

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA
SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS

TEMA

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO
EN BASE A *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* SOBRE EL
SISTEMA GASTROINTESTINAL EN POLLOS BROILER
ROSS-308 EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”

AUTOR

JUAN CARLOS AGUAVIL ENRIQUEZ

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

2012

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA
SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO
EN BASE A *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* SOBRE EL
SISTEMA GASTROINTESTINAL EN POLLOS BROILER
ROSS-308 EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”

AUTOR

JUAN CARLOS AGUAVIL ENRIQUEZ

INFORME TÉCNICO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AGROPECUARIO

SANTO DOMINGO - ECUADOR

2012

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO
EN BASE A *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* SOBRE EL
SISTEMA GASTROINTESTINAL EN POLLOS BROILER
ROSS-308 EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”

JUAN CARLOS AGUAVIL ENRIQUEZ

REVISADO Y APROBADO

.....
ING. VICENTE ANZULES
DIRECTOR DE CARRERA
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA

.....
BLGO. NESTOR SALTOS
DIRECTOR

.....
ING. MSc. GUSTAVO NUÑEZ
CODIRECTOR

.....
ING. VINICIO UDAY
BIOMETRISTA

CERTIFICO QUE ESTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN ORIGINAL
(EN MEDIO MAGNÉTICO) E IMPRESO EN DOS EJEMPLARES.

.....
Dr. RAMIRO CUEVA
SECRETARIO ACADEMICO

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO
EN BASE A *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* SOBRE EL
SISTEMA GASTROINTESTINAL EN POLLOS BROILER
ROSS-308 EN SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS.”

JUAN CARLOS AGUAVIL ENRIQUEZ

APROBADO POR LOS SEÑORES MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE
CALIFICACIÓN DEL INFORME TÉCNICO

	CALIFICACIÓN	FECHA
BLGO. NESTOR SALTOS DIRECTOR	_____	_____
ING. MSc. GUSTAVO NUÑEZ CODIRECTOR	_____	_____

CERTIFICO QUE ESTAS CALIFICACIONES FUERON
PRESENTADAS EN ESTA SECRETARIA

.....
Dr. RAMIRO CUEVA
SECRETARIO ACADEMICO

DEDICATORIA

Al culminar una importante etapa de mi vida, dedico mi esfuerzo y dedicación, reflejado en esta tesis a:

Dios por darme la vida e iluminarme día a día en aquellos momentos difíciles siendo mi guía.

A mis queridos padres Celso y Carmen, por brindarme todo su apoyo.

A mis hermanas Isabel y Angélica, quienes fueron pilar importante durante todo este tiempo, donde compartimos muchas vivencias y alegrías.

A mis amigos por ofrecerme momentos de entretenimiento los cuales fueron de mucho agrado.

Juan Carlos

AGRADECIMIENTO

A la ESPE, su Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias, por participar de nuestra formación moral e intelectual.

Al Director Blgo. Néstor Saltos, Codirector Ing. MSc. Gustavo Núñez y Biometrista Ing. Vinicio Uday, por sus acertadas recomendaciones para el desarrollo de esta investigación.

A todos los docentes de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias Santo Domingo, por el tiempo invertido en nuestra formación y compartir sus conocimientos.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron para que nuestro proyecto sea viable.

AUTORÍA

Las ideas expuestas en el presente trabajo de investigación, así como los resultados, discusión y conclusiones son de exclusiva responsabilidad de los autores.

FIRMA

INDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. SISTEMA DIGESTIVO DEL POLLO BROILER.....	4
2.1.1. Boca.....	4
2.1.2. Lengua.....	5
2.1.3. Esófago.....	5
2.1.4. Buche.....	5
2.1.5. Proventrículo.....	5
2.1.6. Molleja.....	5
2.1.7. Intestino Delgado.....	6
2.1.7.1. Duodeno.....	6
2.1.7.2. Yeyuno.....	6
2.1.7.3. Íleon.....	6
2.1.8. Ciegos.....	6
2.1.9. Cloaca.....	6
2.1.10. Órganos digestivos complementarios.....	7
2.1.10.1. Páncreas.....	7
2.1.10.2. Hígado.....	7
2.1.10.3. Vesícula biliar.....	7
2.2. INTEGRIDAD INTESTINAL.....	7
2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA SALUD INTESTINAL.....	9
2.4. FLORA BACTERIANA DEL TRACTO DIGESTIVO.....	11
2.5. DESARROLLO DE LA MICROFLORA INTESTINAL.....	12
2.6. MICROFLORA EN LOS DISTINTOS TRAMOS INTESTINALES.....	12
2.7. FUNCIONES Y EQUILIBRIO DE LA FLORA INTESTINAL.....	14
2.8. DESEQUILIBRIO MICROBIANO INTESTINAL.....	14
2.9. EXCLUSIÓN COMPETITIVA.....	15
2.10. INTERACCION DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO Y EL TRACTO GASTRO INTESTINAL.....	16
2.10.1. Propiedades del mucus del intestino y de la barrera mucosa...	17

2.11.	LOS PROBIÓTICOS.....	17
2.12.	IMPORTANCIA DE LOS PROBIÓTICOS.....	18
2.12.1.	Criterios para un probiótico.....	19
2.12.2.	Mecanismos de acción de los probióticos.....	19
2.12.3.	Beneficios de los probióticos en producción animal.....	20
2.13.	BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.....	22
2.13.1.	Bacterias productoras de ácido láctico.....	22
2.14.	CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.	22
2.14.1.	Características de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	22
2.14.2.	Clasificación taxonómica de <i>Lactobacillus</i>	24
2.14.3.	Características de <i>Bacillus subtilis</i>	24
2.14.3	Clasificación Taxonómica del Género <i>Bacillus</i>	25
2.14.4.	Características de <i>Bifidobacterium</i>	25
2.15.	BACTERIOCINAS.....	25
2.15.1.	Producción de bacteriocinas.....	26
2.15.2.	Mecanismos de acción de las bacteriocinas.....	27
2.16.	INTERACCION DE LOS PROBIOTICOS CON LA MATERIA ORGÁNICA Y ELIMINACIÓN DE MALOS OLORES.....	27
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1.	CARACTERÍSTICAS DEL CAMPO EXPERIMENTAL.....	29
3.1.1.	Ubicación política.....	29
3.1.2.	Ubicación geográfica.....	29
3.1.3.	Ubicación ecológica.....	29
3.2.	MATERIALES.....	30
3.2.1.	Insumos.....	30
3.2.2.	Equipos.....	30
3.2.3.	Instrumentos.....	31
3.2.4.	Herramientas.....	31
3.2.5.	Materiales y equipos de laboratorio.....	31
3.3.	METODOLOGIA.....	32
3.3.1.	Fase de laboratorio.....	32
3.3.1.1.	Recolección de muestras.....	32
3.3.1.2.	Siembra en los medios de cultivo.....	32

3.3.1.3. Purificación de colonias.....	32
3.3.1.4. Identificación de cepas nativas.....	33
3.3.1.5. Caracterización de concentración de bacterias.....	33
3.3.1.6. Formulación del probiótico.....	33
3.3.2. Diseño experimental.....	33
3.3.2.1. Factores a probar.....	33
3.3.2.2. Tratamientos a comparar.....	34
3.3.2.3. Tipo de diseño.....	34
3.3.2.4. Observaciones.....	34
3.3.2.5. Características de la UE.....	34
3.3.3. Análisis estadístico.....	35
3.3.3.1. Esquema del análisis de varianza.....	35
3.3.3.2. Análisis funcional.....	35
3.3.4. Datos tomados y métodos de evaluación.....	35
3.3.4.1. Peso.....	35
3.3.4.2. Conversión Alimenticia.....	36
3.3.4.3. Mortalidad.....	36
3.3.4.4. Análisis bacteriológico.....	36
3.3.5. Métodos específicos de manejo del experimento.....	36
3.3.5.1. Limpieza y desinfección del galpón.....	36
3.3.5.2. Preparación antes de la recepción de los pollitos.....	37
3.3.5.3. Recepción de los pollitos.....	37
3.3.5.4. Programa de vacunación.....	37
3.3.5.5. Manejo.....	38
3.3.5.6. Protocolo del probiótico.....	38
IV. RESULTADOS Y DISCUCION.....	39
4.1. FASE DE LABORATORIO.....	39
4.1.1. Identificación de los aislamientos bacterianos.....	39
4.1.2. Identificación molecular de las cepas nativas.....	39
4.1.3. Control de colonias viables de las cepas para la formulación del probiótico.....	40
4.1.4. Recuento de aerobios.....	40
4.2. FASE DE CAMPO.....	40

4.2.1. Ganancia de peso.....	40
4.2.2. Conversión alimenticia.....	44
4.2.3. Mortalidad.....	48
4.2.4. Factor Europeo.....	53
4.2.5. Análisis bacteriológico.....	53
4.2.6. Análisis económico.....	54
V. CONCLUSIONES.....	57
VI. RECOMENDACIONES.....	59
VII. RESUMEN.....	60
VIII. SUMMARY.....	61
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	62
X. ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°	Pág.
Cuadro 1. Tabla de la diversidad bacteriana del tracto gastrointestinal de pollos, en función de la variación del pH y el tiempo medio de retención en minutos (TMR) de la digesta en la fase sólida.....	13
Cuadro 2. Tabla de bacterias ácido lácticas usadas como probióticos.....	21
Cuadro 3. Tabla de la clasificación taxonómica del género <i>Bacillus</i>	25
Cuadro 4. Tabla de equipos utilizados en laboratorio.....	31
Cuadro 5. Tabla de materiales y reactivos utilizados en laboratorio.....	31
Cuadro 6. Esquema del análisis de varianza para los factores en estudio.....	35
Cuadro 7. Pruebas morfológicas de los géneros <i>Lactobacillus</i> y <i>Bacillus</i>	39
Cuadro 8 Pruebas bioquímicas de los géneros <i>Lactobacillus</i> y <i>Bacillus</i>	39
Cuadro 9. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis y probióticos sobre el peso en pollos Broiler en Santo Domingo.....	41
Cuadro 10. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de peso.....	42
Cuadro 11. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis y probióticos sobre la conversión alimenticia en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.	45
Cuadro 12. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de la conversión alimenticia.....	45
Cuadro 13. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial, sobre la mortalidad en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.....	49
Cuadro 14. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de Raíz de mortalidad.....	49
Cuadro 15. Costos variables y beneficios para los tratamientos con la adición de probióticos a base de <i>L. acidophilus</i> y <i>B. subtilis</i>	55
Cuadro 16. Análisis marginal de tratamientos no dominados.....	55

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág.
Figura 1. pH en diferentes órganos del sistema digestivo del ave.....	4
Figura 2. Principales géneros de bacterias en el ciego de pollos, basados en secuenciación ADNr 16S.....	13
Figura 3. Croquis de ubicación del lugar experimental.....	29
Figura 4. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre el peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.....	43
Figura 5. Análisis de correlación del probiótico nativo para la variable peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.....	43
Figura 6. Análisis de correlación del probiótico comercial para la variable peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.....	44
Figura 7. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la conversión alimenticia en pollos broiler en Santo Domingo, 2010....	47
Figura 8. Análisis de correlación del probiótico nativo para la variable conversión alimenticia en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.....	47
Figura 9. Análisis de correlación del probiótico comercial para la variable conversión alimenticia en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.....	48
Figura 10. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la raíz de mortalidad en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.....	50
Figura 11. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la mortalidad expresada en porcentaje en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.....	51
Figura 12. Análisis de correlación del probiótico nativo para la variable mortalidad en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010...	52
Figura 13. Análisis de correlación del probiótico comercial para la variable mortalidad en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010...	52
Figura 14. Curva de beneficios netos.....	56

I. INTRODUCCIÓN

La Industria Avícola Ecuatoriana en los últimos ocho años ha incrementado su producción a diferencia de otros tipos de carne, en nuestro país el aumento en el consumo de carne de pollo ha sido muy significativo, es así como entre el 2004 y el 2008 se observó un incremento del 23% al pasar de 21,6 a 26,6 kg/hab/año el consumo per-cápita, debiéndose a la gran oferta de este producto (Villamizar, 2008).

