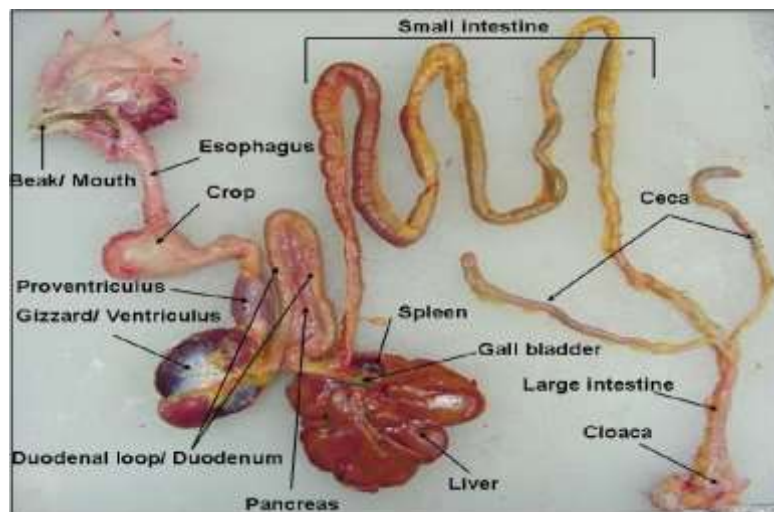
El proceso de digestión comienza cuando el ave recoge la comida en el pico, después, la comida pasa por el esófago con un poco de saliva hasta el buche, donde se ablanda por la secreción de ácido láctico; del buche pasa al proventrículo, un órgano semejante al estómago, donde se degradan los almidones por acción del jugo gástrico y la pepsina; posteriormente, pasa a la molleja donde se muele y tritura el alimento mediante contracciones rítmicas y se digieren las proteínas; cuando pasa por el intestino delgado ocurre la digestión y la absorción de nutrientes; en el ciego, termina la digestión con la fermentación bacteriana y se da la absorción de agua; a partir de aquí, se transportan los desechos por el intestino grueso hasta la cloaca para la evacuación (Vaca, 2003; Neves et al., 2014).

El contenido de oxígeno y el pH del tracto gastrointestinal posiblemente producen una presión selectiva sobre la comunidad microbiana (Grond et al., 2018). Diversos grupos de microbios residen en varias regiones y ubicaciones del Tracto Gastrointestinal (GIT) y esto podría indicar roles funcionales diferenciales que contribuyen en el mantenimiento de la salud del huésped (Adhikari & Kwon, 2017). El esófago y la cloaca permiten la supervivencia de comunidades mixtas de aerobios, microaerobios y anaerobios facultativos, incluidos los miembros de las proteobacterias α , β y γ ; la cloaca no tiene una función digestiva, pero está expuesta a materiales y células microbianas del sistema digestivo, así como a los sistemas reproductivo y urogenital (Grond et al., 2018).

El duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon son las principales regiones intestinales, donde la microbiota contribuye a la productividad avícola y a la resistencia a las enfermedades (Xiao et al., 2017).

Figura 6

Sistema gastrointestinal de pollos Broiler



Nota. Tomado de Kulshreshtha et al. (2020).

La microbiota intestinal tiene un papel importante en la salud y producción animal, influyendo positivamente en el desarrollo gastrointestinal, bioquímica, inmunología, fisiología, resistencia inespecífica del huésped a la infección, absorción y utilización de energía y otros nutrientes (Apajalahti & Kettunen, 2006). En las aves de corral, los microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal después de la eclosión forman una relación sinérgica con su huésped y entre sí; además, de interactuar directamente con el revestimiento gastrointestinal, alterando la fisiología del tracto y el estado inmunológico del ave (Torok et al., 2008). La diversidad de la microbiota en el pollo está influenciada en gran medida por la edad de las aves, ubicación en el tracto digestivo y la dieta. En un estudio realizado por Kent et al. (2003)

se logró comprobar que la dieta puede modificar la composición de la comunidad intestinal del íleon y sobre todo de la ceca.

La microbiota intestinal puede formar una barrera protectora al unirse a las paredes epiteliales del enterocito, reduciendo la posibilidad de colonización de bacterias patógenas; otros beneficios son la producción de vitaminas (p. Ej., Grupos de vitamina K y vitamina B), ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, ácido butírico y ácido propiónico), ácidos orgánicos (p. Ej., Ácido láctico) y compuestos antimicrobianos (p. Ej., Bacteriocinas), triglicéridos inferiores, e inducen respuestas inmunes no patógenas, que proporcionan nutrición y protección para el animal (Shang et al., 2018).

La microbiota gastrointestinal se puede clasificar en microbiota luminal y microbiota mucosa, la composición de la microbiota luminal está determinada por los nutrientes disponibles, presencia de sustancia antimicrobiana y la velocidad de paso del alimento; mientras que, la microbiota mucosa se ve afectada factores del huésped, como la expresión de sitios de adhesión específicos en la membrana de los enterocitos, secreción de inmunoglobulinas secretoras y tasa de producción de moco (Shang et al., 2018).

Intestino delgado.

El intestino delgado se encuentra entre la molleja y el ciego y consta de tres secciones: duodeno, yeyuno e íleon; sus funciones son el procesamiento de alimentos utilizando enzimas y bilis, así como la absorción de nutrientes; por otra parte, el análisis de la microbiota indica que las diferentes secciones presentan una población similar, dominada por *Lactobacillus* y *Clostridium* (Grond et al., 2018).

Ciego.

El ciego está conformado por dos bolsas largas que se adhieren al final del intestino delgado y al inicio del intestino grueso (Grond et al., 2018); entre las funciones que cumple se encuentra la fermentación de compuestos digeribles y no digeribles, producción de energía y nutrientes como vitaminas, aminoácidos y ácidos grasos y reabsorción de electrolitos y agua (Shang et al., 2018). Puede sufrir modificaciones morfológicas al existir cambios en la dieta administrada y se vacía a un ritmo más lento que las demás secciones intestinales, reteniendo 3 a 4 veces más contenido fecal (Grond et al., 2018).

Las comunidades microbianas del ciego son distintas al resto del tracto gastrointestinal, y pueden variar dependiendo del régimen alimenticio debido a que es un sitio de fermentación; también, se conoce que es un reservorio de patógenos importantes (Xiao et al., 2017).

Aspectos microbiológicos del tracto gastrointestinal

En el tracto gastrointestinal (TGI) de las aves existe una comunidad diversa de bacterias, hongos, protozoos y virus; la adquisición de esta microbiota se da desde la eclosión del pollito al entrar en contacto con los microbios de la superficie de la cáscara del huevo que proviene del ambiente y de la madre (Gil et al., 2005).

Se calcula que el TGI está colonizado por cerca de 640 especies de bacterias de 140 géneros diferentes, teniendo una densidad celular que varía de 10^7 a 10^{11} bacterias por g de contenido intestinal (Torok, Ophel, Loo, & Hughes, 2008), Las bacterias encontradas en mayor porcentaje entre el 60% y 90% son *Lactobacillus* spp.,

Enterococcus spp. y *Escherichia coli*, y en menor porcentaje Eubacterias, Clostridios, Propionibacterias y Fusobacterias (Barros, 2018).

Enteropatógenos avícolas

El microbioma gastrointestinal también puede ser una fuente de patógenos bacterianos, siendo los más comunes *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Compylobacter jejuni* con tasas de contaminación de 96%, 34% y 25%, respectivamente (Mehdi et al., 2018).

Estos pueden provocar tasas altas de mortalidad con pérdidas en la productividad (Shang et al., 2018), como *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli* que producen un menor crecimiento de las aves o *Salmonella enterica* que malogra la carne (Apajalahti & Kettunen, 2006). Además, al transmitirse a los humanos pueden causar resistencia antimicrobiana o diversas afecciones, por ejemplo: *Compylobacter* produce diarreas graves o mortales en el caso de personas inmunocomprometidas, de edad avanzada o niños y *Salmonella* spp. causa gastroenteritis leve (Mehdi et al., 2018).

Materiales y Métodos

Cultivo de Kéfir y Kombucha

Los cultivos iniciadores de Kéfir y Kombucha fueron donados por el Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

Para la elaboración de la bebida de Kéfir se añadió 30 g de gránulos iniciadores en 900 mL de leche pasteurizada (Andina), se colocó papel toalla en la boca del recipiente de vidrio para evitar contaminación externa y se dejó reposar en un lugar aislado (Koh et al., 2018; Toghyani et al., 2015). Cuando el pH de la bebida se mantuvo relativamente constante, al llegar a 4, se separó los gránulos de Kéfir con un cernidor previamente esterilizado y el fermento resultante se colocó en una botella de vidrio (Irigoyen et al., 2005).

En cuanto a la preparación de la bebida de Kombucha se realizó una infusión de té negro, utilizando 1 bolsita de té de 1.5 g (Hornimans) y 70 g de azúcar blanco en 1 L de agua; una vez que se enfrió la infusión se añadió la biopelícula y 100 mL del fermento de un cultivo anterior, se colocó papel toalla en la boca del envase de plástico (Jung et al., 2019; Kanurić et al., 2018) y se dejó reposar hasta que la bebida alcanzó un pH estable de 3 (Morales, 2014); el fermento resultante se vertió sin la biopelícula en un envase de vidrio (Gaggia et al., 2019).

Caracterización fisicoquímica y microbiológica de Kombucha y Kéfir

pH

Se tomó un volumen pequeño de cada bebida en un vaso, se midió el pH sumergiendo las tiras reactivas (Macherey-Nagel) durante algunos segundos y se comparó la reacción resultante con la escala establecida por el fabricante.

Sólidos solubles

Con ayuda de una pipeta Pasteur se colocó una gota de cada bebida en el lente del brixómetro (Atago), se esperó un momento y se anotó el resultado obtenido. Antes de usar el dispositivo se limpió el lente con alcohol y se lavó la pipeta con agua estéril (Morales, 2014).

Densidad

Se utilizó el método tradicional realizando la medición del peso y volumen de cada bebida. Se pesó una probeta graduada de 100 mL vacía, luego se aforó con las bebidas de Kéfir y Kombucha y se volvió a pesar. El peso total se obtuvo de la diferencia entre el peso de la probeta llena menos el peso de la probeta vacía y el resultado se dividió para el volumen total de 100 mL, obteniendo la densidad respectiva en (g/mL) (Durst & Wake, 2007).

Parámetros microbiológicos

Los análisis microbiológicos se desarrollaron en los Laboratorios pertenecientes al Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, ubicada en el Cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha, en la Autopista General Rumiñahui (coordenadas 0° 18' 53.5" Sur, 78° 26' 36.5" Oeste).

Se realizó el recuento de Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y levaduras presentes en las bebidas de Kombucha y Kéfir para establecer de forma aproximada la cantidad de microorganismos que fueron administrados durante la alimentación de los pollos (Ghasemi-Sadabadi et al., 2019). Se tomó 10 mL de cada bebida con una jeringuilla estéril (Nitropro) y se transfirió a una botella de vidrio con 90 mL de agua estéril (dilución 10^{-1}), se agitó, se tomó con una micropipeta (Labnet) 1 mL y se colocó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua estéril (dilución 10^{-2}), de manera sucesiva se tomó 1 mL de esta dilución y se colocó en un tubo de ensayo con 9 mL de agua estéril (dilución 10^{-3}) (Chen et al., 2009). De la dilución 10^{-2} y 10^{-3} se tomó 0.1 mL con una micropipeta (Labnet) y por extensión se sembró con una asa triangular Digrafsky en medio Agar Man Rose Sharpe (TM media) y agar Sabouraud (TM media) que al ser medios diferenciales y selectivos permitieron el crecimiento de bacterias ácido lácticas y levaduras, respectivamente (Bergmann et al., 2010). Las cajas Petri se dejaron en reposo durante 72 horas a temperatura ambiente (Nguyen et al., 2015). Después, se realizó el recuento de microorganismos, considerando las cajas Petri que contenían una población de 30 a 300 colonias, finalmente, los resultados se expresaron en \log_{10} UFC/mL (Londero, 2012).