El Censo Avícola Nacional 2008 realizado por el MAG, SESA, CONAVE y AMEVEA, da a conocer que la producción fue de 215 096 millones de aves, siendo 198 450 millones la línea de broilers, 9 130 millones de postura, 5 580 millones machos que corresponden a los nacimientos de la línea postura, 1 800 millones reproductoras pesadas y 136 millones de reproductoras livianas (Guzmán 2008).

Para el Economista Esteban Zambrano Gerente Regional de PRONACA Santo Domingo, menciona que el consumo de pollos y sus derivados crece sostenidamente en el mercado ecuatoriano y se ha convertido en la fuente de proteína más barata. Para satisfacer este mercado empresas como Pronaca quien con más del 45 % de participación en el mercado, lidera la producción procesando un total de 4 650,19 Ton de carne de pollo/año incluyendo avícolas propias e integradas concentradas en la zona de Santo Domingo.

Debido a los métodos de manejo intensivos actuales los animales de granja, fundamentalmente las aves, son muy susceptibles a desbalances bacterianos entéricos que llevan a una insuficiente conversión de los alimentos y a una disminución en la respuesta zootécnica. Para atenuar estas dificultades, las dietas son suplementadas con antibióticos, los cuales han mostrado ser efectivos en la disminución de los trastornos diarreicos y en la promoción del crecimiento animal (Milian, 2005).

La biotecnología está aportando a los nutricionistas una nueva generación de productos que son alternativas viables a los antibióticos promotores de crecimiento y que pueden ser promocionados como naturales y seguros para el animal, el consumidor y el medio ambiente como son los mananoligosacaridos, el selenio

orgánico, probióticos, inulina y fructuoligosacarido, condroitin sulfato y glucosamina, antioxidantes y ácidos orgánicos.

Los probióticos son definidos como un suplemento alimenticio que beneficia la salud del hospedero. Generalmente es considerado que estos llevan acabo un mejoramiento en el balance microbial. Sin embargo cada vez es más claro el beneficio que estos tienen en la salud vía inmunidad. El tracto gastrointestinal cumple varias funciones tales como la absorción y digestión de nutrientes. Una de estas es que el intestino es hospedero de una compleja mezcla de microbios, estos son parte de nuestra microflora los cuales juegan un papel importante en la salud. *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* son una fuerte asociación que mantienen el balance microbial de los intestinos (Salvador y Cruz, 2009).

Gran parte del sistema inmune está dedicado a proteger el tracto gastrointestinal, por eso existen sistemas adicionales que protegen el sistema digestivo. Un elemento clave en la defensa del sistema digestivo es la microflora endógena. Las bacterias benéficas compiten con los patógenos por los sitios de adhesión y por nutrientes, es por ello que se necesita de nuevos enfoques para limitar la concentración de patógenos en el tracto gastrointestinal (Spring 2004).

Barrera (2008), sostiene que la producción avícola cada día debe ser más competitiva y sus resultados deben ser excelentes, una alternativa para mejorar la producción son los llamados productos probióticos que contienen microorganismos vivos y activos que colonizan el tracto digestivo.

Según Moreno (1999), cuando nacen los polluelos su intestino prácticamente está estéril, desarrollándose su flora intestinal durante las primeras semanas de vida, donde predominan bacterias del género *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bacillus*, esta flora autóctona es específica y está determinada por las condiciones físicas y químicas existentes en su aparato digestivo. Por esta razón es importante el uso de probióticos para desarrollar en el ave una colonización microbiológica efectiva del tracto digestivo.

El desconocimiento de los beneficios de las bacterias probióticas en la productividad hace que estas no sean utilizadas por parte de los avicultores. La población que se beneficiará, serán todos los productores avícolas de la zona y técnicos dedicados a esta área, indirectamente se espera llegar a otros avicultores dedicados a la producción de gallinas de postura para que hagan uso de las bacterias ácido lácticas y observen los beneficios.

Basado con estos antecedentes se realizó la investigación tomando en cuenta los siguientes objetivos.

GENERAL

- Determinar los efectos de la inclusión de probióticos durante la etapa de crianza en pollos broilers (Línea ROSS-308), para el mejoramiento de los parámetros sanitarios, productivos y económicos.

ESPECÍFICOS

- Aislar e identificar las cepas nativas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*.
- Formular el probiótico a base de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*.
- Determinar la relación de la inclusión de probióticos a través del consumo de agua en la ganancia de peso para pollos Broiler Ross 308.
- Evaluar la adición de probióticos en la dieta, en relación con la Conversión Alimenticia en pollos Broiler Ross 308.
- Determinar la tasa de Mortalidad.
- Determinar el tratamiento más económico para incluir el uso de probióticos en la dieta utilizando la metodología Perrin *et al.*

La hipótesis planteada para la investigación es, la inclusión de probióticos durante la etapa de crianza mejorará los parámetros sanitarios, productivos y económicos de los productores en pollos Broiler Ross-308

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. SISTEMA DIGESTIVO DEL POLLO

Según Heinz (2000), el intestino es un órgano complejo que forma parte del tracto gastrointestinal y es el paso obligado de los nutrimentos que sirven de base para el metabolismo, el crecimiento y el mantenimiento.

Jensen (2001) citado por Mroz (2004), observó que la fermentación gástrica en el intestino delgado daba lugar a una gran cantidad de ácido láctico, mientras que la fermentación en el ciego y en el colon producía, predominantemente, ácido acético, propiónico y butírico. La cantidad total de ácidos grasos de cadena corta existente en el tracto digestivo se halla correlacionada con la cantidad de sustrato (fibra) que tiene disponible la microflora intestinal. Lo cual es imprescindible realizar un ajuste a través del agua de bebida.

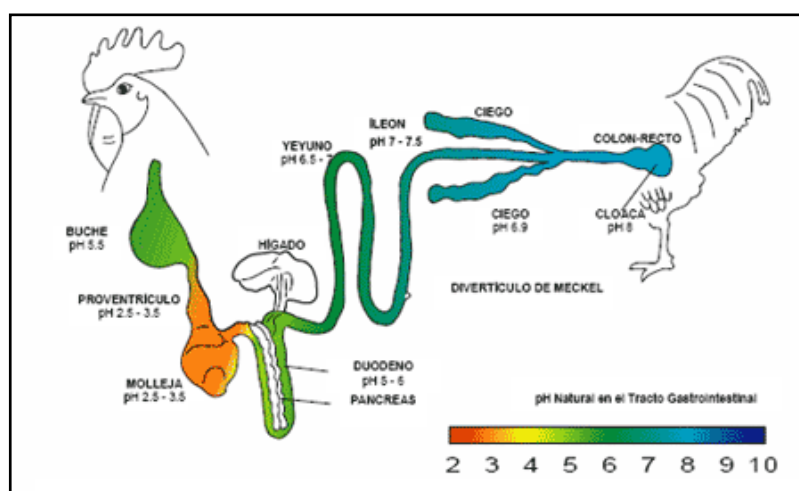


Figura 1. pH en diferentes órganos del sistema digestivo del ave.

Fuente: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/salud-intestinal-clave-productividad-t518/p0.htm>

2.1.1. Boca

Según Marck (2002), el pollo no tiene labios, paladar blando, mejillas y dientes, pero tiene mandíbulas corneas superior e inferior que circundan la boca; la superior se encuentra unida al cráneo, mientras que la inferior es colgante.

2.1.2. Lengua

Es de forma de cabeza de flecha, su función es de prehensión, selección y deglución del alimento. En este órgano del aparato digestivo se encuentra la enzima amilasa (Marck, 2002).

2.1.3. Esófago

Ensminger (2000), sostiene que es simplemente un conducto o tubo que sirve para conducir los alimentos y el agua desde la boca hasta el buche, y de allí hasta la molleja.

2.1.4. Buche

Según Ávila (2005), el buche desarrolla la función de órgano de almacenamiento además de dar paso al alimento hacia el aparato digestivo. En este órgano, el alimento se remoja con agua y saliva de la boca; de modo que el buche de las aves permite consumir grandes cantidades de alimento. El contenido del buche es siempre ácido con un pH 5.

2.1.5. Proventrículo

Marck (2002) afirma que en el proventrículo es donde se produce el jugo gástrico. Las células glandulares secretan pepsina, una enzima que ayuda a la digestión de proteínas, y ácido clorhídrico.

2.1.6. Molleja

La molleja es de forma oval con dos aberturas, una comunica con el proventrículo y la otra hacia el duodeno. Su principal función es moler y aplastar los alimentos gruesos. La actividad motora de la molleja es de carácter rítmico, de modo que aparece una contracción de los dos músculos. Presenta un pH de 4,06 por lo que tiene una reacción ácida (Ensminger 2000).

2.1.7. Intestino Delgado

Según Ávila (2005), comenta que el intestino delgado en las aves se divide en: duodeno, yeyuno e íleon y se describe a continuación:

2.1.7.1. Duodeno

La reacción del contenido del duodeno es casi siempre ácida, presentando un pH de 6,3 por lo que posiblemente el jugo gástrico ejerce aquí la mayor parte de su acción.

2.1.7.2. Yeyuno

El yeyuno consta de unas diez asas pequeñas, dispuestas como una guirnalda y suspendidas de una parte del mesenterio. Presenta un pH de 7,04.