Como control de calidad de las bebidas de Kombucha y Kéfir se consideró los parámetros microbiológicos establecidos en la Norma INEN 1 829 para alimentos zootécnicos (Tabla 6).

Tabla 6*Requisitos microbiológicos para alimentos zootécnicos NTE INEN 1829*

Requisitos	Límite
Recuento total en placa (REP), máx	1.2×10^6
<i>Salmonella y Shigella</i>	No detectable en 25 g
Coliformes, máx	1×10^4
Hongos, máx	1×10^4

Nota. Tomado de (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 1992).

Por lo tanto, de cada bebida se realizó diluciones seriadas desde 10^{-1} a 10^{-3} aplicando el proceso antes mencionado. Posteriormente, se tomó de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} una alícuota de 0.1 mL y se pipeteó en placas Petri, extendiendo la muestra en la superficie del medio con ayuda de una espátula Drigalsky (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 1999). En el caso de recuento total se empleó el medio Agar nutriente (Acumedia de Neogen) (Pinar et al., 2015), para hongos filamentosos el medio Agar Sabouraud (Titan Media), para *Salmonella y Shigella* el medio de cultivo selectivo Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (MERCK) (Al-Khalaifa et al., 2019) y para Coliformes el medio selectivo y diferencial Agar MacConkey (Titan Biotech) (Manafi et al., 2019). Las placas se dejaron reposar durante 48 horas en el caso de bacterias (Al-Khalaifa et al., 2019) y 5 días en el caso de hongos (Mukherjee, 2019).

Crianza de pollos Broiler

La crianza de pollo se realizó en un galpón ubicado en la parroquia de Amaguaña, cantón Quito, Provincia de Pichincha, país Ecuador, (coordenadas $0^{\circ} 22' 40.5''$ Sur, $78^{\circ} 29' 47.5''$ Oeste).

Instalaciones

Dos semanas antes del traslado de los pollos de engorde se realizó la desinfección del galpón (González, 2018). Siguiendo lo indicado por Pizzabiocca (2019) primero se lavó con detergente (Deja) el piso y las paredes, luego se enjuagó con abundante agua y cuando estuvo seco, se fumigó con una solución de creolina (Favetex). Dos días antes de la llega de los pollos se fumigó los alrededores del galpón, así como la parte interna y se colocó una cama de viruta de 10 cm de espesor (Pinar et al., 2015). Los corrales de cada tratamiento se delimitaron con bloques. En la mitad del galpón se colocó un calentador a gas, que se prendió horas antes de la llegada de los pollitos para tener un ambiente cálido (Arbor Acres, 2009). Además, cada corral contó con un comedero metálico y bebedero plástico que fueron desinfectados antes de su uso e identificados con el nombre del tratamiento correspondiente. La temperatura se controló todos los días con un termohigrometro digital (KTJ R Thermo); durante las 3 primeras semanas se mantuvo una temperatura de 31 °C (Mwangi et al., 2017) y en las siguientes semanas la temperatura disminuyó a 21 °C (Afsharmanesh & Sadaghi, 2014; Arrazola et al., 2019). La iluminación la primera semana fue durante las 24 horas del día, usando bombillas artificiales durante la noche, para que las aves tengan el tiempo suficiente para encontrar alimento y agua; luego, se siguió un programa de iluminación descendente (Al-Khalaifa et al., 2019).

Manejo

Se adquirió un total de 50 pollos Broiler de 1 día de edad que fueron repartidos en 5 corrales diferentes identificados con el nombre del tratamiento correspondiente. Durante su crecimiento a los 8 días se administró la vacuna Newcastle (Lavetec), 14 días el refuerzo de Newcastle (Lavetec) y 21 días la vacuna de Gumboro (Gumvac).

Para su alimentación se empleó 4 tipos de balanceado (Nutriavan) acorde a la etapa de crecimiento: Pre-inicial, inicial, crecimiento y engorde, cuyas características nutritivas se detallan en la siguiente Tabla.

Tabla 7

Análisis nutricional del balanceado proporcionado a las aves

Composición	Pre-inicial	Inicial	Crecimiento	Engorde
Proteína cruda (min.)	22%	21%	20%	18%
Grasa cruda (min.)	4.5%	4.5%	5%	5.5%
Fibra cruda (máx.)	5%	5%	5%	5%
Cenizas (máx.)	8%	8%	8%	8%
Humedad (máx.)	13%	13%	13%	13%

Nota. Tomada de Avesca (2019).

Se suministró en los bebederos previamente lavados agua potable junto con la concentración de probióticos correspondiente a cada tratamiento: T1 o control, sin suplementación de probiótico; T2 con suplementación de 2% de Kéfir, T3 con suplementación de 4% de Kéfir; T4 con suplementación de 2% de Kombucha y T5 con suplementación de 4% de Kombucha. Cabe mencionar que las concentraciones establecidas son valores modales basados en diferentes estudios como los realizados por: Kandir & Yardimci (2015), Mahrose et al. (2019), Murugesan et al. (2005), Toghyani et al. (2015) y Vahdatpour & Babazadeh (2016). Mientras que la ruta de administración fue elegida con base en las investigaciones realizadas por Arslan & Saatci (2004) y Torshizi et al. (2010), que mencionan que los probióticos en el agua de bebida presentan mejores resultados en el crecimiento de aves de corral en comparación con

la administración adicionada a partícula sólidas, debido a que los probióticos en dilución tienen un tiempo de tránsito más corto en el estómago, reduciendo el impacto negativo del ácido gástrico, las secreciones digestivas y las enzimas estomacales (Mahrose et al., 2019). Durante el crecimiento de las aves se pesó el alimento con una balanza de mano digital (Camry), el volumen de agua se midió con un recipiente de plástico graduado (Rey) y para la dosis administrada se usó un envase para muestras clínicas estéril (Josa), registrando los datos en una bitácora.

El tiempo de investigación estuvo comprendido de una semana de acondicionamiento y 6 semanas de experimentación (42 días) (Yerpes et al., 2020). Durante este tiempo, se evaluó los siguientes parámetros: Ganancia de peso corporal de cada ave (GPC) al día 1, 14, 28 y 42, ingesta diaria de alimento (IA), consumo diario de agua (CA). Los datos resultantes se usaron para calcular el índice de conversión alimenticio, dado por IA/GPC (g:g) e índice de rendimiento, que se obtiene al dividir la GPC/ ICA (Behnamifar et al., 2019; Kandir & Yardimci, 2015; Mahrose et al., 2019).

Recuento de la población microbiana intestinal

A los 42 días de edad (Forte et al., 2016; Ghasemi-Sadabadi et al., 2019; Li et al., 2009), se escogió al azar 4 pollos de cada tratamiento y se sacrificaron después de 8 horas sin alimento. Se extrajo todo el intestino y se removió el segmento correspondiente al intestino delgado y ciego (Adhikari & Kwon, 2017; Shang et al., 2018; Torok et al., 2008; Xiao et al., 2017), luego se exprimió suavemente con la mano (Pinar et al., 2015) para obtener las excretas frescas que se colocaron en frascos de vidrio previamente esterilizados (Li et al., 2009). Para realizar las pruebas microbiológicas, se homogenizó el contenido intestinal y se tomó 10 mL con una pipeta Pasteur, que fueron colocados en 90 mL de agua estéril para obtener la dilución 10^{-1} , a partir de la cual se

tomó 1 mL con una micropipeta (Labnet) y se colocó en un tubo con 9 mL de agua estéril (dilución 10^{-2}), de la misma forma se tomó un 1 mL de la dilución y se colocó en 9 mL de agua estéril (dilución 10^{-3}) (Mountzouris et al., 2007). Por último, se transfirió 0.1 mL de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} con una micropipeta (Labnet) a los medios de cultivo Agar MacConkey (Titan Biotech) y Agar MRS (TM media) y usando un asa de vidrio Digrafsky se extendió la muestra por toda la superficie; se rotuló cada caja Petri, se selló con parafilm y se colocaron en fundas de plástico estériles. Después de 48 horas a temperatura ambiente, se realizó el conteo de las colonias que crecieron en el medio Agar MacConkey y a las 72 horas el conteo de las colonias presentes en el medio Agar MRS; los resultados se expresaron como \log_{10} UFC/g (Forte et al., 2016).

Una vez extraído el intestino delgado se pesó y midió, con ayuda de una gramera (Camry) y cinta métrica (Ghasemi-Sadabadi et al. 2019; Toghyani et al. 2015).

Análisis Estadístico

Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente se usó el test de comparaciones múltiples Duncan con un $P < 0.05$. El software utilizado fue InfoStat.

Resultados

Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de Kombucha y Kéfir

La Tabla 8 muestra las características fisicoquímicas como pH, densidad y sólidos solubles de las bebidas fermentadas. Con respecto al pH, la Kombucha presentó un valor constante de 3 al tercer día de fermentación, mientras que Kéfir un valor contante de 4 a las 24 horas de fermentación.

En cuanto a las características microbiológicas se encontró que la bebida de Kombucha posee una población aproximada de 6.90 log UFC/mL de bacterias ácido lácticas y 5 log UFC/mL de levaduras, mientras que, la bebida de Kéfir presentó 6.29 UFC/mL de bacterias ácido lácticas y 6.26 log UFC/mL de levaduras.

Tabla 8

Análisis fisicoquímico y microbiológico de las bebidas fermentadas

Bebidas fermentadas	Bacterias Ácido Lácticas (Log CFU/mL)	Levaduras (Log CFU/mL)	pH	Densidad (g/mL)	Sólidos Solubles (°Brix)
Kombucha	6.90	5.00	3	0.994	6.1
Kéfir	6.29	6.26	4	0.997	15.7

Se consideró, como parámetro de calidad, la norma INEN 1829 que establece los requisitos microbiológicos que deben poseer los Alimentos Zootécnicos para pollos de engorde. Comprobando que las bebidas de Kombucha y Kéfir son aptos para ser administrados en la dieta de pollos de engorde, ya que, cumplen los límites establecidos en la Tabla 9.

Tabla 9*Requisitos microbiológicos para alimentos zootécnicos de aves*

Parámetro	Límite Detectable	Kombucha	Resultado	Kéfir	Resultado
Recuento total en placa	Máx. 1.2×10^6	<1	Apto para consumo	5×10^5	Apto para consumo
<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i>	No detectable en 25 g	<1	Apto para consumo	<1	Apto para consumo
Coliformes	Máx. 1×10^4	<1	Apto para consumo	<1	Apto para consumo
Hongos	Máx. 1.2×10^4	<1	Apto para consumo	2×10^3	Apto para consumo

Nota. <1: No existe crecimiento de ningún microorganismo.

Parámetros de rendimiento

Se midió el peso corporal de cada pollo de engorde a los 14, 28 y 42 días de edad. Una vez recolectados los datos, se realizó el análisis de varianza y prueba de Duncan al 5%. Dando como resultado que a los 14 días de edad no existió diferencias significativas entre los tratamientos; mientras que en el día 28 se observó una diferencia significativa ($p < 0.005$) entre los tratamientos T5 y T4, alcanzando los valores más altos de 1500 g y 1405 g en comparación con el resto de tratamientos; y por último en el día 42, el tratamiento T5 se mantuvo con el mayor peso ganado de 2956 g, siendo significativamente diferente al tratamiento de Kombucha y control, lo que se observa en la Tabla 10.