2.1.7.3. Íleon

El íleon, cuya estructura es estirada y se encuentra en el centro de la cavidad abdominal. El pH es de 7,59.

2.1.8. Ciegos

Marck (2002) y Ensminger (2000) sostienen que no se conoce la función exacta de los sacos ciegos, pero es evidente que tiene que ver con la digestión. El pH del ciego derecho es de 7,08 mientras que el pH del ciego izquierdo es de 7,12. Se cree que la función de los ciegos es de absorción y que están relacionados con la digestión de celulosa.

2.1.9. Cloaca

Según Ensminger (2000), la cloaca es un órgano común a los tractos urinario, digestivo y reproductivo. Por lo tanto la orina y las heces se eliminan juntas.

2.1.10. Órganos Digestivos Complementarios

2.1.10.1. Páncreas

Esta dentro del asa duodenal del intestino delgado y secreta el jugo pancreático cuyas cinco poderosas enzimas ayudan a la digestión de almidones, grasa y proteínas (Ensminger, 2000).

2.1.10.2. Hígado

Marck (2002), sostiene que está formado por dos grandes lóbulos. Entre sus funciones esta la de secretar la bilis, que es un líquido ligeramente pegajoso, amarillo-verdoso, y que contiene ácidos biliares, que ayudan a la digestión, de las grasas. Su principal función consiste en neutralizar la acidez del duodeno y digerir las grasas.

2.1.10.3. Vesícula biliar

Órgano muscular que almacena la bilis, presente en la mayoría de los vertebrados. En cuanto a su estructura la vesícula está formada por una cubierta peritoneal externa (túnica serosa), una capa media de tejido fibroso y músculo liso (túnica muscular) y una membrana mucosa interna (túnica mucosa). La bilis pasa del hígado al intestino por dos conductos biliares. El conducto derecho almacena la mayor parte de bilis. El conducto izquierdo no se ensancha, por lo que una pequeña cantidad de bilis pasa directamente al intestino (Marck, 2002).

2.2. INTEGRIDAD INTESTINAL

La Integridad Intestinal se define como el funcionamiento óptimo del tracto intestinal, el cual maximiza el desempeño productivo de las aves. Porque el tracto intestinal es uno de los factores principales del desempeño y rentabilidad de las aves, la Integridad Intestinal es fundamental para tener una producción rentable. La

Enteritis Bacteriana (EB) y la Coccidiosis son las principales amenazas de la Integridad Intestinal (Hoerr, 2009).

Para Palacios (2009), la salud intestinal del broiler o pollo de carne, conocida también como integridad intestinal es la función óptima del tracto digestivo, aspecto primordial en la crianza de pollos de carne que les permite alcanzar el peso y la conversión alimenticia esperada para la línea genética en cuestión. Los peligros contra la salud intestinal, presentes en todas las integraciones avícolas son la coccidia y la enteritis bacteriana.

Según Milian (2005), la microflora intestinal se compone en su mayoría por bacterias ácido lácticas; esta microflora es esencial para descomponer las sustancias alimenticias que no fueron digeridas previamente, manteniendo la integridad de la mucosa intestinal. Al desdoblar los alimentos producen vitaminas (sobre todo del complejo hidrosoluble) y ácidos grasos que al mantener la estabilidad intestinal logran aumentar la respuesta inmune; se conoce que cuando estos mecanismos son agredidos por algún agente externo es el momento idóneo para el accionar de las bacterias probióticas.

Duchatel (2005), afirma que las vías digestivas de las aves así como las de los mamíferos, albergan una flora microbiológica fuerte. Este ecosistema digestivo está en equilibrio y permanece normalmente constante durante toda la vida de un animal adulto. Pero este equilibrio se puede perturbar, cuando el ave sufre agresiones: estrés, desequilibrios nutricionales, vacunaciones, suministro masivo de antibióticos y sustancias que perturban el valor del pH del intestino. Entonces, los factores que perturban el equilibrio de la flora intestinal, tienen una repercusión en la salud del animal.

Según Sansalone (2008), existen al menos 400 especies bacterianas en el GTI, de los cuales se conocen solamente el 15 % de ellas. Esta flora, participa activamente de todos los fenómenos digestivos, nutricionales y sanitarios de las aves. Debe existir permanentemente un equilibrio entre el tipo de flora que se genera, la integridad de la

mucosa intestinal y la dieta de los animales. Si se rompe este equilibrio, puede llevar a una lesión o enfermedad.

2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA SALUD INTESTINAL

Según Granados (2008), son:

- **Barreras físicas:** La integridad intestinal se ve comprometida cuando la pared de la mucosa es dañada, las células epiteliales afectadas o destruidas, el suministro vascular interrumpido o el sistema inmune comprometidos.
- **Factores estresantes:** El equilibrio intestinal también se puede ver alterado por factores de estrés como manejo inadecuado o defectuoso y transportación, sobrepoblación, cambios bruscos del medio ambiente, vacunaciones, etc.
- **Factores de la dieta:** Deficiencias nutricionales debido a: desbalance de la fórmula, mal manejo del grano, alta carga bacteriana en el alimento y micotoxinas, que afectan la salud intestinal.
- **Toxinas del alimento:** Las toxinas del alimento y tóxicos también afectan la integridad intestinal.
- **Micro flora intestinal:** El equilibrio en la microflora intestinal permite una óptima integridad intestinal. Las bacterias útiles (*Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaris*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *Bacillus sp*) juegan un papel importante en el control de la flora y estimulan el desarrollo de la pared intestinal.
- **Deformidad del pico:** Una deformidad del pico evita un consumo adecuado de alimento y puede causar daño al desarrollo intestinal.
- **Estado sanitario:** Enfermedades como la coccidiosis y cólera aviar afectan severamente la integridad intestinal. Los virus, hongos bacterias, parásitos y toxinas pueden ser la causa.

Endo y Nakano (2000) citado por Milian (2005), estudiaron los efectos del empleo de un probiótico en pollos de ceba el cual incluía especies de *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Saccharomyces* en una dosis de 3 g/kg de concentrado. El probiótico decreció el número de Enterobacteraceae (*E.coli* y *Salmonella*) en el

ciego. También estudios realizados por Maruta (1999) e informados por Bortolozzo (2002) citados por Milian (2005), administraron un probiótico a base de *Bacillus subtilis* a pollos de ceba, muestran un aumento de la musculatura y disminución de la grasa abdominal, principalmente en machos. Además observaron que el suministro de este probiótico disminuyó el porcentaje de bacterias patógenas, fundamentalmente, *Salmonella* desde un 60 a un 20 %.

Rossi, *et al.* (2006); realizaron un estudio usando un probiótico obtenido a partir del epitelio de la mucosa del ciego de pollos libres de patógenos de la *Salmonella*. El probiótico utilizado fue destacado como una biota acción del controlador o inhibidor de microorganismos patógenos, las aves mostraron un mejor desempeño en comparación con los tratamientos de control. En general, independientemente de los tratamientos empleados en este experimento, se produjo mejores tasas de crecimiento de las aves en relación a la línea estándar que se utiliza.

Cortés y Ávila (2000), evaluaron el efecto del probiótico (*Bacillus toyoi* 10^{10} esporas/g) sobre el comportamiento productivo en pollos de engorde cuyos resultados indican que el probiótico adicionado a la dieta para pollos de engorda permiten tener un efecto promotor del crecimiento y disminuyó la mortalidad. Los resultados en 49 días para ganancia de peso fueron diferentes ($P < 0,05$); se encontró efecto a la adición del probiótico (2 409 vs 2 344 g). La mortalidad general y por síndrome ascítico (SA) fue mayor ($P < 0,05$) en los animales que comieron *ad libitum* en comparación con los que tuvieron restricción alimentaria (9,55%, 2,45%, 4,52% y 1.45%, respectivamente). Hubo efecto ($P < 0,05$) a la adición del probiótico en SA (0,90% vs 5,07%), con menor mortalidad.

Hoyos (2008) utilizó los microorganismos eficaces EM que contenían bacterias y levaduras (*Lactobacillus casei* 10^3 ufc/ml, *Saccharomyces cerevisiae* 10^3 ufc/ml, *Rodhopseudomona palustres* 10^3 ufc/ml) a concentraciones mayores a 100 000 ufc/ml de solución. Se evaluaron los parámetros productivos como ganancia de peso, conversión alimenticia, mortalidad acumulada y la utilidad de los EM en la reducción de la carga de coliformes totales presentes en la cama de los pollos. Se encontró que los EM mejoraron los parámetros productivos de las aves como ganancia de peso,

índice de conversión y mortalidad. Los EM lograron reducir la carga de coliformes totales presentes en el ambiente de los pollos de engorde. En Ganancia de peso se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el peso de los machos tratados con EM de 120,4 g (5,4%) con una dosis de 1 ml de probiótico por dos litros de agua.

Araujo (2005), probó HYDROENZIME producto a base de probióticos y enzimas en cuanto a la absorción de alimento, ganancia de peso y la disminución de mortalidad en el pollo de engorde, observó diferencia significativa en la ganancia de pesos a los pollos tratados con HYDROENZIME a los 42 días de 2047,5 y 1706,34 g. una conversión alimenticia altamente significativa para los pollos con Hydroenzyme de 1,82 y el control de 2,02.

2.4. FLORA BACTERIANA DEL TRACTO DIGESTIVO

En el organismo existe una flora microbiana de tipo indígena y otra compuesta por microorganismos que potencialmente pueden comportarse como patógenos. En términos fisiológicos se realiza una simbiosis entre el organismo superior y la flora microbiana indígena, el primero se comporta como hospedador suministrando a los microorganismos el ambiente para su crecimiento y estos últimos como simbioses, ponen a disposición del hospedador su capacidad de síntesis (proteínas y vitaminas) y de ruptura celular (celulolisis). Sin embargo cualquier alteración del ecosistema microbiano con pérdidas de microorganismos de tipo indígena, implica que microorganismos transeúntes, potencialmente patógenos puedan tomar posesión de los nichos que dejaron vacíos las bacterias indígenas (Rodríguez, 1994).

Choque (2008), encontró que la interacción entre los microorganismos y el TGI se refleja en distintos niveles: participando en procesos digestivos; evitando el establecimiento de microorganismos potencialmente patógenos; produciendo metabolitos tóxicos; incrementando la tasa de renovación epitelial; degradando la capa de mucina e induciendo respuesta inmunitaria con la proliferación de células de defensa.

2.5. DESARROLLO DE LA MICROFLORA INTESTINAL

Tissier, citado por Rodríguez (1994) comenta que el TGI del feto es estéril, se encuentra en lo que se denomina estado axénico fisiológico. Sin embargo, la colonización microbiana es extremadamente precoz y rápida, de modo que a las 24-48 horas del nacimiento se alcanzan concentraciones de 10^9 - 10^{11} microorganismos/g de heces, cifras cercanas a las observadas en el adulto, detectándose *Lactobacillus*, cocos gram-positivos, *Clostridium perfringens* y *E. coli*, apareciendo más tarde cocos gram-negativos y *Bacteroides*.

2.6. MICROFLORA EN LOS DISTINTOS TRAMOS INTESTINALES

Pareja, (2005) afirma que el buche interiormente está cubierto de una capa de epitelio escamoso estratificado. La población bacteriana del buche está compuesta mayoritariamente por lactobacilos, con un pequeño número de coliformes y estreptococos. No se encuentran normalmente anaerobios estrictos. Las bacterias se hayan asociadas al epitelio con una capa de material extracelular, manteniéndose a una distancia de unos 7nm, estableciéndose puentes de contacto entre las bacterias. Al parecer, estos lactobacilos colonizan el buche a las pocas horas del nacimiento y persisten a lo largo de la vida de las aves (Barragán, 2000). También se puede distinguir *Streptococcus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Lactobacillus*, *Escherichia* y *Clostridium*.

Según Apajalahti (2002), El TGI de los pollos aloja numerosas especies bacterianas. Los recientes desarrollos en el análisis de la comunidad microbiana por métodos basados en ADN han dado nueva luz sobre la microbiología del TGI de muchas especies animales. La figura 2 muestra los géneros de bacterias más abundantes presentes globalmente en el TGI de pollos.

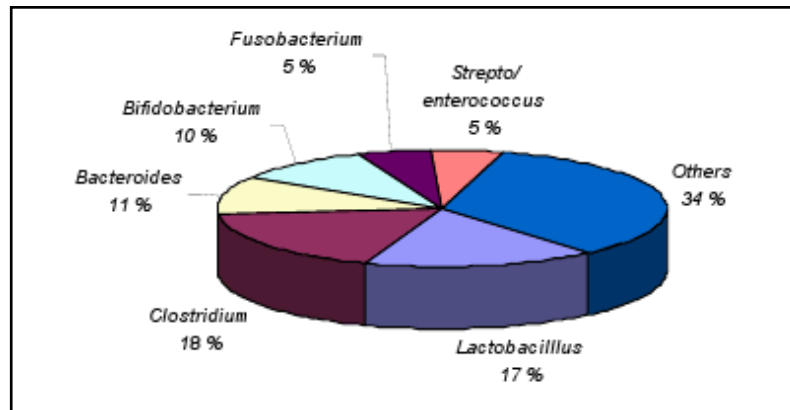


Figura 2. Principales géneros de bacterias en el ciego de pollos (Basado en secuenciación ADNr 16S)

Fuente: Apajalahti (2002)

Según Cervantes (2010), en el intestino delgado las especies dominantes son *E. coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Lactobacillus*, También anaerobios obligados como *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Gemmiger* y *Fusobacterium*. Ciego: Cocos Gram + anaerobios, *bacteroidaceae*, *Eubacterium sp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Budding cocos*, *Clostridium sp.* *Gemmiger formicilis*. De igual manera Choque, (2008), da a conocer una descripción mas completa que se ilustra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tabla de diversidad bacteriana del tracto gastrointestinal de pollos, en función de la variación del pH y el tiempo medio de retención, en minutos (TMR) de la digesta en la fase solida.

Sección intestinal	Contenido digestivo		Bacterias
	pH	TMR	
Buche	4,5	31-41	<i>Lactobacillus</i> ⁺ , <i>Streptococcus</i> ⁺ <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus</i> ⁺ ,
Proventrículo	4,4-4,8	39	<i>Streptococcus</i> ⁺ , <i>coliformes</i> ⁻
Molleja	2,6	33	<i>Lactobacillus</i> ⁺
Yeyuno	5,8	71-84	<i>Clostridium</i> ⁺
Íleon	6,3	90-97	<i>coliformes</i> ⁻ , <i>Eubacterium</i> ⁺ , <i>Bacteroides</i> ⁻ , <i>Staphylococcus</i> ⁺ , <i>Streptococcus</i> ⁺ <i>Lactobacillus</i> ⁺
Ciegos	5,7	119	<i>Clostridium</i> ⁺ , <i>Bacteroides</i> ⁻ , <i>Eubacterium</i> ⁺ , <i>Fusobacterium</i> ⁻ , <i>Bifidobacteria</i> ⁻

2.7. FUNCIONES Y EQUILIBRIO DE LA FLORA INTESTINAL

Los autores aceptan que la flora intestinal influye directa e indirectamente en el estado de salud del hombre y los animales a través de las siguientes funciones:

- Producción de vitaminas y ácidos grasos de cadena corta.
- Degradación de sustancias alimenticias no digeridas.
- Integridad del epitelio intestinal,
- Estímulo de la respuesta inmunitaria.
- Protección frente a microorganismos enteropatógenos.

La estabilidad de la flora microbiana intestinal es imprescindible para que estas funciones puedan desarrollarse, sin embargo el tracto digestivo no es un sistema biológico cerrado. Diariamente con el alimento se envían y afluyen a la luz gastrointestinal gérmenes y sustancias diversas no habituales, que resultan normalmente inofensivos debido a los múltiples mecanismos de defensa que las bacterias ponen en juego (Feuchter, 2005).

2.8. DESEQUILIBRIO MICROBIANO INTESTINAL

Las enfermedades entéricas como la coccidiosis, el síndrome de malabsorción, colibacilosis y la enteritis necrótica, son causa de pérdidas significativas en producción y calidad del pollo broiler. En la actualidad, estas enfermedades entéricas se controlan en la práctica mediante el uso de agentes anti-microbianos en el alimento y/o el agua de bebida. Los agentes anti-microbianos incluyen los coccidiostáticos, los promotores de crecimiento antimicrobianos (PCAM) y medicamentos específicos. Sin embargo, la creciente preocupación de los consumidores sobre el posible traslado de la resistencia antibiótica a los patógenos causantes de enfermedades humanas, ha provocado la prohibición de la mayoría de los PCAM y el uso restringido de medicamentos en la Comunidad Europea. Si no se desarrolla ningún producto alternativo, este movimiento podría llevar a un aumento en la incidencia de enfermedades entéricas con un efecto adverso en el bienestar animal y la producción.

Las perturbaciones del ecosistema bacteriano del huésped pueden ser definidas como disbacteriosis. La disbacteriosis se refiere a los cambios en el número o composición de las bacterias intestinales no patógenas del comensal que le pueden originar perturbaciones digestivas. La disbacteriosis no es tanto una infección sino un desequilibrio microbiano. Sin embargo, es probable que en muchos casos clínicos, la disbacteriosis y las infecciones entéricas estén presentes simultáneamente, existiendo una relación causal. La disbacteriosis puede causar infecciones y las infecciones pueden causar disbacteriosis. Se ha descrito, por ejemplo, que pollos infectados con coccidiosis tenían un mayor número de colonias de *Clostridium* y menor número de colonias de *Bifidus* y de *Lactobacillus* (Smits, 2001).

Feuchter (2005), encontró que en determinados momentos de la vida del animal factores exógenos diversos (cambios de alimentación, infecciones y parasitismos, tratamientos con antibióticos, etc.) provocan la ruptura del equilibrio intestinal y todo el sistema digestivo se ve afectado en mayor o menor grado. El primer síntoma de esta ruptura es la diarrea, expresión de la debilidad de las defensas intestinales que posibilita a los gérmenes patógenos implantarse, adherirse y proliferar en las células epiteliales del intestino.

2.9. EXCLUSIÓN COMPETITIVA

Según Cervantes (2010), los mecanismos de acción propuestos para el fenómeno de Exclusión Competitiva son los siguientes:

a) Físico: competencia por los lugares de unión al epitelio. La adherencia de la flora normal por medio de lectinas muy específicas es de importancia esencial, las bacterias anaerobias se adhieren firmemente a las superficies mucosas y poseen filamentos que parecen penetrar el epitelio de superficie. Esta capa homogénea de diferentes anaerobios crea una barrera física de alta consistencia, que evita que las bacterias entero-patógenas se adhieran al revestimiento epitelial.

b) Biológico: el crecimiento anaerobio crea un hábitat con baja tensión de oxígeno y un microambiente de exclusión duradero que es desfavorable para el crecimiento de enterobacterias micro aerofílicas, como *Salmonella* sp.

c) **Químico:** se conoce bien que la reducción del pH debido a la producción de ácidos orgánicos (ácidos grasos volátiles como el ácido láctico y ácido propiónico) de determinados grupos bacterianos por ejemplo lactobacilos inhibe enteropatógenos como *Salmonella sp.* y *E. coli*.

d) **Bioquímico:** Muchos microorganismos intestinales como *Lactobacillus spp.* y *E. coli* producen sustancias inhibitoras, denominadas, bacteriocinas, que son de naturaleza antimicrobiana.

e) **Nutricional:** estudios con cultivos de exclusión in vitro se han demostrado que anaerobios y *Salmonella sp.* compiten por aminoácidos esenciales y azúcares.

2.10. INTERACCIÓN DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO Y EL TRACTO GASTROINTESTINAL

Aproximadamente el 75% de las células inmunitarias del ave (3% del peso vivo) están localizadas en el intestino delgado, asociadas al tejido linfoide. En las aves la bolsa de Fabricio y el timo, son los órganos linfoides primarios; y el bazo, divertículo de Meckel, glándula de Harderian, placas de Peyer y amígdalas son los secundarios. A la eclosión, el sistema inmunitario es inmaduro y evoluciona más lentamente que el sistema digestivo anteriormente descrito, por lo que durante la primera semana de vida el pollito depende en gran medida del ambiente en que se encuentra. La presión genética sobre velocidad de crecimiento, tiene un impacto negativo sobre el sistema inmunitario (Ortiz, 2006).

El sistema inmune digestivo se considera como uno de los más grandes al ser el sitio que contiene mayor cantidad de células inmunológicas organizadas en diferentes estructuras (Placas de Peyer, Tonsilas Cecales, Divertículo de Meckel, Tonsila Esofágica, Tejido Linfoide Asociado a Mucosas, Bolsa de Fabricio). Por ello, el estudio del sistema inmune digestivo en las aves representa una oportunidad para aplicar este conocimiento en granjas comerciales, hecho con el cual será posible optimizar sus funciones y lograr una mejora productiva (Gómez, 2010).

2.10.1 Propiedades del Mucus del Intestino y de la Barrera Mucosa

El mucus constituye una barrera muy selectiva, esencial para proteger la mucosa de las secreciones digestivas, de los patógenos y de las agresiones fisicoquímicas. Los microorganismos del huésped y las inmunoglobulinas se encuentran integrados en el mucus. Además, la renovación continua del mucus y de la barrera física creada por la capa de mucosidad, previene la fijación de microorganismos patógenos a la superficie epitelial. Así, los cambios de las propiedades fisicoquímicas del mucus, causadas por factores externos al lumen intestinal o por vía de la mucosa “*per se*” pueden afectar a la resistencia a las infecciones y alterar la absorción de nutrientes (Smits, 2001).