Tabla 10*Análisis de los pesos (g) registrados a los 14, 28 y 42 días.*

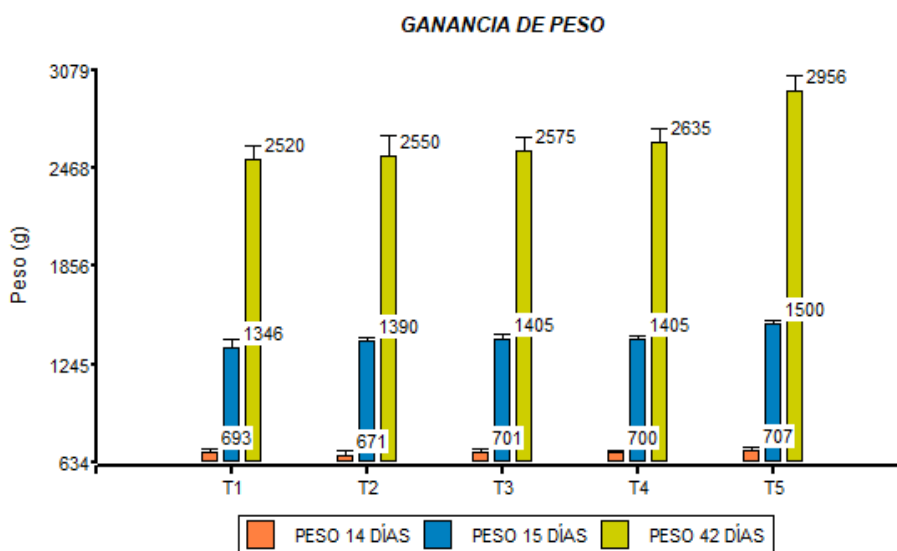
Tiempo	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T3)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T5)	SEM	<i>p</i> -valor
14 días	692,70 ^a	671,00 ^a	700,70 ^a	700,00 ^a	706,78 ^a	23.92	0.8553
28 días	1345,00 ^b	1390,00 ^b	1405,00 ^{ab}	1405,00 ^{ab}	1500,00 ^a	32.19	0.0349
42 días	2520,00 ^b	2550,00 ^b	2575,00 ^b	2635,00 ^b	2956,00 ^a	96.13	0.0230

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Como se puede observar en la Figura 7, el tratamiento de Kéfir 4% obtuvo la mayor ganancia de peso en los diferentes periodos de evaluación, seguido del tratamiento de Kéfir 2%, Kombucha 4%, Kombucha 2% y control. Por lo tanto, se puede inferir un posible efecto probiótico del Kéfir en el crecimiento de los pollos de engorde.

Figura 7

Comportamiento en el tiempo de la ganancia de peso corporal



También se calculó la ingesta de alimento en tres diferentes periodos, teniendo como resultado al aplicar el análisis de varianza que durante los primeros 14 días existió una diferencia significativa en la cantidad de balanceado consumido, siendo el mayor valor obtenido de 62.14 g/d perteneciente al tratamiento T5; los mismos resultados fueron obtenidos en los periodos de 15-28 días y de 29-42 días, donde el tratamiento T5 alcanzó respectivamente valores de 110.40 g/d y 204 g/d, como se aprecia en la Tabla 11.

Tabla 11

Análisis de los datos correspondientes al consumo de alimento (g/d)

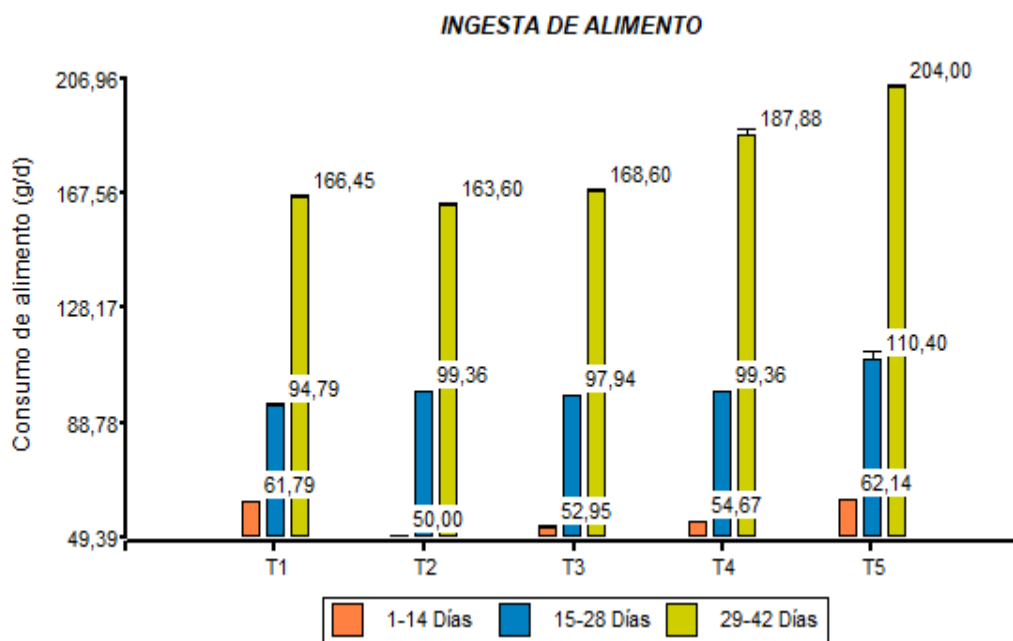
Tiempo (Días)	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T3)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T5)	SEM	p-valor
1-14	61.79 ^a	50.00 ^d	52.95 ^c	54.67 ^b	62.14 ^a	0.20	0.0001
15-28	94.79 ^c	99.36 ^b	97.94 ^{bc}	99.36 ^b	110.40 ^a	1.34	0.0001
29-42	166.45 ^{cd}	163.60 ^d	168.60 ^c	187.88 ^b	204.00 ^a	1.05	0.0001

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Como se puede observar en la Figura 8, el mayor consumo de alimento lo tiene el tratamiento de Kéfir 4%, seguido de Kéfir 2%, los tratamientos de Kombucha y el control. Por lo tanto, podemos notar que existe concordancia con los resultados de ganancia de peso.

Figura 8

Ingesta de alimento durante los diferentes períodos de experimentación



Con los datos de ganancia de peso y consumo de alimento se obtuvo el índice de conversión alimenticio, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{ICA} = \frac{\text{Ingesta diaria de alimento (g)}}{\text{Ganancia de peso corporal (g)}}$$

El índice de conversión alimenticio (Tabla 12) indica cuantos kilogramos de balanceado consumió el pollo de engorde para tener un Kilogramo de peso. Teniendo como resultado que del día 1-14 el tratamiento de Kéfir 4% y el control tuvo un ÍCA más alto que los otros grupos; el resto del período experimental no se registró diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 12

Índice de conversión alimenticio (g/g) obtenido por cada tratamiento

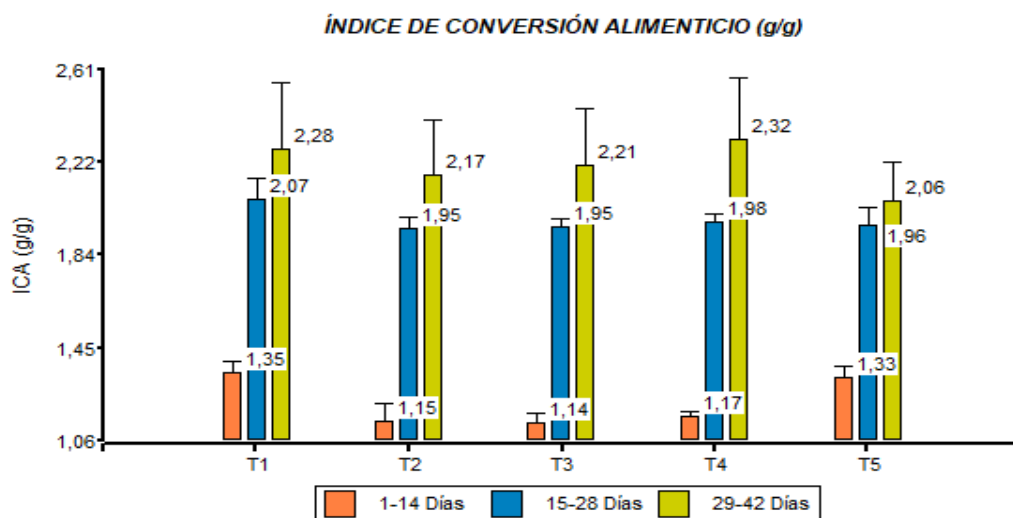
Tiempo (Días)	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T2)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T4)	SEM	p-valor
1-14	1.35 ^a	1.15 ^b	1.14 ^b	1.17 ^b	1.33 ^a	0.05	0.0020
15-28	2.07 ^a	1.95 ^a	1.95 ^a	1.98 ^a	1.96 ^a	1.34	0.5537
29-42	2.28 ^a	2.17 ^a	2.21 ^a	2.32 ^a	2.06 ^a	0.23	0.9494
1-42	1.93 ^a	1.78 ^a	1.81 ^a	1.89 ^a	1.84 ^a	0.10	0.8351

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

La Figura 9 muestra la evolución del ICA en el transcurso del tiempo; en general, se considera óptimo un índice de conversión alimenticio bajo, ya que, significa que se consumió una menor cantidad de alimento para generar un kilogramo de peso. Al analizar el gráfico se puede observar, que el tratamiento de Kéfir 4% presentó el índice de conversión más bajo a partir del día 15 hasta el final del tiempo de experimentación.

Figura 9

Índice de conversión alimenticio a los 1-14, 15-28 y 29-42 días



Un parámetro relevante en la investigación fue la ingesta de agua debido a que la administración de las bebidas fermentadas se realizó por este medio; por tanto, la cantidad de probiótico que llegue al intestino dependerá en gran parte del volumen de agua ingerido por los pollos. Después de realizar el análisis de varianza, los resultados mostraron que el consumo de agua difirió entre los tratamientos experimentales a los 1-14, 15-28 y 29-42 días ($p < 0.05$), lo que se puede observar en la Tabla 13.

Tabla 13

Ingesta de agua (mL/d) durante un período de 42 días

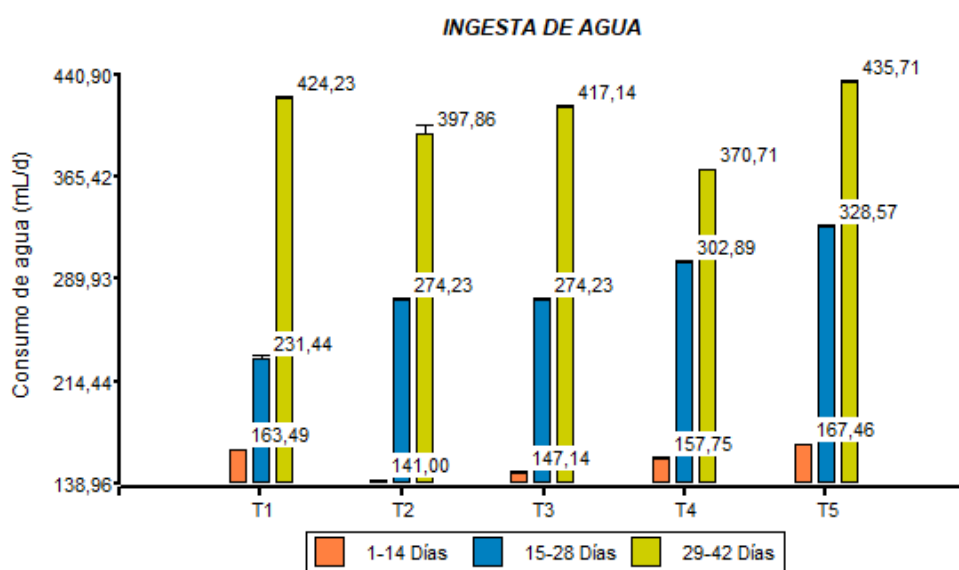
Tiempo (Días)	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T2)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T4)	SEM	<i>p</i> -valor
1-14	163,49 ^b	141,00 ^e	147,14 ^d	157,75 ^c	167,46 ^a	0.80	0.0001
15-28	231,44 ^d	274,23 ^c	274,23 ^c	302,89 ^b	328,57 ^a	1.96	0.0001
29-42	424,23 ^b	397,86 ^c	417,14 ^b	370,71 ^d	435,71 ^a	2.80	0.0001

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

De los tratamientos administrados se puede comprobar que el mayor consumo de agua ocurrió al usar Kéfir 4% con 435,71 mL/d, por lo tanto, se puede sugerir que una mayor cantidad de probiótico llegó a colonizar el intestino de los pollos, teniendo mejores resultados en el crecimiento de las aves, como se puede observar en la Figura 10.