2.11. LOS PROBIÓTICOS

Un probiótico se define como "un suplemento alimenticio microbiano vivo que beneficia al animal huésped mediante el mejoramiento de su equilibrio microbiano intestinal". Los probióticos se pueden usar para modular las bacterias del intestino. Las preparaciones comerciales de probióticos pueden ser de cepa única o múltiple y también como una mezcla de varias especies (multiespecies) de bacterias. Los productos multiespecies pueden tener el beneficio de ser eficaces contra una gama más amplia de condiciones del tubo digestivo (Yegani, 2010).

Milian (2005), menciona que los probióticos son productos naturales que utilizados como promotores del crecimiento en los animales permiten obtener mayores rendimientos, más elevada resistencia inmunológica y reducida cantidad de patógenos en el tracto gastrointestinal (TGI). Estas bacterias representadas por *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaris*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* y otros microorganismos beneficiosos, son la primera línea de defensa del cuerpo contra los microorganismos potencialmente dañinos que se inhalan o se ingieren.

2.12. IMPORTANCIA DE LOS PROBIÓTICOS

El papel más importante de las bacterias probióticas es actuar en resistencia en contra de la colonización de agentes exógenos, patógenos potenciales. *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* son bacterias Gram positivas productoras de ácido láctico, constituyentes de una gran parte de la microflora intestinal en animales. Por un microorganismo patógeno en acción actúa un probiótico, si este no es tóxico o causa enfermedad el probiótico debe ser capaz de resistir los ácidos y la bilis, así como el proceso de digestión del estomago del animal, el individuo que es capaz de establecerse y colonizar los intestinos; es cuando el probiótico establece la habilidad de inhibir el crecimiento de los patógenos.

Los probióticos son capaces de prevenir la proliferación de enfermedades causadas por patógenos como lo son la *Escherichia coli* y Salmonella. Esto puede ocurrir de dos formas: Primero incrementando la resistencia a infecciones y enfermedades infecciosas por un antagonismo directo o por estimulación de la inmunidad (incremento de la actividad fagocítica y elevada secreción de Inmunoglobulina A (IgA). Los probióticos están propuestos para el uso en animales y establecer la salud de la microflora de los intestinos y prevenir el establecimiento de bacterias patógenas, para restablecer la microflora benéfica agotada por antibióticos y prevenir la reinfección por patógenos y reducir los efectos del estrés (Salvador y Cruz, 2009).

Milian (2005), plantea que son muchas las bacterias y levaduras que se pueden usar de forma beneficiosa para mantener una flora digestiva sana y en equilibrio. Los microorganismos más usados son *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. stearothermophilus* y *Saccharomyces cerevisiae*. Los *Lactobacillus* crecen rápidamente en el intestino son quizás los más conocidos, se trata de bacterias que pueden transformar la lactosa en ácido láctico. Este aumento de ácido láctico disminuye el pH intestinal (Figura 1) a unos niveles tan bajos así como disminuye la supervivencia de microorganismos como *E. coli*, *Salmonellas* entre otros.

El ácido láctico que producen las bacterias del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* ayudan a controlar las bacterias patógenas como *Salmonellas*, *E. coli*, enteritis, al establecer un pH bajo (Botero 2008).

Los probióticos producen ácido láctico y ácido acético los cuales crean una alteración del pH que funcionan como un antiséptico del sistema digestivo y al mismo tiempo minimiza la proliferación de microorganismos patógenos, al competir por nutrientes y alojamiento en las paredes intestinales (Lastras 2009).

2.12.1. Criterios para un Probiótico

Según Nava (2008) un probiótico debe reunir las siguientes características:

- La seguridad biológica, no deben causar infecciones de órganos o de sistemas.
- La capacidad de ser toleradas por el sistema inmunitario del organismo huésped, por lo tanto, deben ser preferiblemente de proveniencia intestinal.
- La capacidad de resistir la acción de los ácidos gástricos y de las sales biliares para llegar vivas en grandes cantidades al intestino.
- La capacidad de adherirse a la superficie de la mucosa intestinal y de colonizar el segmento gastrointestinal.
- La sinergia con la microflora endógena normal del intestino
- El efecto barrera, este término define la capacidad de producir sustancias que tengan una acción trófica sobre el epitelio de la mucosa intestinal.
- La capacidad de potenciar las defensas inmunitarias del huésped.

2.12.2. Mecanismos de Acción de los Probióticos

- Algunos ácidos excretados por los microorganismos de los probióticos bajan el pH intestinal por debajo del nivel que toleran los patógenos.
- Efecto competitivo que puede ser mediado por la ocupación de los lugares de colonización y mejoría de los mecanismos barredores nutricionales.

- Capacidad de secreción por parte de los lactobacilos y bacterias bífidas de bacteriocinas que tienen amplio espectro de actividad como lactocinas, helveticinas, lactacinas, curvacinas, nicinas y bifidocinas (Pinos, 2007).

Según Borin (2006), la forma de acción es:

- Disociación del ácido liberando H^+ para el medio.
- Modulación de la microflora intestinal.
- Incremento del número de microorganismos benéficos:
– *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus*.
- Reducción del número de microorganismos indeseables:
– *Salmonella sp*, *E. coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus*

La microflora intestinal está involucrada en una amplia gama de sucesos fisiológicos, nutricionales e inmunológicos, que pueden afectar directa o indirectamente la salud y la productividad de las parvadas comerciales. La población normal de microbios en el intestino protege al animal huésped de los microorganismos patógenos. También se informaron que las bacterias benéficas (por ejemplo, *Lactobacillus acidophilus*) fueron capaces de suprimir los efectos patógenos del *Clostridium perfringens* en el intestino delgado de pollos de engorda mediante la inhibición de la proliferación y la producción de toxinas de este microorganismo. En otro estudio, se observaron que el *Lactobacillus sp.* aislado del intestino del pollo presentaba efectos inhibitorios sobre el crecimiento de las bacterias patógenas, como la *Salmonella* y *E. coli* (Yegani, 2010).

2.12.3. Beneficios de los probióticos en producción animal

Los efectos potenciales de las bacterias probióticas según Samaniego y Sosa (2002) se resumen a continuación.

- Producción de nutrientes de especial importancia para la mucosa intestinal, tales como ácidos grasos, particularmente los de cadena corta y aminoácidos como: arginina, glutamina y cisteína.

- Producción de micronutrientes, especialmente vitaminas (algunas vitaminas del complejo B), antioxidantes y aminos (histamina, 5-HT, piperidina, tiramina, cadaverina, pirrolidina, agmatina, espermidina y putrescina), muchos de los cuales son utilizadas por todo el organismo.
- Prevención del sobre crecimiento de microorganismos potencialmente patógenos.
- Estimulación del sistema de defensa inmunointestinal, referido como sistema de tejido linfoide asociado al tracto.
- Eliminación de toxinas y sustancias innecesarias del lumen.
- Participación en la regulación de funciones intestinales, tales como: utilización de mucus, absorción de nutrientes, motilidad gastrointestinal y flujo de sangre, lo cual ocurre a través de la producción de ácidos grasos de cadenas cortas, hormonas, enzimas, poliaminas y citoquinas y óxido nitroso.
- Importancia del mecanismo de exclusión competitiva. En el Cuadro 2. aparece un listado de las bacterias ácidos lácticas usados como probióticos.

Cuadro 2. Tabla de bacterias ácido lácticas usadas como probióticos

<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. casei</i>	<i>S. salivarius subsp. thermophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	<i>S. faecium</i>	<i>B. animalis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>S. diacetylactis</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. cellobiosus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>B. longum</i>

Fuente: Samaniego y Sosa (2002).

Milian (2005), estudió el uso de un probiótico a base de *Bacillus cereus* (Toyocerin) en pollos de ceba. Suministraron 50 y 100 mg/kg en la dieta y comprobaron que el peso final era superior en 1,5% y 2,1%, en los animales tratados respecto al control. Así mismo, mejoró la conversión 1,2% y 2%. La mortalidad fue disminuida a 2,7% y 4,5% con respecto al grupo control.

Milian (2005), menciona que el efecto del empleo de dos probióticos (esporas de *Bacillus sp.* a razón de 100 ppm con 10^{10} ufc/g y una mezcla de microorganismos lácticos, levaduras y enzimas digestivas a razón de 100 ppm en dietas de pollos de engorde, además del antibiótico licomicina un control positivo. Encontraron una mejora en la ganancia de peso. La acción de los dos probióticos no difirió entre si, pero si con el antibiótico y el grupo control.

2.13. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

Nava (2008), menciona que la capacidad de las bacterias lácticas para inhibir el crecimiento de otros organismos en cultivos mixtos ha sido observada durante más de 70 años, lo que comúnmente se ha llamado antagonismo láctico. La reducción de pH y la utilización de los carbohidratos disponibles parecen constituir el principal mecanismo de antagonismo microbiano. No obstante, también se conoce que las bacterias lácticas producen además de ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, radicales libres, diacetilo, acetaldehído, isómeros D de los aminoácidos, antibióticos y bacteriocinas

2.13.1. Bacterias Productoras de Ácido Láctico

Según Jaramillo (2010), los probióticos más empleados son las bacterias capaces de producir ácido láctico, como *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. reuterii*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis*, *Streptococcus salivarius* subespecie *thermophilus* y *Saccharomyces boulardii*.

2.14. CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

2.14.1. Características de *Lactobacillus acidophilus*

El género *Lactobacillus* (lactis-leche; bacillus-pequeños bacilos) se caracteriza por presentar células en forma de bacilos largos y extendidos, aunque con frecuencia pueden observarse bacilos cortos o coco-bacilos coryneformes. Las colonias de

Lactobacillus en medios sólidos son pequeñas (2-5 mm), convexas, suaves, con márgenes enteros, opacas y sin pigmentos. Sólo en algunos casos presentan coloración amarillenta o rojiza. Algunas especies forman colonias rugosas. Normalmente no reducen los nitratos, pero esta reacción puede ocurrir en algunos casos, cuando el pH está por encima de 6,0. Los lactobacilos no licúan la gelatina ni digieren la caseína, aunque muchas cepas producen pequeñas cantidades de nitrógeno soluble. Tampoco producen indol ni sulfídrico (H₂S). Son catalasa negativos, pero algunas cepas producen la enzima pseudocatalasa que descompone el peróxido de hidrógeno. Son citocromo negativos, por la ausencia de porfirinas.

Los lactobacilos crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 - 4,5. La mayoría de las cepas de *Lactobacillus* son principalmente aerotolerantes; su crecimiento óptimo se alcanza bajo condiciones microaerófilas o anaeróbicas. La mayor parte de los lactobacilos son mesófilos (30 - 40°C), con un límite superior de 40°C. Aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53°C. Los miembros de este género transforman la glucosa y las hexosas aldehídicas similares, los carbohidratos que producen estos azúcares simples y los alcoholes polihidroxicos en ácido láctico por homofermentación o bien, en ácido láctico y otros productos finales adicionales como ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico y ácido succínico (Samaniego y Sosa, 2002).

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

La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias patógenas. Algunas especies de *Lactobacillus* son usadas industrialmente en la producción de yogurt (Gonzales, 1997).

2.14.2. Clasificación taxonómica de *Lactobacillus*

Según Samaniego y Sosa (2002), en el transcurso de los años y con el desarrollo de la Biología Molecular se han empleado varios criterios taxonómicos para perfeccionar la posición taxonómica del género *Lactobacillus* en particular y de las bacterias ácido lácticas en general. Entre estos criterios pudieran citarse los siguientes:

- Determinación de oligonucleótidos del coeficiente de sedimentación (16S) del rRNA (RNA ribosomal).
- Estudios serológicos que involucran antisueros contra enzimas málicas, del tipo de la fructosa-1,6-difosfato aldolasa y de la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa de varias bacterias ácido lácticas y de algunas bacterias aeróbicas y anaeróbicas.
- Porcentaje molar de Guanina+Citocina del ADN.
- Nivel de homología ADN/ADN, poco significativo entre la mayoría de las especies.
- Hibridización ARN/ ADN.

2.14.3. Características de *Bacillus subtilis*

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

Según Milian (2005), otros de los elementos que caracteriza a los *Bacillus sp.* es la producción de enzimas hidrolíticas que ayudan a mejorar la utilización de los alimentos. Dentro de estas se encuentran las proteasas, amilasas y las glicosidasas que descomponen las complejas moléculas de los alimentos y las transforman en nutrientes más simples. Estos compuestos son absorbidos más rápidamente por el animal o pueden ser empleados por otras bacterias beneficiosas para el establecimiento de una microflora intestinal balanceada. El empleo de las bacterias

del género *Bacillus* y sus endosporas también viene dado por su capacidad de producción de enzimas, estas además de mejorar la digestión en el hospedero, son capaces de inhibir el crecimiento microbiano de bacterias dañinas.

2.14.4. Clasificación Taxonómica de Género *Bacillus*

Cuadro 3. Tabla sobre la clasificación taxonómica del género *Bacillus*

Reino	Firmicutes
Filum	Endosporobacteria
Clase	Bacilli
Orden	Bacilliales
Familia	Bacillaceae
Genero	<i>Bacillus</i>
Especie	<i>subtilis</i>
N. científico	<i>Bacillus subtilis</i>

Fuente: Galán (2007).

2.14.5. Características de *Bifidobacterium*

Jaramillo (2010), considera que las bifidobacterias son bacterias anaeróbicas Gram positivas, que habitan principalmente en el intestino delgado, habitantes normales del TGI tanto del hombre, como de los animales. Son bacilos o cocos no móviles, anaerobios estrictos, con formas que dependen de la especie a la que pertenezcan. Representan uno de los mayores grupos de bacterias intestinales y se utilizan principalmente como flora probiótica en productos lácteos.

2.15. BACTERIOCINAS

Las bacteriocinas se definen como proteínas y péptidos biológicamente activos, que tienen propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas, miembros de la misma especie o especies muy relacionadas con la cepa productora. Sin embargo, recientemente este concepto se ha modificado, ya que se ha encontrado

también acciones bactericidas contra cepas distanciadas filogenéticamente de la cepa productora (Dolz, 2000).

Las bacteriocinas, son derivados del metabolismo principalmente de algunas bacterias ácido lácticas (BAL), con función antimicrobiana, de naturaleza peptídica, sintetizadas ribosomalmente y que afectan a bacterias relacionadas con las que las producen. Se ha comprobado que pueden actuar sobre bacterias patógenas, especialmente en Gram positivas y en algunas Gram negativas. Las bacteriocinas han sido encontradas en casi todas las especies bacterianas ácido lácticas examinadas hasta la fecha, y aún dentro de una especie podrían ser producidas diferentes tipos de bacteriocinas (Jaramillo, 2010).

2.15.1. Producción de Bacteriocinas

Adicionalmente, muchos de los microorganismos productores de bacteriocinas son, a su vez, probióticos. La noción de probiosis alude, en general, al conjunto de efectos fisiológicos que, vinculados a los balances microbianos del tracto intestinal, resultan favorables para la entidad biológica hospedante. Se trata de un concepto relativamente difuso, que se ha relacionado sobre todo con la mejora de la resistencia a las enfermedades por estimulación de las defensas naturales, y que puede implicar mecanismos de naturaleza bastante heterogénea. Entre ellos se citan con frecuencia sin detalles concretos la competencia con microorganismos patógenos por nutrientes limitantes o por puntos de adherencia a las mucosas, la producción de sustancias inhibitoras de estas especies y la activación de la respuesta inmunitaria. Las bacteriocinas más conocidas son sin duda las nicinas (lantibióticos de *Lactococcus lactis*), pero en estrecha relación con ellas se encuentran otros lantibióticos como subtilina, estafilococcina, (Pastrana, 2004).

Samaniego y Sosa (2002), afirman que entre la variedad de sustancias antimicrobianas producidas por las bacterias ácido-lácticas se encuentran las bacteriocinas, proteínas bactericidas que inhiben especies estrechamente relacionadas con el cultivo productor. Como ejemplo de estas sustancias pueden citarse las que se han identificado y caracterizado:

- Lactacin B y F
- Helveticin V-1829
- Fermenticin
- Sakacin A, M y P
- Lacticinas A y B
- Lactocin S
- Lactocin LP27
- Plantaricin BN
- Bavaricin MN
- Plantacin B

2.15.2. Mecanismos de Acción de las Bacteriocinas

Jaramillo (2010), menciona el mecanismo de acción propuesto para las bacteriocinas es una unión inicial a la membrana bacteriana por atracción electrostática entre los lípidos cargados negativamente y las bacteriocinas con su carga neta positiva localizada fundamentalmente en uno de los extremos. Luego se produce la inserción de la bacteriocina en la bicapa lipídica, en el caso de la nicina esta inserción se realiza por su extremo N-terminal. Así se forman poros en la membrana, la cual queda permeabilizada, la célula empieza a perder iones y metabolitos fundamentales para su supervivencia y eventualmente se produce la muerte de la bacteria.

2.16. INTERACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS CON LA MATERIA ORGÁNICA Y ELIMINACIÓN DE MALOS OLORES

El EM (microorganismos eficaces) ha sido ampliamente utilizado en el sector agropecuario tanto en suelos y cultivos como en producción animal, tratamiento de residuos orgánicos y aguas residuales, reducción drástica de plagas (moscas), eliminación de olores molestos producidos por la descomposición de excretas y orina. Los altos volúmenes de desechos animales (excretas y orina) que se manejan en las instalaciones avícolas, ha traído como consecuencia un incremento de gases amoniacales y sulfurosos dentro y fuera de las instalaciones que afectan tanto a los

operarios como a los mismos animales; creando un ambiente altamente contaminado, generador de olores ofensivos y una alta población de moscas que afectan además a las comunidades vecinas. Las aspersiones de EM a la cama e instalaciones buscan establecer las poblaciones de microorganismos benéficos en las excretas, impidiendo la proliferación de otros microorganismos que pudren la materia orgánica. De esta manera el EM por fermentación del material reduce la generación de malos olores y la presencia de insectos plaga.

Bacterias Fotosintéticas o fototróficas (*Rhodopseudomonas spp*): Es un grupo de microorganismos autótrofos e independientes y autosuficientes, los cuales sintetizan sustancias útiles a partir de las secreciones de las raíces, materia orgánica y/o gases nocivos (Ej. Amoníaco, sulfuro de hidrógeno, metano), usando la luz solar y el calor del suelo como fuentes de energía. Las sustancias sintetizadas comprenden aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares. Estos metabolitos son absorbidos directamente por ellas, y actúan también como sustrato para incrementar la población de otros microorganismos benéficos (Salgado, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. CARACTERÍSTICAS DEL CAMPO EXPERIMENTAL

3.1.1. Ubicación Política

El ensayo de investigación se realizó en la Granja Avícola la Tolita, Integrado de la Empresa Pronaca, Parroquia Luz de América, Provincia Santo Domingo de los Tsáchilas, km 7 de la Vía Santo Domingo-Quevedo margen izquierdo, cinco kilómetros vía a la Reforma.

3.1.2. Ubicación Geográfica

Coordenadas UTM: 00° 20 854' Sur

79° 13 512' Oeste

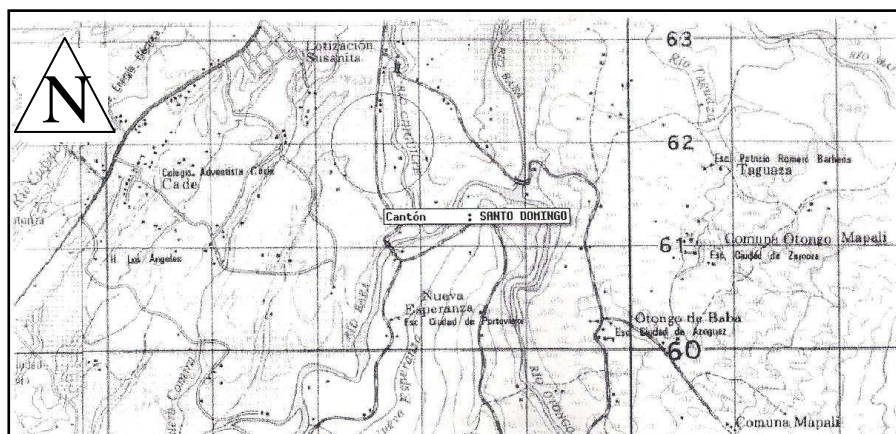


Figura 3. Croquis de ubicación del área experimental.