Figura 10

Datos de la ingesta de agua a los 1-14, 15-28 y 29-42 días



Finalmente, se calculó el índice de rendimiento que relaciona la ganancia total de peso y el índice de conversión alimenticio, como se explica en la siguiente fórmula:

$$IR = \frac{\text{Ganancia de peso corporal total (g)}}{\text{Índice de conversión alimenticio final}}$$

Este parámetro nos permite tener una idea de la ganancia aproximada que el avicultor puede llegar a tener, ya que, considera la cantidad de alimento que requiere el ave para ganar un kilogramo de peso, siendo el balanceado el factor que representa los

mayores gastos durante la crianza de aves; y por otro lado involucra el peso siendo el factor que determina el ingreso de venta. Es así que mientras más alto sea el índice de rendimiento mayores serán las ganancias producidas. Una vez analizados los datos se puede conocer que no existió una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales.

Tabla 14

Análisis del Índice de rendimiento (mL/d) de los pollos de engorde

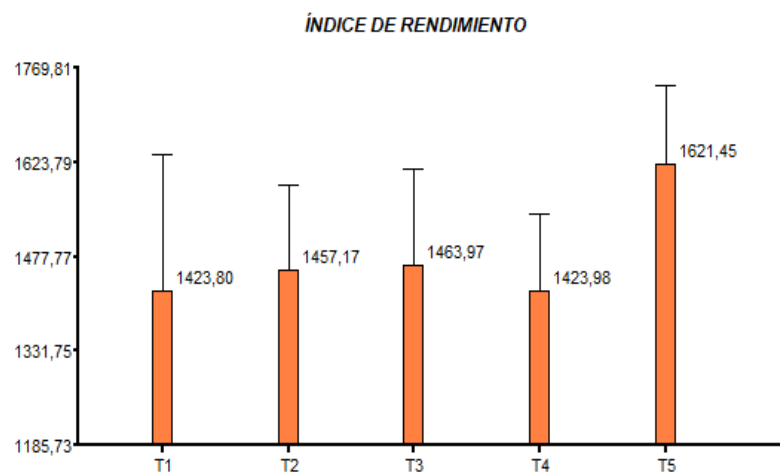
Tiempo (Días)	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T2)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T4)	SEM	p-valor
42	1423.80 ^a	1457.17 ^a	1463.97 ^a	1423.98 ^a	1621.45 ^a	150.50	0.8922

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Pero se puede mencionar que el uso de Kéfir 4% presentó el índice de rendimiento más alto con un valor de 1621,45, seguido de Kéfir 2%, los tratamientos de Kombucha y el control (Figura 11).

Figura 11

Datos del índice de rendimiento al finalizar el tiempo de experimentación



Características físicas y microbiológicas del intestino

Al cabo de 42 días, se sacrificó 4 aves de cada tratamiento y se midió el peso y la longitud de su intestino (Tabla 15). Los resultados muestran que no existió diferencias significativas en la longitud del intestino, mientras que el peso fue mayor en el tratamiento de Kéfir 2% con 69 g.

Tabla 15

Características físicas del intestino delgado de los pollos de engorde

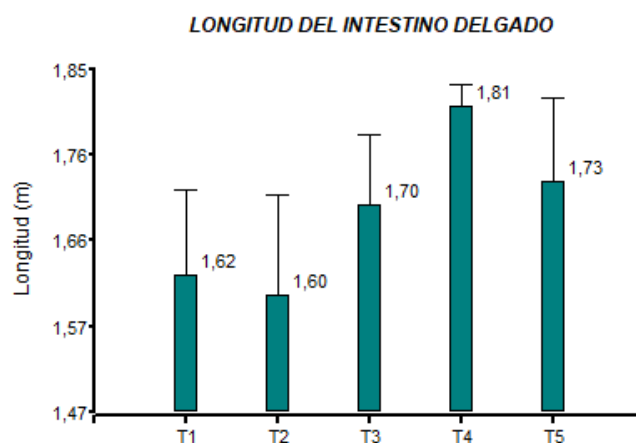
Parámetros	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T3)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T5)	SEM	p-valor
Longitud (m)	1.62 ^a	1.60 ^a	1.70 ^a	1.81 ^a	1.73 ^a	0.09	0.5258
Peso (g)	50.00 ^b	61.75 ^{ab}	61.50 ^{ab}	69.00 ^a	61.00 ^{ab}	4.52	0.1100

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Al observar la Figura 12 se puede notar que el tratamiento con mayor longitud corresponde a la dieta suplementada con Kéfir, luego se encuentra Kombucha y finalmente el control, con la longitud más baja.

Figura 12

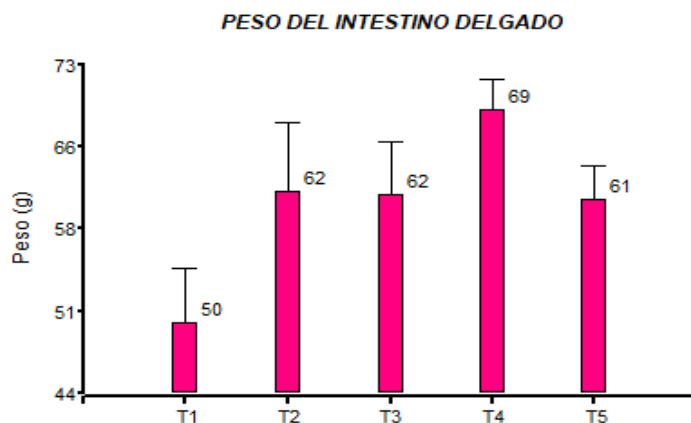
Longitud del intestino de las aves sacrificadas



En cuanto al peso, los tratamientos de Kéfir y Kombucha obtuvieron los pesos más altos en comparación con el control, como se puede ver en la Figura 13.

Figura 13

Peso del intestino de las aves sacrificadas



Se realizó el análisis microbiológico del contenido intestinal de las aves sacrificadas y se efectuó el recuento de Bacterias Ácido Lácticas (BAL) y Coliformes. Al comparar las medias de cada tratamiento se encontró que el uso de Kéfir 4% promovió una mayor colonización de bacterias probióticas ($p < 0.05$), seguido del tratamiento T2 y T4 con un recuento de 5.44 y 5.40 log UFC/mL, respectivamente. Por otro lado, no se observó una diferencia significativa en el recuento de coliformes (Tabla 16).

Tabla 16

Recuento de bacterias ácido lácticas y coliformes del intestino delgado y ciego

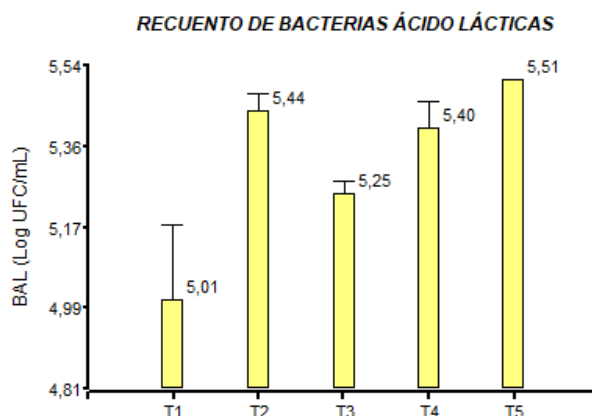
Bacterias Log UFC/ mL	Control (T1)	Kombucha 2% (T2)	Kombucha 4% (T3)	Kéfir 2% (T4)	Kéfir 4% (T5)	SEM	<i>p</i> -valor
BAL	5.01 ^b	5.44 ^a	5.25 ^b	5.40 ^a	5.51 ^a	0.08	0.0427
Coliformes	6.18 ^a	5.95 ^a	6.01 ^a	5.79 ^a	5.67 ^a	0.29	0.7674

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Como se muestra en la Figura 14, los tratamientos de Kéfir y Kombucha presentan una población más grande de BAL en comparación con el control.

Figura 14

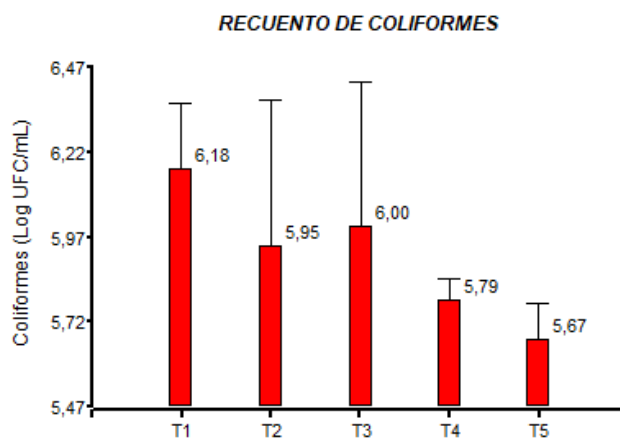
Recuento de bacterias ácido lácticas presentes en el contenido intestinal



Con respecto a las bacterias Coliformes se puede observar (Figura 15) que el control presenta un mayor recuento en comparación de los tratamientos de Kombucha y Kéfir, siendo estos últimos los que tienen el recuento más bajo. Por tanto, se puede especular que el uso de Kéfir 4% mejora la salud intestinal de pollos de engorde.

Figura 15

Recuento de Coliformes presentes en el contenido intestinal



Discusión

Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de Kombucha y Kéfir

Las bebidas de Kéfir y Kombucha se estandarizaron con base en el pH. Según la Administración de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA) se considera que un alimento es seguro y puede llegar al mercado, sin conservantes, si presenta un pH igual o inferior a 4.6 (FDA, 2011). En el caso de la bebida de Kéfir se alcanzó un pH constante de 4 a partir de las 24 horas de fermentación, este resultado va acorde a Irigoyen et al. (2005), quien menciona que el kéfir producido a partir de leche de vaca, cabra, oveja y búfalo tiene un pH de aproximadamente 4 y de Lengkey & Balia, (2014) que concluyó que el pH adecuado se encuentra aproximadamente en 3.95, además recomienda que los granos de Kéfir no deben pasar más de 48 horas en la leche debido a que corren el riesgo de morir por falta de sustrato o quedar lesionados. Por otro lado, la bebida de Kombucha tuvo un pH constante de 3 a partir del tercer día de fermentación, siendo similar a los hallazgos de Yang et al. (2010) que obtuvo valores de pH entre 2.5 a 3 con periodos cortos de fermentación. Además, Coton et al. (2017) menciona que la bebida de Kombucha generalmente tiene un pH ácido cercano a 3 pero con fermentaciones prolongadas puede disminuir a pH 2 causando defectos organolépticos. La investigación realizada por Morales (2014) sobre la optimización de la bebida de Kombucha tuvo como resultado que el pH óptimo fue de 3.06. Con respecto al almacenamiento de bebidas fermentadas, se conoce que mientras están refrigeradas, los recuentos de levaduras, bacterias ácido acéticas y bacterias ácido lácticas se mantienen constantes al igual que el pH, durante un periodo aproximado de 14 días (Irigoyen et al., 2005).