Fuente: Sistema de Información Geográfica del Gobierno de la Provincia de Pichincha, Microimagenes, Inc. TNT Client 6.9

3.1.3. Ubicación Ecológica

Según el diagrama de Zonas de Vida de L. Holdridge la zona de estudio corresponde a Bosque Húmedo Tropical (bh – T) (Cañadas, L. 1983)

- Altitud : 665 msnm.
- Temperatura : 18 - 28 °C
- Precipitación : 1600 mm/año

3.2. MATERIALES

3.2.1. Insumos

- 5985 Pollos Ross 308
- 65 litros de probiótico nativo
- 1 kilo de probiótico comercial
- 28022 kilos de alimento balanceado PRONACA
- Vacunas (6000 dosis de Newcastle - Clone 30, 6000 dosis de Bronquitis – IBH 120 y 6000 dosis (Gumboro – Bursine)
- 6 kilos de Vitamina (vitalizador avícola)
- 11 litros de cloro
- 4 litros de neutralizante de agua
- 1 kilo de leche en polvo
- 1 kit de reactivo para pH y cloro
- 1 galón de CID-20
- 8 litros de yodo
- 5 litros de virukill
- 60 kilos de cal viva

3.2.2. Equipos

- 42 comederos tubulares de 12 kg
- 21 comederos iniciales BEBÉ
- 21 bebederos manuales de galón
- 21 bebederos automáticos
- 6 criadoras a gas
- 20 tanques de gas industrial de 15 kg
- 1 rollo de cortinas (2.8m x 50m)
- 1 rollo de cortina (1m x 50m)
- 1 termómetro
- 1 cámara fotográfica
- Balanza electrónica

3.2.3. Instrumentos

- 3 Registros de campo
- 1 Libreta de campo
- 2 Esferos

3.2.4. Herramientas

- 1 machete
- 1 Pala redonda
- 28 estacas
- 3 rollos de alambre #18
- 1 rollo de malla plástica de 1.8 m x 50 m
- 3 baldes plásticos de capacidad 20 litros

3.2.5. Materiales y equipos de laboratorio

Cuadro 4. Tabla de equipos utilizados en laboratorio

Equipo	Unidad	Cantidad
Estufa bacteriológica	U	1
Incubadora	U	1
Microscopio compuesto	U	1
Cámara flujo laminar	U	1
Balanza analítica	U	1
Cocineta	U	1
Refrigeradora	U	1

Cuadro 5. Tabla de materiales y reactivos utilizados en laboratorio

Equipo	Unidad	Cantidad
Cajas petri	U	80
Test enzimático	U	1
Porta objetos	U	10
Tubos de ensayo	U	20
Pipeta	U	2
Vasos de precipitación (500 ml)	U	4
Elenmeyer (50 ml)	U	4
Agua destilada	L	40
Agar MRS	Gr	500
Caldo MRS	Gr	500

Continuación **Cuadro 5.** Tabla de materiales y reactivos utilizados en laboratorio

Alcohol industrial	L	1
Alcohol antiséptico	L	3
Suero fisiológico	L	1
Mascarillas	U	4
Guantes quirúrgicos	U	3
Placas Petrifilm3 M	U	1
Piceta	U	1
Mecheros	U	3

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. FASE DE LABORATORIO

3.3.1.1. Recolección de muestra

- Se seleccionó al azar un pollo de engorde Ross 308, para obtener los microorganismos con los cuales se elaboró el probiótico nativo. De esta ave se seleccionó el sistema digestivo que conformó la parte media del íleon y ciegos (Anexo 6).

3.3.1.2. Siembra en los medios de cultivo

Se tomó un raspado de la mucosa del íleon y de los ciegos respectivamente, para ser colocado en 5 ml de suero fisiológico y se procedió a la siembra en cajas petri conteniendo medios específicos para el desarrollo de Bacterias Acidolácticas, Agar y Caldo MRS (Anexo 10). Luego se colocaron en la incubadora a 28°C por 48 horas para *Lactobacillus* y 72 horas para *Bacillus*.

3.3.1.3. Purificación de colonias

Se procedió a purificar las cepas sembradas que presentaban características del género *Lactobacillus* (Borde uniforme y liso, Colonias grandes y densas) y *Bacillus* (Bordes irregulares, Color blanco a crema, Rugosas, Colonias grandes)

3.3.1.4. Identificación de cepas nativas

Para la identificación se utilizaron características Morfológicas, Pruebas Bioquímicas y Moleculares.

3.3.1.5. Concentración de bacterias

Para medir la concentración de las bacterias se utilizó el método para Crecimiento de Bacterias Ácido lácticas en Placas Petrifilm™ 3M y paralelamente se enviaron muestras a un laboratorio especializado para determinar la concentración.

3.3.1.6. Formulación del probiótico

- Se seleccionó una caja petri purificada de cada bacteria.
- Se tomó una muestra de cada caja petri y se inoculó en el medio de cultivo Caldo MRS, para obtener una solución madre del probiótico nativo (SMPN) y se colocó en la incubadora a 28⁰C por 48 horas.
- Para la activación del probiótico nativo se tomó una muestra de 10 ml de la solución madre con una pipeta para ser inoculada en una solución de agua más melaza.
- De la misma manera se activo el probiótico comercial.

3.3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.2.1. Factores a probar

a) Tipo y Dosis de probióticos

T₀: 0 ml/l agua

T₁: Probiótico nativo: 1,5; 3,0; 4,5 ml

T₂: Probiótico comercial: 1,5; 3,0; 4,5 ml

b) Lote

3.3.2.2. Tratamientos a comparar

Para evaluar el efecto de un probiótico nativo elaborado en base a *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis* en pollos Broiler Ross-308 en Santo Domingo de los Tsáchilas se probó los siguientes tratamientos.

TRATAMIENTO	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
T ₁	Pn ₁	1,5 ml probiótico nativo/l agua
T ₂	Pn ₂	3,0 ml probiótico nativo/l agua
T ₃	Pn ₃	4,5 ml probiótico nativo/l agua
T ₄	Pc ₁	1,5 ml probiótico comercial/l agua
T ₅	Pc ₂	3,0 ml probiótico comercial/l agua
T ₆	Pc ₃	4,5 ml probiótico comercial/l agua
T ₇	Sp	Testigo

3.3.2.3. Tipo de diseño

Se aplicó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA). Adicionalmente se realizó un análisis de varianza (ADEVA) para medir los cambios a través del tiempo.

3.3.2.4. Observaciones

La investigación constó de tres bloques. Cada bloque fue un ciclo productivo.

3.3.2.5. Características de la UE

Número de UE	: 21
Área Total	: 297 m ²
Área Útil	: 231 m ²
Forma	: Rectangular
Largo	: 11 m
Ancho	: 3 m
Número total de aves	: 5985
Número de aves por bloque	: 1995
Número de aves por tratamiento	: 285
Número de aves por repetición	: 95

3.3.3. Análisis estadístico

3.3.3.1. Esquema del análisis de varianza

Se utilizó un DBCA, con siete tratamientos, tres bloques en diferentes épocas.

Cuadro 6. Esquema del análisis de varianza para los factores en estudio

Fuente de Variación	Gl
Tratamiento	6
Testigo vs resto	1
P nativo vs P comercial	1
P nativo lineal	1
P nativo cuadratica	1
P comercial lineal	1
P comercial cuadratica	1
Lote	2
Tratamiento*lote	12
Error experimental	12
Error de muestreo	42
Total	62

3.3.3.2. Análisis funcional

Prueba de significancia Tukey al 5% para comparar medias de tratamientos significativos.

3.3.4. Datos tomados y métodos de evaluación

3.3.4.1. Peso

Al final de cada ciclo productivo se peso el total de pollos por tratamiento y por repetición y se calculó el peso promedio con el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Peso promedio (g)} = \frac{\text{Peso total de la observación (g)}}{\text{\# pollos observados}}$$

3.3.4.2. Conversión Alimenticia

Se llevó un control diario del consumo de alimento de cada tratamiento y al final se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Conversión Alimenticia} = \frac{\text{kg alimento consumido}}{\text{kg de carne producida}} \times 100$$

3.3.4.3 Mortalidad

Se contabilizó la mortalidad diaria y al final de cada lote productivo se calculó en porcentaje para sus respectivas comparaciones. Para el ADEVA se calculó la raíz de los datos de mortalidad para mejorar el coeficiente de variación.

$$\% \text{Mortalidad} = \frac{\# \text{ de pollos muertos}}{\# \text{ de pollos ingresados}} \times 100$$

3.3.4.4. Análisis bacteriológico

Se enviaron muestras a un laboratorio especializado para la identificación y determinación de bacterias patógenas en las aves.

3.3.5. MÉTODOS ESPECÍFICOS DE MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.3.5.1. Limpieza y desinfección del galpón

- Se procedió a lavar el galpón utilizando detergente industrial (tipol).
- Para el control de insectos y ácaros presentes en la cama se fumigó con cipermetrina.
- La desinfección del galpón y de equipos se realizó con formol y CID-20 (formaldehído 20%).

3.3.5.2. Preparación del galpón antes de la recepción de los pollitos

- Se utilizaron cortinas de lona para hermetizar completamente el galpón.
- Se colocaron tanques de agua y mangueras para cada tratamiento.
- También se realizaron corrales para recibir a los pollitos bb, utilizando una densidad de 40 pollos/m².
- Colocación de las criadoras uniformemente al centro del corral (criadora Gasolec 2500 Kcal con una capacidad para 1000 pollitos)
- Se distribuyó uniformemente todo el equipo para el ensayo.

3.3.5.3. Recepción de los pollitos

- Se procedió a colocar la ración alimenticia para cada tratamiento, de igual manera el agua de bebida.
- Para lograr mantener una temperatura ideal las criadoras se prendieron seis horas antes de la llegada de los pollitos.
- Los pollitos se colocaron debajo de la criadora.

3.3.5.4. Programa de Vacunación

7 DIAS:

- 14 litros de agua por cada 1000 pollos
- 3 gramos de leche en polvo por litro de agua
- 1 dosis de vacuna por ave. ND CLONE 30 (Newcastle), H 120 (Bronquitis), BURSINE (Gumboro). Laboratorio Aventis.

16 DIAS:

- 22 litros de agua por cada 1000 pollos
- 3 gramos de leche en polvo por litro de agua
- 1 dosis de vacuna por ave, Avinew (Newcastle), BURSINE (Gumboro). Laboratorio Aventis.

3.3.5.5. Manejo

- Todos los días se suministró el alimento a las aves y se lavaron los bebederos.
- Se registró diariamente la mortalidad.
- La temperatura interior del galpón fue manejada mediante una tabla de referencia.
- Las ampliaciones y espacios para las aves fueron periódicas.
- Los pesos se tomaron cada siete días.