En cuanto al resto de parámetros fisicoquímicos, Kéfir presentó una densidad de 0.997 g/mL y 15.7 % de sólidos solubles, siendo resultados semejantes a los obtenidos por Arévalo & Arias, (2014) quienes obtuvieron una densidad entre 1.00 g/mL-1.04 g/mL y de Trujillo (2019) quien obtuvo 15.6 % de sólidos solubles. Asimismo, se obtuvo para la Kombucha una densidad de 0.994 g/mL, siendo un valor cercano a la densidad óptima de 1.033 g/mL propuesta por Morales (2014), con respecto a los sólidos solubles se obtuvo un porcentaje de 6.1%, valor que se encuentra dentro del rango establecido en el estudio de May et al. (2019) que va de 6-10%.

Como control de calidad de las bebidas fermentadas se consideraron los parámetros microbiológicos establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 829 (1992) para alimentos zootécnico, que establece como indicadores microbiológicos el recuento de Coliformes totales, *Salmonella* y *Shigella*, Hongos y recuento total en placa. Cumpliendo con los límites permitidos al no existir crecimiento de ningún microorganismo en el caso de la bebida de Kombucha y en el Kéfir tener valores bajo los límites establecidos para hongos y recuento total en placa. En general, el pH bajo de las bebidas puede seleccionar microbios que sean tolerantes al ácido, mientras que los competidores e invasores potenciales están excluidos o inhibidos (May et al., 2019).

Por otro lado, fue necesario realizar el recuento microbiológico de Bacterias Ácido Lácticas como de levaduras, para conocer aproximadamente el número de microorganismos probióticos viables que contiene cada bebida; según Dimidi et al. (2019), los productos fermentados contienen al menos 10^6 células microbianas por gramo, con concentraciones que varían dependiendo de la región del producto, tiempo de fermentación y el momento en que los productos se analizan o consumen. También, la Norma INEN 2395 (2011) señala la cantidad de microorganismos específicos que deben tener las leches fermentadas, en cuanto a levaduras se establece un mínimo de

4 log₁₀ UFC/mL y a bacterias un mínimo de 6 log₁₀ UFC/mL; el Kéfir al presentar 6 log₁₀ UFC/mL de levaduras y 6 log₁₀ UFC/mL de bacterias, cumple con estos requisitos. En el caso de la Kombucha se obtuvo valores de 5 log₁₀ UFC/mL de levaduras y 6 log₁₀ UFC/mL de bacterias, por lo tanto se encuentra dentro del rango de 6 - 8 log₁₀ UFC/mL que debe presentar un producto para ser considerado como probiótico (Champagne et al., 2011; Kechagia et al., 2013).

Parámetros de rendimiento

Se suministró a los pollos de engorde diferentes concentraciones de Kombucha y Kéfir, estableciéndose cinco tratamientos: T1 o control, sin suplementación de probiótico; T2 con suplementación de 2% de Kéfir, T3 con suplementación de 4% de kéfir; T4 con suplementación de 2% de Kombucha y T5 con suplementación de 4% de Kombucha; cabe mencionar que las concentraciones establecidas son valores modales basados en diferentes estudios como los realizados por: Kandir & Yardimci (2015), Mahrose et al. (2019), Murugesan et al. (2005), Toghyani et al. (2015) y Vahdatpour & Babazadeh (2016). La ruta de administración fue el agua de bebida, ya que, según (Karimi et al., 2010) y Arslan & Saatci, (2004) en dilución el tiempo de tránsito de los probióticos en el estómago es más corto, reduciendo el impacto negativo de los ácidos gástricos, secreciones digestivas y enzimas estomacales. Los resultados obtenidos mostraron que la inclusión del 4% de Kéfir produjo un mayor consumo de agua, ingesta de alimento y ganancia de peso corporal en comparación con los tratamientos de Kombucha y control; lo que va acorde a los hallazgos de Ghasemi-Sadabadi et al. (2019) quienes suministraron Kéfir, yogur y un probiótico comercial en la dieta de pollos de engorde, teniendo como resultado que el Kéfir con una concentración de 4% presentó mayor ganancia de peso corporal e ingesta de alimento. Resultados similares

se han obtenido en otras investigaciones, ya sea, empleando concentraciones más altas de 7.5% (Cenesiz et al., 2008) o más bajas de 2% (Toghyani et al., 2015). Según Chawla et al. (2013) el Kéfir ejerce un efecto positivo sobre el huésped mediante la colonización intestinal de levaduras y bacterias probióticas, las cuales al secretar enzimas (α -amilasas, proteasas, celulasas, metaloproteinasas) y ácidos orgánicos mejoran la digestión (Hosseindoust et al., 2016; Souza et al., 2018). Además, inhiben bacterias patógenas que pueden adherirse al epitelio intestinal, disminuyendo la superficie de absorción de nutrientes y secreción de enzimas digestivas; además de dañar las vellosidades y degradar la capa de moco, produciendo inflamaciones y una digestión lenta, con efectos negativos en el crecimiento del ave (Djunaidi et al., 2019). Por otro lado, se ha reportado que los probióticos aumentan la densidad de las células caliciformes del tracto gastrointestinal, responsables de la producción y preservación de la capa protectora de moco al sintetizar y secretar mucinas, es decir, se promueve la secreción de moco mejorando la función de barrera; también, se conoce que los probióticos aumentan la concentración de ácido butírico que estimula la proliferación de células epiteliales intestinales, mediante el mecanismo de alimentación cruzada donde el ácido láctico producido por BAL es consumido por bacterias productoras de ácido butírico (Harimurti et al., 2017)

En cuanto al índice de conversión alimenticio (ICA) no se obtuvieron resultados estadísticamente significativos ($p > 0.05$). Pero en general, los tratamientos de Kéfir y kombucha presentaron índices de conversión menores que el control, con valores de 1.78 a 1.84 kg de alimento/kg de peso vivo. Según Nirajan et al. (2006) el pollo de engorde moderno debe ser capaz de alcanzar un peso vivo promedio de 1.75 a 2 Kg con una relación de conversión alimenticia de 1.9 a 2.1, en el caso de esta investigación con valores menores de ICA se obtuvieron pesos de 2.5 Kg. Numerosos estudios hasta

la fecha han demostrado una mejor relación de conversión alimenticia como resultado de la aplicación de probióticos en el régimen de alimentación animal, Ghasemi-Sadabadi et al. (2019) obtuvo pollos de aproximadamente 2.4 kg con un ICA de 1.78, al suplementar Kéfir en la dieta de pollos de engorde y Souza et al. (2018) registró pollos de 2.7 kg con un ICA de 1.82, al implementar un probiótico comercial. Según Ghasemi-Sadabadi et al. (2019) las diferencias en el índice de conversión alimenticia pueden ser explicadas, porque los probióticos evitan pérdidas de energía debido a infecciones o a la digestión de compuestos complejos, mediante la inhibición de microorganismos patógenos, la secreción de enzimas endógenas y ácidos orgánicos; haciendo que la energía disponible sea empleada para la conversión de los alimentos. Sin embargo, se debe considerar que la eficacia de los probióticos en el rendimiento de las aves depende de muchos factores, como la composición y viabilidad de los microorganismos, dosis y método de administración, edad del ave y condiciones de crecimiento (Toghyani et al., 2015).

En la producción comercial de pollos de engorde e investigaciones sobre su crecimiento, se requiere evaluar el índice de rendimiento siendo un indicador del nivel de ganancias que podría obtener el criador (Sanmorino & Gustriansyah, 2017). En este estudio los resultados obtenidos muestran que el Tratamiento de Kéfir 4% presentó el índice de rendimiento más alto con un valor de 1621.45; según Khosravi et al. (2012) obtuvo una mejora en el rendimiento del crecimiento al suministrar probióticos en la dieta de las aves, esto se debería a la regulación de la microbiota gastrointestinal, produciendo un aumento en el consumo y digestibilidad de la dieta (Souza et al., 2018). Además, se conoce que los probióticos estimulan el intestino aumentando la altura de las vellosidades para una mayor secreción de enzimas digestivas endógenas y absorción de nutrientes (Shokryazdan et al., 2017).

Diversas investigaciones han informado que las poblaciones de bacterias ácido lácticas y levaduras pueden generar cambios en la morfología intestinal, ya sea, en la longitud del intestino o en la altura de las vellosidades, mediante el incremento de la tasa de renovación epitelial y el espaciamiento celular (Reis et al., 2012; Toghyani et al., 2015); lo que explicaría los resultados obtenidos en esta investigación, donde los tratamientos de Kéfir y Kombucha mostraron un mayor peso y longitud que el control. Por otra parte, aunque la renovación y proliferación celular es constante puede verse afectada por la acción de enteropatógenos que lastiman el tejido epitelial y la mucosa mediante la secreción de enterotoxinas (Souza et al., 2018).

Características físicas y microbiológicas del intestino

Con respecto al análisis microbiológico del contenido intestinal, se empleó para el recuento de BAL, el medio de cultivo diferencial y selectivo MRS, dando como resultado que la mayor población de bacterias ácido lácticas se consiguió al incluir 4% de Kéfir en la dieta de pollos de engorde ($p < 0.05$) Según Ashman & Krishnamurthy (2019) y Toghyani et al. (2015) el mayor efecto probiótico del Kéfir puede ser explicado por la presencia de lactosa en la leche, que al ser un prebiótico natural, produce una alta tasa de fermentación y mayor riqueza microbiana.

Por otra parte, al realizar el recuento de bacterias coliformes, las cuales en medio MKL se observan como colonias de color rosado a rojizo (Becton, 2014), no se encontraron diferencias significativas. Se conoce que los coliformes representan entre el 60% y el 65% de la población microbiana total del tracto digestivo, siendo *Escherichia coli*, *Compylobacter jejuni* y *Clostridium perfringens* relevantes para los avicultores, al causar mortalidad en los pollos y traer pérdidas económicas (Mehdi et al., 2018). Los resultados obtenidos en esta investigación, están parcialmente de acuerdo con Fajardo

et al. (2012) quienes al suplementar la dieta de las aves con *Lactobacillus*, observaron cambios en la población intestinal de lactobacilos, más no en la de bacterias coliformes; lo que pudo deberse al hecho de que cuando un patógeno coloniza el intestino de una ave, puede infectar a las demás mediante transmisión horizontal a través del contacto con las heces; con base en lo mencionado, se infiere que las condiciones de manejo aplicadas influyeron en el resultado obtenido debido a que el material de las camas que contenía desechos fecales, pudo mezclarse al momento de ampliar el espacio de cada tratamiento; además se ha registrado que las bacterias persisten en las heces de los animales hasta por 60 días, y que pueden propagarse fácilmente de los pollos de engorde a los pollos criollos e incluso a las personas que tengan proximidad a los animales (Harimurti et al., 2017).

Por otro lado, Souza et al. (2019) menciona que la acción de los probióticos dependerá de la cantidad de bacterias viables administradas de forma oral, es así que al reducirse el número o la viabilidad de los microorganismos también se reducirá el efecto de los probióticos; en el presente estudio cuando los pollos alcanzaron la última etapa de crecimiento empezaron a virar los contenedores de agua, lo que resultó en una disminución de la cantidad de probiótico suministrado y adicionalmente ocasionó que las camas se humedecieran creando un ambiente óptimo para la proliferación de bacterias patógenas localizadas en las heces (Soliman et al., 2018).

Conclusiones

- Se estableció un pH estándar de 4 con un tiempo de fermentación de 2 días para la bebida de Kéfir y un pH estándar de 3 con un tiempo de fermentación de 3 días para Kombucha.
- Se determinó una densidad de 0.997 g/mL y 15.7 % de sólidos solubles para Kéfir y una densidad de 0.994 g/mL y 6.1 % de sólidos solubles para Kombucha.
- Las pruebas microbiológicas indicaron que Kéfir contiene 6.29 log UFC/ mL de bacterias ácido lácticas y 6.26 UFC/mL de levaduras, mientras que Kombucha contiene 6.90 log UFC/ mL de bacterias ácido lácticas y 5.00 log UFC/mL de levaduras.
- Se verificó que las bebidas fermentadas se encuentran dentro de los parámetros de calidad establecidos en la Norma INEN 1 829 de Alimentos Zootécnicos para pollos de engorde, al cumplir con los límites establecidos para coliformes, *Salmonella* y *Shigella*, Hongos y recuento total.
- Los parámetros de rendimiento mostraron que la ganancia de peso corporal, ingesta de alimento y consumo de agua fue mayor al incluir Kéfir 4% en el agua de bebida de pollos de engorde, seguido de Kéfir 2%, Kombucha 4%, Kombucha 2% y control.
- El uso de Kéfir 4%, Kombucha 2% y Kéfir 2% produjo los mayores recuentos de BAL, en el intestino delgado y ciego, al presentar respectivamente 5.51, 5.44 y 5.40 log UFC/mL; sin embargo, no se encontró diferencias significativas en los recuentos de bacterias coliformes. En cuanto a las características físicas del intestino delgado el tratamiento con Kéfir 2% obtuvo el mayor peso (69 g) y longitud (1,81 m).

Recomendaciones

- Suplementar a la dieta de pollos Broiler, concentraciones mayores al 4%, ya sea de Kéfir o Kombucha, para mejorar los resultados obtenidos.
- Evaluar el efecto probiótico en conjunto de las bebidas de Kombucha y Kéfir en el crecimiento de pollos Broiler, aplicando diferentes concentraciones.
- Realizar la identificación microbiológica del contenido intestinal para confirmar su poder antimicrobiano de las bebidas de Kombucha y Kéfir, contra enteropatógenos.
- Analizar las heces de pollos de engorde en los días 1, 14, 28 y 42, para conocer los cambios que ocurren en la flora intestinal al administrar los tratamientos.
- Comparar el efecto de Kéfir y de un probiótico comercial en el crecimiento y salud intestinal de pollos Broiler.
- Emplear jaulas para pollos de engorde, que contenga comederos y bebederos a los costados, con lo que se evitará cualquier desperdicio de comida o bebida.

Bibliografía

- Adhikari, B., & Kwon, Y. M. (2017). Characterization of the culturable subpopulations of *Lactobacillus* in the chicken intestinal tract as a resource for probiotic development. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUL). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01389>
- Afsharmanesh, M., & Sadaghi, B. (2014). Effects of dietary alternatives (probiotic, green tea powder, and Kombucha tea) as antimicrobial growth promoters on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and immune response of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, 23(3), 717-724. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1676-x>
- Agazzi, A. (2015). The Beneficial Role of Probiotics in Monogastric Animal Nutrition and Health. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 2(4). <https://doi.org/10.15406/jdvar.2015.02.00041>
- Agrocalidad. (2019). *Agrocalidad prohíbe el uso del antibiótico colistina en animales*. Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario. <https://www.agrocalidad.gob.ec/?p=32074>
- Al-Khalaifa, H., AL-Nasser, A., Al- Surayee, T., Al-Kandari, S., Al-Enzi, N., Al-Sharrah, T., & Ragheb, G. (2019). Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens. *Poultry Science*, *In Press*(10). <https://doi.org/10.3382/ps>
- Alayande, K. A., Aiyegoro, O. A., & Ateba, C. N. (2020). Probiotics in animal husbandry: Applicability and associated risk factors. *Sustainability (Switzerland)*, 12(3), 1-12. <https://doi.org/10.3390/su12031087>

- Apajalahti, J., & Kettunen, A. (2006). Microbes of the chicken gastrointestinal tract. En *Avian Gut Function in Health and Disease* (Vol. 28, pp. 107-123).
<https://doi.org/10.1079/9781845931803.0124>
- Arbor Acres. (2009). *Guía de Manejo del Pollo de Engorde*.
http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/smA-Acres-Guia-de-Manejo-del-Pollo-Engorde-2009.pdf
- ARCSA. (2018). *Normativa Sanitaria Control De Medicamentos*.
- Arévalo, F., & Arias, G. (2014). Estudio de la velocidad de agitación en la producción de biomasa de granos de kéfir. *Ciencia e Investigación*, 17(1), 16-20.
- Arkan, M., Mitchell, A. L., Finn, R. D., & Gürel, F. (2020). Microbial composition of Kombucha determined using amplicon sequencing and shotgun metagenomics. *Journal of Food Science*, 85(2), 455-464. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14992>
- Arrazola, A., Mosco, E., Widowski, T. M., Guerin, M. T., Kiarie, E. G., & Torrey, S. (2019). The effect of alternative feeding strategies for broiler breeder pullets: 1. Welfare and performance during rearing. *Poultry Science*, 98(9), 3377-3390.
<https://doi.org/10.3382/ps/pez170>
- Arslan, C., & Saatci, M. (2004). Effects of probiotic administration either as feed additive or by drinking water on performance and blood parameters of Japanese quail. *Archiv fur Geflugelkunde*, 68(4), 160-163.
https://www.researchgate.net/publication/283614011_Effects_of_probiotic_administration_either_as_feed_additive_or_by_drinking_water_on_performance_and_blood_parameters_of_Japanese_quail

- Ashman, S., & Krishnamurthy, H. (2019). The gut microbiome. En *Effects of Lifestyle on Men's Health* (pp. 61-98). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816665-9.00004-4>
- Avesca. (2019). *NutrAvan*. <https://www.avesca.com.ec/nutravan/>
- Ballou, M. A., Davis, E. M., & Kasl, B. A. (2019). Nutraceuticals: An Alternative Strategy for the Use of Antimicrobials. En *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* (Vol. 35, Número 3, pp. 507-534). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.08.004>
- Barros, M. (2018). *Uso de probióticos en la alimentación de pollos Broiler con diferente porcentaje de inclusión* [Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16316/1/UPS-CT007940.pdf>
- Becton, D. (2014). *BD MacConkey II Agar USO PREVISTO*. <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
- Behnamifar, A. R., Rahimi, S., Kiaei, M. M., & Fayazi, H. (2019). Comparison of the effect of probiotic, prebiotic, salinomycin and vaccine in control of coccidiosis in broiler chickens. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 20(1), 51-54. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31191700>
- Bergmann, R. S. de O., Pereira, M. A., Veiga, S. M. O. M., Schneedorf, J. M., Oliveira, N. de M. S., & Fiorini, J. E. (2010). Perfil microbiológico de preparações de uma amostra de quefir - grãos in natura, liofilizado e suspensão fermentada. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 1022-1026. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400029>

- Bird, H. R. (1955). "performance index" of growing chickens. *Poultry Science*, 34(5), 1163-1164.
- Braykov, N. P., Eisenberg, J. N. S., Grossman, M., Zhang, L., Vasco, K., Cevallos, W., Muñoz, D., Acevedo, A., Moser, K. A., Marrs, C. F., Foxman, B., Trostle, J., Trueba, G., & Levy, K. (2016). Antibiotic Resistance in Animal and Environmental Samples Associated with Small-Scale Poultry Farming in Northwestern Ecuador. *mSphere*, 1(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00021-15>
- Carvalho, I. T., & Santos, L. (2016). Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International*, 94, 736-757.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.06.025>
- Cenesiz, S., Yaman, H., Ozcan, A., Kart, A., & Karademir, G. (2008). Effects of kefir as a probiotic on serum cholesterol, total lipid, aspartate amino transferase and alanine amino transferase activities in broiler chicks. *Medycyna Weterynaryjna*, 64(2), 168-170.
- Champagne, C., Ross, R., Saarela, M., Flemming, H., & Charalampopoulos, D. (2011). Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 149(3), 185-193.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160511003795>
- Chawla, S., Katoch, S., Sharma, K., & Sharma, V. (2013). Biological response of broiler supplemented with varying dose of direct fed microbial. *Vet World*, 521-524.
<https://doi.org/doi:10.5455/vetworld.2013.521-524>

- Chen, T., Wang, S., Chen, K., Liu, J., & Chen, M. (2009). Microbiological and chemical properties of kefir manufactured by entrapped microorganisms isolated from kefir grains. *American Dairy Science Association*, 92(7), 3004.
<https://doi.org/10.3168/jds.2008-1669>
- Cheng, F.-S., Pan, D., Chang, B., Jiang, M., & Sang, L.-X. (2020). Probiotic mixture VSL#3: An overview of basic and clinical studies in chronic diseases. *World Journal of Clinical Cases*, 8(8), 1361-1384. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v8.i8.1361>
- Chicaiza, M. (2014). *Formulación de un suplemento bajo en calorías a partir de harina de quinua (Chenopodium quínoa), leche en polvo y stevia (Rebaudina bertonii) como edulcorante. [Tesis de Grado]*. Universidad Técnica de Ambato.
- Chifiriuc, M. C., Cioaca, A. B., & Lazar, V. (2011). In vitro assay of the antimicrobial activity of kephir against bacterial and fungal strains. *Anaerobe*, 17(6), 433-435.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.04.020>
- CORPOICA. (2007). Manual: Buenas Prácticas Agropecuarias –BPA- en la Producción de Ganado Doble Propósito Bajo Confinamiento, con Caña Panelera como Parte de la Dieta. En *Eltiempo.Com*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(5). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>
- Dimidi, E., Cox, S., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented Foods : Definitions and

Characteristics , Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, 11(1806), 26.

<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nu11081806>

Djunaidi, I. H., Natsir, M. H., Nuningtyas, Y. F., & Yusrifar, M. (2019). The Effectiveness of Biacid (Organic Acid and Essential Oil) as Substitute for Antibiotics on Ileal Characteristics of Broilers. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 478, 12073. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/478/1/012073>

Durst, D., & Wake, G. (2007). Química orgánica experimental -. En *Reverté S. A.*

<https://books.google.ec/books?id=xiqTfEO1a2gC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

El-Kholy, M. S., El-Hindawy, M. M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., & El-Sayed, S. A. A. (2018). Use of acetylsalicylic acid as an allostatic modulator in the diets of growing Japanese quails exposed to heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 74, 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.02.011>

El Heraldó. (2020, febrero 28). *El sector avícola en números*.

<https://www.elheraldo.com.ec/el-sector-avicola-en-numeros/>

Espinoza, I., Báez, M., Hernández, R., López, Y., Lobo, E., & Corona, B. (2019).

Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. *Revista de Salud Animal*, 41(3).

<http://opn.to/a/6fQBe>

Fajardo, P., Pastrana, L., Méndez, J., Rodríguez, I., Fuciños, C., & Guerra, N. P. (2012).

Effects of Feeding of Two Potentially Probiotic Preparations from Lactic Acid Bacteria on the Performance and Faecal Microflora of Broiler Chickens. *The*

Scientific World Journal, 2012, 562635. <https://doi.org/10.1100/2012/562635>

FAO, & WHO. (2006). Probiotics in food. En *Food and Nutrition Paper* (Vol. 85).

Farag, M. A., Jomaa, S. A., El-wahed, A. A., & El-seedi, H. R. (2020). The many faces of kefir fermented dairy products: Quality characteristics, flavour chemistry, nutritional value, health benefits, and safety. En *Nutrients* (Vol. 12, Número 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12020346>

FDA. (2011). *What You Need to Know About the FDA Regulation : Current Good Manufacturing Practice , Hazard Analysis , and Risk-Based Preventive Controls for Human Food (21 CFR Part 117) : Guidance for Industry Small Entity Compliance Guide. October 2016.*
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm253380.htm> or <http://www.regulations.gov>

Ferrari, O. (2016). *Plan de suplementación - Agritotal.*
<https://www.agritotal.com/nota/para-planificar-un-planteo-de-suplementacion/>

Forte, C., Acuti, G., Manuali, E., Proietti, P., Pavone, S., Trabalza, M., Moscati, L., Onofri, A., Lorenzetti, C., & Franciosini, M. (2016). Effects of two different probiotics on microflora, morphology, and morphometry of gut in organic laying hens. *Poultry Science*, 95, pew164. <https://doi.org/10.3382/ps/pew164>

Fortune Business Insight. (2019). *Probiotics in Animal Feed Market Size | Global Report 2026.* <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/probiotics-in-animal-feed-market-101018>

Friedmann, A., & Weil, B. (2010). Producción avícola, negocio en crecimiento. *Paraguay*

Vende, 60.

https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/produccion_avicola.pdf

Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D. S., Jakobsen, R. R., Castro-Mejía, J. L., Bosi, S., Truzzi, F., Musumeci, F., Dinelli, G., & Di Gioia, D. (2019). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients*, *11*(1).

<https://doi.org/10.3390/nu11010001>

Ghasemi-Sadabadi, M., Ebrahimnezhad, Y., Shaddel-Tili, A., Bannapour-Ghaffari, V., Kozehgari, H., & Didehvar, M. (2019). The effects of fermented milk products (kefir and yogurt) and probiotic on performance, carcass characteristics, blood parameters, and gut microbial population in broiler chickens. *Archives Animal Breeding*, *62*(1), 361-374. <https://doi.org/10.5194/aab-62-361-2019>

Gil, J., Storch, O., & Gil-turnes, C. (2005). *Bacillus cereus* var. *toyooii* and *Saccharomyces boulardii* increased feed efficiency in broilers infected with *Salmonella enteritidis*. *British Poultry Science*, *46*(4), 494-497.

<https://doi.org/10.1080/00071660500181461>

González, K. (2018). *Desinfección del galpón pollos de engorde*. *Zootecnia y veterinaria*. <https://zoovetesmpasion.com/avicultura/pollos/desinfeccion-de-galpones-de-pollos/>

Grand View Research. (2019). *Probiotics Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Food & Beverages, Dietary Supplements), By Ingredient (Bacteria, Yeast), By End Use, By Distribution Channel, And Segment Forecasts, 2019 - 2025*. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/probiotics-market>

- Grond, K., Sandercock, B. K., Jumpponen, A., & Zeglin, L. H. (2018). The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. *Journal of Avian Biology*, 49(11), e01788. <https://doi.org/10.1111/jav.01788>
- Gul, O., Mortas, M., Atalar, I., Dervisoglu, M., & Kahyaoglu, T. (2015). Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1517-1525. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8755>
- Harimurti, S., Sonia, M., Pradipta, I., Priyono, A., & Hadisaputro, W. (2017). The Effect of Encapsulated Indigenous Probiotics Bacteria Supplementation on Broiler Gut Health. *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/publication/321727078_The_Effect_of_Encapsulated_Indigenous_Probiotics_Bacteria_Supplementation_on_Broiler_Gut_Health
- Hosseindoust, A., Park, J. W., & Kim, I. H. (2016). Effects of Bacillus subtilis, Kefir and β -Glucan Supplementation on Growth Performance, Blood Characteristics, Meat Quality and Intestine Microbiota in Broilers. *Korean Journal of Poultry Science*, 43(3), 159-167. <https://doi.org/10.5536/kjps.2016.43.3.159>
- Illana, C. (2007). The fungi Kombucha. *Bol. Soc. Micol. Madrid*, 31, 269-272. <http://www.kombu.de/spanish.htm>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1992). *Alimentos Zootecnicos. Compuestos para pollos de engorde. Requisitos. (NTE INEN 1829:1992)*. Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1829.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1999). *Control microbiológico de los alimentos*

toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico. (NTE INEN 1529-2:1999). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-2.pdf>

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2011a). *Leches fermentadas. Requisitos.* (NTE INEN 2395:2011). Instituto Ecuatoriano de Normalización.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2011b). *Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 3. Requisitos para declaraciones nutricionales y declaraciones saludables.* (NTE INEN 1334-3:2011) (Vol. 3). https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/07/ec.nte_.1334.3.2011.pdf

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2016). *Complementos nutricionales. Requisitos.* (NTE INEN 2983:2016). Instituto Ecuatoriano De Normalización. https://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_2983.pdf

Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., & Ibáñez, F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4), 613-620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.021>

Ismail, A. A., Ghaly, M. F., & El-Naggar, A. K. (2011). Some physicochemical analyses of kefir produced under different fermentation conditions. En *PHYSICOCHEMICAL ANALYSES OF KEFIR PRODUCED UNDER DIFFERENT FERMENTATION CONDITIONS Journal of Scientific & Industrial Research* (Vol. 70).

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. En *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*

Safety (Vol. 13, Número 4, pp. 538-550). Blackwell Publishing Inc.

<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>

Jung, Y., Kim, I., Mannaa, M., Kim, J., Wang, S., Park, I., Kim, J., & Seo, Y.-S. (2019).

Effect of Kombucha on gut-microbiota in mouse having non-alcoholic fatty liver disease. *Food Science and Biotechnology*, 28(1), 261-267.

<https://doi.org/10.1007/s10068-018-0433-y>

Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of kombucha obtained from green, oolong and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms*, 7(12).

<https://doi.org/10.3390/microorganisms7120700>

Kamp Kombucha. (2013). *pH & Kombucha - Kombucha Kamp*.

<https://www.kombuchakamp.com/ph-kombucha-alkaline-acid-balance>

Kandir, E. H., & Yardimci, M. (2015). Effects of Kefir on Growth Performance and

Carcass Characteristics in Pekin Ducks (*Anas platyrhynchos domestica*) . *Journal of Animal Research*, 5(2), 207. <https://doi.org/10.5958/2277-940x.2015.00035.2>

Kanurić, K. G., Milanović, S. D., Ikonić, B. B., Lončar, E. S., Iličić, M. D., Vukić, V. R., &

Vukić, D. V. (2018). Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(4), 1229-1234.

<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.02.002>

Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70.

<https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>

- Karimi, M., Moghaddam, A., Rahimi, S., & Mojangani, N. (2010). Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *British poultry science*, *51*, 178-184.
<https://doi.org/10.1080/00071661003753756>
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., & Fakiri, E. M. (2013). Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition*, *2013*, 1-7. <https://doi.org/10.5402/2013/481651>
- Keif Organics. (2019). *Keif Organics – Probióticos 100% Naturales – Kefir – Quito, Ecuador*. Keif Organics. <https://keiforganics.com/>
- Kent, A. D., Smith, D. J., Benson, B. J., & Triplett, E. W. (2003). Web-Based Phylogenetic Assignment Tool for Analysis of Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profiles of Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(11), 6768 LP - 6776. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6768-6776.2003>
- Khosravi, A., Boldaji, F., Dastar, B., & Hasani, S. (2012). Comparison of broiler performance and carcass parameters when fed diets containing a probiotic, an organic acid or antibiotic growth promoter. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, *7*(4), 318-325. <https://doi.org/10.3923/ajava.2012.318.325>
- Koh, W. Y., Utra, U., Ahmad, R., Rather, I. A., & Park, Y. H. (2018). Evaluation of probiotic potential and anti-hyperglycemic properties of a novel *Lactobacillus* strain isolated from water kefir grains. *Food Science and Biotechnology*, *27*(5), 1369-1376. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0360-y>

- Kukso, F. (2016). Para 2050 la resistencia a los antibióticos será la principal causa de muerte. *Scientific American (Español)*, 26 de julio del 2016.
<https://www.scientificamerican.com/espanol/noticias/para-2050-la-resistencia-a-los-antibioticos-sera-la-principal-causa-de-muerte/>
- Kulshreshtha, G., Hincke, M. T., Prithviraj, B., & Critchley, A. (2020). A Review of the Varied Uses of Macroalgae as Dietary Supplements in Selected Poultry with Special Reference to Laying Hen and Broiler Chickens. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(7), 536. <https://doi.org/10.3390/jmse8070536>
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment. *Chemosphere*, 75(4), 417-434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Landy, N., & Kavyani, A. (2013). Effects of using a Multi-Strain Probiotic on Performance, Immune Responses and Cecal Microflora Composition in Broiler Chickens Reared Under Cyclic Heat Stress Condition. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 3, 703-708. http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_513433.html
- Leech, J., Cabrera-Rubio, R., Walsh, A., Macori, G., Walsh, C., Barton, W., Finnegan, L., Crispie, F., O'Sullivan, O., Claesson, M., & Cotter, P. (2020). Fermented food metagenomics reveals substrate-associated differences in taxonomy, health-associated- and antibiotic resistance-determinants. *bioRxiv*.
<https://doi.org/10.1101/2020.03.13.991653>
- Leite, A. M. de O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: A natural probiotic beverage. En *Brazilian Journal of Microbiology* (Vol. 44, Número 2, pp. 341-349). Sociedade Brasileira de

Microbiologia. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200001>

- Lengkey, H. A. W., & Balia, R. L. (2014). The effect of starter dosage and fermentation time on pH and lactic acid production. *Biotechnology in Animal Husbandry/Biotehnologija u stocarstvu*, 30(2), 339-347. <https://doi.org/10.2298/bah1402339l>
- Li, S. P., Zhao, X. J., & Wang, J. Y. (2009). Synergy of Astragalus polysaccharides and probiotics (*Lactobacillus* and *Bacillus cereus*) on immunity and intestinal microbiota in chicks. *Poultry Science*, 88(3), 519-525. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00365>
- Liguoro, M., Cibir, V., Capolongo, F., Halling-Sørensen, B., & Montesissa, C. (2003). Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: Evaluation of transfer to manure and soil. *Chemosphere*, 52(1), 203-212. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00284-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00284-4)
- López, F. (2020, abril 24). El pollo nuestro de cada día: los impactos de la industria de la carne en el Ecuador. *Plan V*. <https://www.planv.com.ec/investigacion/investigacion/el-pollo-nuestro-cada-dia-impactos-la-industria-la-carne-el-ecuador>
- Mahrose, K. M., Elhack, M. E. A., Mahgoub, S. A., & Attia, F. A. M. (2019). Influences of stocking density and dietary probiotic supplementation on growing Japanese quail performance. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 91(2), e20180616. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180616>
- Manafi, M., Hedayati, M., Pirany, N., & Apeh, A. (2019). Comparison of performance and feed digestibility of the non-antibiotic feed supplement (Novacid) and an antibiotic

growth promoter in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(2), 904-911.

<https://doi.org/10.3382/ps>

Market Research Future. (2020). *Feed Supplements Market Global Information by Type (Protein, Vitamin, Amino Acid, Fatty Acid, Minerals and others), Form (Dry, Liquid and others), Livestock (Ruminants, Poultry, Swine, Aquaculture and others) and Region Forecast till 2023*. <https://www.marketresearchfuture.com/reports/feed-supplements-market-4637>

Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171-178.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>

May, A., Medina, J., Alcock, J., Maley, C., & Aktipis, A. (2017). Kombucha as a model system for multispecies microbial cooperation: theoretical promise, methodological challenges and new solutions 'in solution'. *bioRxiv*, 214478.

<https://doi.org/10.1101/214478>

May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., & Aktipis, A. (2019).

Kombucha: A novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ*, 2019(9), 1-22.

<https://doi.org/10.7717/peerj.7565>

Mehdi, Y., Létourneau-Montminy, M. P., Gaucher, M. Lou, Chorfi, Y., Suresh, G., Rouissi, T., Brar, S. K., Côté, C., Ramirez, A. A., & Godbout, S. (2018). Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. En *Animal Nutrition* (Vol. 4, Número 2, pp. 170-178). KeAi Communications Co.

<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.03.002>

Monar, M., Dávalos, I., Zapata, S., Caviedes, M., & Ramírez-Cárdenas, L. (2014).

Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 6(1).

<https://doi.org/10.18272/aci.v6i1.160>

Morales, L. (2014). *Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de Manchurian fungus (Kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional [Tesis de Grado]* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3422/1/56T00441.pdf>

Mordor Intelligence. (2019). *Feed Supplements Market - Global Trends, Industry Analysis, Forecasts to 2024*. Mordor Intelligence.

<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-feed-supplements-market-industry>

Mordor Intelligence. (2020). *Global Probiotics Market | Growth | Trends | Forecast*.

Mordor Intelligence. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/probiotics-market>

Mountzouris, K., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Fegeros, K.

(2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities.

Poultry science, 86(2). <https://doi.org/10.1093/PS/86.2.309>

- Mukherjee, P. (2019). Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs. En *Elsevier*.
https://books.google.com.ec/books?id=ReGaDwAAQBAJ&pg=PA133&lpg=PA133&dq=INCUBATION+for+5+days+OF++FUNGI+IN+THE+SABOURAUD+MEDIUM&source=bl&ots=gWRpH4KVE4&sig=ACfU3U0UnJJ5vyq_uCjW_ao6Pys2BmM5lg&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiT26Kuz6_qAhVtg-AKHS7SBboQ6AEwDnoECAkQAQ#
- Murugesan, G. S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2005). Supplementation of waste tea fungal biomass as a dietary ingredient for broiler chicks. *Bioresource Technology*, 96(16), 1743-1748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.006>
- Mwangi, S., Timmons, J., Ao, T., Paul, M., Macalintal, L., Pescatore, A., Cantor, A., Ford, M., & Dawson, K. A. (2017). Effect of zinc imprinting and replacing inorganic zinc with organic zinc on early performance of broiler chicks. *Poultry Science*, 96(4), 861-868. <https://doi.org/10.3382/ps/pew312>
- Nejati, F., Junne, S., & Neubauer, P. (2020). A big world in small grain: A review of natural milk Kefir starters. En *Microorganisms* (Vol. 8, Número 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020192>
- Neves, D. P., Banhazi, T. M., & Nääs, I. A. (2014). Feeding behaviour of broiler chickens: A review on the biomechanical characteristics. En *Revista Brasileira de Ciencia Avicola* (Vol. 16, Número 2, pp. 1-16). Fundacao APINCO de Ciencia e Tecnologia Avicolas. <https://doi.org/10.1590/1516-635x16021-16>
- Nguyen, N. K., Dong, N. T. N., Nguyen, H. T., & Le, P. H. (2015). Lactic acid bacteria: promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha. *SpringerPlus*, 4, 91. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0872-3>

- Nirajan, M., Singh, N., Sharma, R., & Bujarbaruah, K. (2006). *Broiler production technology for new region*. [http://www.tripuraicar.nic.in/publication/AGRICULTURE 02/BROILER PRODUCTION TECHNOLOGY FOR NEW REGION.pdf](http://www.tripuraicar.nic.in/publication/AGRICULTURE%20/BROILER%20PRODUCTION%20TECHNOLOGY%20FOR%20NEW%20REGION.pdf)
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2016). *El Plan de acción de la FAO sobre la resistencia a los antimicrobianos 2016-2020*.
- Organización Panamericana de la Salud-Ecuador. (2019). *Lanzamiento del Plan Nacional de prevención y control de la resistencia antimicrobiana (RAM) 2019-2023 de Ecuador*. OPS.
https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=2303:lanzamiento-del-plan-nacional-de-prevencion-y-control-de-la-resistencia-antimicrobiana-ram-2019-2023-de-ecuador&Itemid=360
- Pais, J., Nuñez, J., & Cuaran, J. (2019). (PDF) Proceso a escala de laboratorio para la producción de kefir a partir de suero y gránulos de kéfir. *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/330598577_Lab_scale_process_for_the_kefir_production_from_whey_and_kefir_granules
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. En *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 52, Número 12, pp. 7577-7587). Springer India. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Patterson, J. A., & Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82(4), 627-631.
<https://doi.org/10.1093/ps/82.4.627>
- Pinar, U., Devrim, V., Omer, S., Umair, A., Aykut, U., Onur, T., Bekir, K., & Ozcan, C.

- (2015). Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. *Poultry Science, In Press*(10), 4020. <https://doi.org/10.3382/ps>
- Pineda, C., Borda, D., Chaves, D., Ruiz, R., Atxaerandio, R., Camarinha, A., & García, A. (2019). Microbial and functional profile of the ceca from laying hens affected by feeding prebiotics, probiotics, and synbiotics. *Microorganisms, 7*(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050123>
- Pizzabiocca, A. (2019). *Higiene del Galpón: Limpieza y Desinfección para tener Éxito con Pollos de Engorde*. BM editores. <https://bmeditores.mx/avicultura/higiene-del-galpon-limpieza-y-desinfeccion-para-tener-exito-con-pollos-de-engorde-2068/>
- Plaza, J. (2019). *Proceso de elaboración del kéfir y su aplicación gastronómica* [Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/32166/1/Trabajo de Titulación.pdf>
- Prabakaran, R. (2003). Good practices in planning and management of integrated commercial poultry production in South Asia. En *Good practices in planning and management of integrated commercial poultry production in South Asia*. FAO.
- Productor Agropecuario. (2017). *Antibióticos en la producción de pollos: así buscan sustituirlos*. Revista ProAgro. <https://revistaproagro.com/antibioticos-en-la-produccion-de-pollos-asi-buscan-sustituirlos/>
- Rainard, P., & Foucras, G. (2018). A critical appraisal of probiotics for mastitis control. En *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 5, Número OCT). Frontiers Media S.A.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00251>

Reis, T., Landín, G., Escobar, K., Barreyro, A., & Barrónt, M. (2012). Cambios nutrimentales en el lechón y desarrollo morfofisiológico de su aparato digestivo. En *Veterinaria México* (Vol. 43, pp. 155-173). scielomx.

Sabo, S. da S., Mendes, M. A., Araújo, E. da S., Muradian, L. B. de A., Makiyama, E. N., LeBlanc, J. G., Borelli, P., Fock, R. A., Knöbl, T., & Oliveira, R. P. de S. (2020). Bioprospecting of probiotics with antimicrobial activities against *Salmonella* Heidelberg and that produce B-complex vitamins as potential supplements in poultry nutrition. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64038-9>

Sanders, M. E. (2008). Probiotics: Definition, Sources, Selection, and Uses. *Clinical Infectious Diseases*, *46*(s2), S58-S61. <https://doi.org/10.1086/523341>

Sanmorino, A., & Gustriansyah, R. (2017). The Toolkit of Success Rate Calculation of Broiler Harvest. *Telkomnika (Telecommunication Computing Electronics and Control)*, *15*. <https://doi.org/10.12928/telkomnika.v15i4.6744>

Serrano, J., Chávez, K., & Castro, S. (2018). *Diseño y desarrollo de un suplemento alimenticio basado en el aprovechamiento de las hojas de Teberinto (Moringa Oleífera)*. Universidad de el Salvador.

Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., & Kim, W. K. (2018). Chicken gut microbiota: Importance and detection technology. En *Frontiers in Veterinary Science* (Vol. 5, Número OCT, p. 254). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00254>

- Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., Ramasamy, K., Sieo, C. C., & Ho, Y. W. (2017). Effects of a *Lactobacillus salivarius* mixture on performance, intestinal health and serum lipids of broiler chickens. *PloS One*, *12*(5), e0175959-e0175959. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175959>
- Soliman, E. S., Sallam, N. H., & Abouelhassan, E. M. (2018). Effectiveness of poultry litter amendments on bacterial survival and *Eimeria* oocyst sporulation. *Veterinary World*, *11*(8), 1064-1073. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1064-1073>
- Souza, L. F. A., Araújo, D. N., Stefani, L. M., Giometti, I. C., Cruz-Polycarpo, V. C., Polycarpo, G., & Burbarelli, M. F. (2018). Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, *50*(1), 35-41. <https://doi.org/10.4067/s0719-81322018000100107>
- Toghyani, M., Mosavi, S. kazem, Modaresi, M., & Landy, N. (2015). Evaluation of kefir as a potential probiotic on growth performance, serum biochemistry and immune responses in broiler chicks. *Animal Nutrition*, *1*(4), 305-309. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.11.010>
- Torok, V. A., Ophel-Keller, K., Loo, M., & Hughes, R. J. (2008). Application of methods for identifying broiler chicken gut bacterial species linked with increased energy metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(3), 783-791. <https://doi.org/10.1128/AEM.01384-07>
- Universidad de Michigan. (2018). *Ecuador: Investigadores estudian bacterias resistentes a antibióticos en pollos, niños*. University of Michigan. <https://espanol.umich.edu/noticias/2018/03/19/pollos-de-engorde-en-ecuador->

investigadores-estudian-resistencia-a-antibioticos-en-pollos-ninos/

Vaca, L. (2003). *Producción Avícola*. EUNED.

<https://books.google.com.ec/books?id=Jqz772zO6uwC&pg=PA211&lpg=PA211&dq=tipos+de+alimentos+para+aves:+harina,+crumble,+pellet&source=bl&ots=xZnWdsuZlr&sig=ACfU3U3qX-IQbNHif4UAkVxnTNEQgZdOEq&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj39JqTrcjpAhVJMt8KHRanDJkQ6AEwDHoECAsQA>

Vahdatpour, T., & Babazadeh, D. (2016). The effects of kefir rich in probiotic administration on serum enzymes and performance in male Japanese quails.

Journal of Animal and Plant Sciences, 26(1), 34-39.

https://www.researchgate.net/publication/298703577_The_effects_of_kefir_rich_in_probiotic_administration_on_serum_enzymes_and_performance_in_male_Japanese_quails

Vela, J., Hildebrandt, K., Metcalfe, A., Rempel, H., Bittman, S., Topp, E., & Diarra, M. (2012). Characterization of *Staphylococcus xylosum* isolated from broiler chicken barn bioaerosol. *Poultry Science*, 91(12), 3003-3012.

<https://doi.org/10.3382/ps.2012-02302>

Villagómez, C. (2018). *Manejo de antibióticos en pollos de engorde*. BMeditores.

<https://bmeditores.mx/avicultura/manejo-de-antibioticos-en-pollos-de-engorde-1341/#>

Webb, B. H. (2005). Milk and Milk Products. En *Van Nostrand's Encyclopedia of Chemistry* (pp. 1-11). <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec1640>

Xiao, Y., Xiang, Y., Zhou, W., Chen, J., Li, K., & Yang, H. (2017). Microbial community

mapping in intestinal tract of broiler chicken. *Poultry Science*, 96(5), 1387-1393.

<https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pew372>

Yang, Z., Zhou, F., Ji, B., Li, B., Luo, Y., Yang, L., & Li, T. (2010). Symbiosis between microorganisms from kombucha and kefir: Potential significance to the enhancement of kombucha function. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(2), 446-455. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8361-6>

Yerpes, M., Llonch, P., & Manteca, X. (2020). Factors associated with cumulative first-week mortality in broiler chicks. *Animals*, 10(2).

<https://doi.org/10.3390/ani10020310>

Zambrano, L. (2019). *Antibióticos, residuos peligrosos en las carnes*. Diario EXPRESO. <http://www.ecuadorenvivo.com/sociedad/190-sociedad/97992-antibioticos-residuos-peligrosos-en-las-carnes-expreso-de-guayaquil.html#.Xs7u5zpKjIU>

Zhou, Z., Chen, X., Sheng, H., Shen, X., Sun, X., Yan, Y., Wang, J., & Yuan, Q. (2020). Engineering probiotics as living diagnostics and therapeutics for improving human health. En *Microbial Cell Factories* (Vol. 19, Número 1). BioMed Central Ltd.

<https://doi.org/10.1186/s12934-020-01318-z>

Zulkifli, I., Abdullah, N., Mohd. Azrin, N., & Ho, Y. W. (2000). Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. *British Poultry Science*, 41(5), 593-597. <https://doi.org/10.1080/713654979>

Anexos