3.3.5.6. Protocolo del probiótico

- La inclusión en el agua de bebida fue durante el ciclo productivo.
- La aplicación del probiótico fue suspendida un día antes y un día después en procesos de vacunación y medicaciones.
- Para realizar la mezcla del probiótico en el agua de bebida se utilizó un neutralizante de cloro.
- Se prepararon soluciones frescas diariamente.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. FASE DE LABORATORIO

4.1.1. Identificación de los aislamientos bacterianos

En las pruebas bioquímicas y caracterización morfológica realizadas en el Laboratorio de Control Biológico de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias Santo Domingo, se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuadro 7. Pruebas morfológicas de los géneros *Lactobacillus* y *Bacillus*

Género	Forma	Tamaño	Color	Superficie	Tinción	Agrupación
<i>Lactobacillus</i>	Bacilos	2-5 mm	Crema	Cóncava	Positivo	Cadena
<i>Bacillus</i>	Bacilos	1,2-10 µm	Amarillo	Cóncava	Positivo	Cadena

Cuadro 8. Pruebas Bioquímicas de los géneros *Lactobacillus* y *Bacillus*

Género	Catalasa	Oxidasa	Gelatinasa	Ureasa
<i>Lactobacillus</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>Bacillus</i>	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo

Luego de una primera caracterización las cepas: *Lactobacillus* y *Bacillus* se enviaron al Laboratorio de Microbiológica y Control de Calidad Concepto Azul para complementar la caracterización a nivel de especie por medio de la identificación molecular.

4.1.2. Identificación Molecular de las Cepas Nativas

Para la identificación molecular se envió una muestra por bacteria precaracterizada por pruebas morfológicas y bioquímicas. Este proceso realizado por el laboratorio Concepto azul dio como resultado las secuencias de ADN Ribosomal 16S para cada cepa.

Los resultados de la secuenciación de la cepa bacteriana (*Bacillus*) permitió analizar una secuencia de 1508 pares de bases, la cual mostró tener 100% de homología con cepas de *Bacillus subtilis* (Anexo 2).

La cepa bacteriana (*Lactobacillus*) permitió analizar una secuencia de 1352 pares de bases, la cual mostró tener 100% de homología con cepas de *Lactobacillus acidophilus*. A partir de estas cepas se obtuvo el probiótico nativo. (Anexo 2)

4.1.3. Control de colonias viables de las cepas para la formulación del probiótico

La concentración de las bacterias obtenidas en el análisis de laboratorio fue bastante alta, por lo cual se pudo asegurar que el protocolo establecido para producir el probiótico a suministrar a las aves contenía bacterias viables en una cantidad de 10^7 ufc de *Lactobacillus acidophilus* a 28 °C por 48 horas y 10^6 ufc a 28 °C por 72 horas respectivamente. (Anexo 1)

4.1.4. Recuento de Aerobios

Como Método rápido para determinar el Crecimiento y numero de Bacterias Ácido-lácticas se usaron Placas Petrifilm™ Las Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios en combinación con el caldo MRS y una incubación anaerobia favoreció el crecimiento de la bacteria ácido-láctica.

Las colonias heterofermentativas son de un color rojo a café-rojizo, se estimó un recuento aproximado de 10^6 colonias viables por cm^2 . (Anexo 7).

4.2. FASE DE CAMPO

4.2.1. GANANCIA DE PESO

Para esta variable, el ADEVA establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos y error experimental. Mientras que para los contrastes existe

diferencia estadística significativa. Al realizar la tendencia polinómica se observa que en el probiótico nativo existe diferencia no significativa para la lineal y cuadrática y en el probiótico comercial existe diferencia significativa para la lineal y no significativa para la cuadrática.

Los lotes evaluados en diferentes épocas muestran una diferencia estadística significativa es decir que los lotes no fueron iguales. De igual manera la interacción tratamiento x lote muestra diferencia estadística significativa.

Cuadro 9. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis de probióticos sobre el peso en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.

Fuente de Variación	SC	GI	CM	F	Prob.
Tratamiento	76872,41	6	12812,07	29,61	<,0001*
Testigo vs resto	59664,02	1	59664,02	302,11	<,0001*
P nativo vs P comercial	8189,35	1	8189,35	41,47	<,0001*
P nativo lineal	72,00	1	72,00	0,36	0,5492 ns
P nativo cuadrática	18,96	1	18,96	0,10	0,7582 ns
P comercial lineal	8888,88	1	8888,88	45,01	<,0001*
P comercial cuadrática	39,18	1	39,18	0,20	0,6583 ns
Lote	4666,95	2	2333,47	5,39	0,0213*
Tratamiento*lote ¹	5192,82	12	432,73	2,19	0,0305*
Error experimental	9859,78	12	704,27		
Error de muestreo	3627,72	42	197,49		
Total	95026,86	62			
CV (%)			0,53		

* Significativo, ns no significativo

¹. Error usado para Tratamiento y Lote

Al realizar la prueba de significación de Tukey al 5 % de probabilidad (Cuadro 10), se detectaron cuatro rangos de significación, en el primer rango se muestra el T₄ con un promedio de 2710 g, en el último rango se encuentra el testigo que presentó un promedio de 2586,67 g que es un peso muy inferior a los demás.

El coeficiente de variación (0,53%), refleja el grado de precisión y exactitud con que se ha manejado esta investigación.

Cuadro 10. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de peso.

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
T ₄	2710,00	9	4,68	A	
T ₅	2685,22	9	4,68	A	B
T ₆	2665,56	9	4,68		B
T ₁	2664,89	9	4,68		B
T ₂	2661,11	9	4,68		B
T ₃	2660,89	9	4,68		B
T ₇	2586,67	9	4,68		C

En la Figura 4, se analizan los resultados del efecto de los probióticos en la ganancia de peso, el tratamiento que presentó la mayor ganancia de peso final fue la dosis 1,5 ml de probiótico comercial T₄, con un valor de 2710 g y dentro del probiótico nativo se encuentra el T₁ con un valor de 2664,89 g, a diferencia del T₇, el cual presentó el peso más bajo 2586,67 g. Los probióticos reportaron mejor ganancia de peso promedio, incrementando 87 g más al final en relación al testigo.

Esto concuerda con Hoyos (2008), que en ganancia de peso observó que los machos tratados con EM (microorganismos eficaces) incrementaron 120,4 g en la ganancia de peso final. Los resultados se deben a que las bacterias usadas como probiótico ayudan al mejoramiento de la flora bacteriana intestinal mejora las características nutricionales del alimento y por ende mejora la digestibilidad del mismo, aumenta la energía metabolizable lo cual incide en la ganancia de peso de las aves.

Lo que demuestra que los probióticos mejoran la absorción del alimento y el rendimiento de las aves. Y se constata con Cortes y Ávila (2000) y Araujo (2005) quienes observaron una diferencia significativa en los pollos tratados con probióticos.

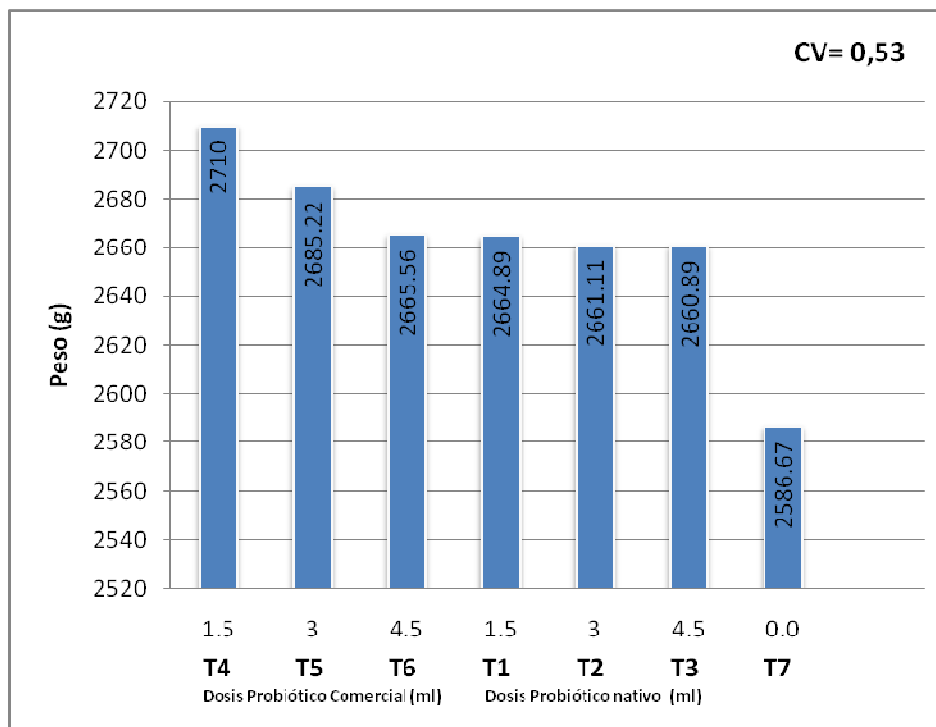


Figura4. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre el peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 5, se observa el análisis de correlación para el probiótico nativo cuyo coeficiente de determinación indica un mejor ajuste cuadrático. Además, al resolver la ecuación $y = a + bx + cx^2$ se determina que la mayor ganancia de peso se obtiene cuando x tiene un valor de 3,08 ml que corresponde a una producción máxima de 2673 g.

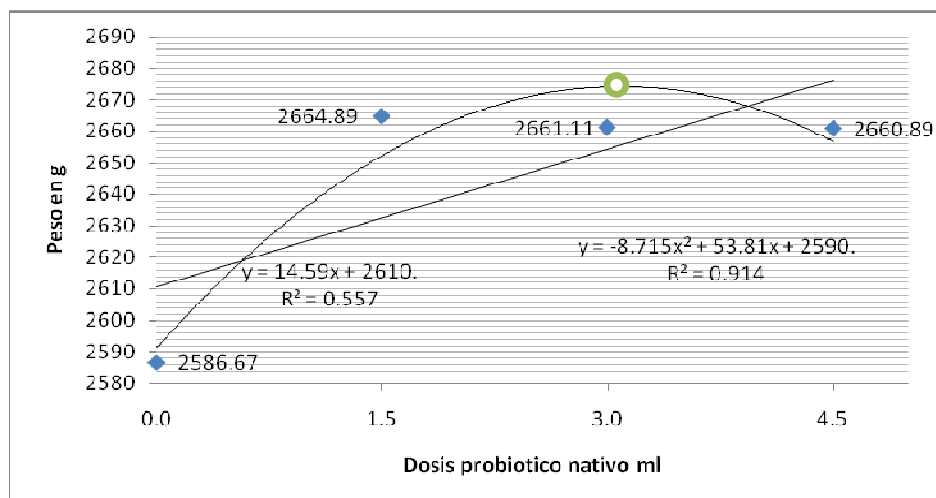


Figura 5. Análisis de correlación del probiótico nativo para la variable peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 6, se observa el análisis de correlación para el probiótico comercial cuyo coeficiente de determinación también indica un mejor ajuste cuadrático y al resolver la ecuación $y = a + bx + cx^2$ se determina que la mayor ganancia de peso se obtiene cuando x tiene un valor de 2,69 ml que corresponde a una producción máxima de 2708,6 g.

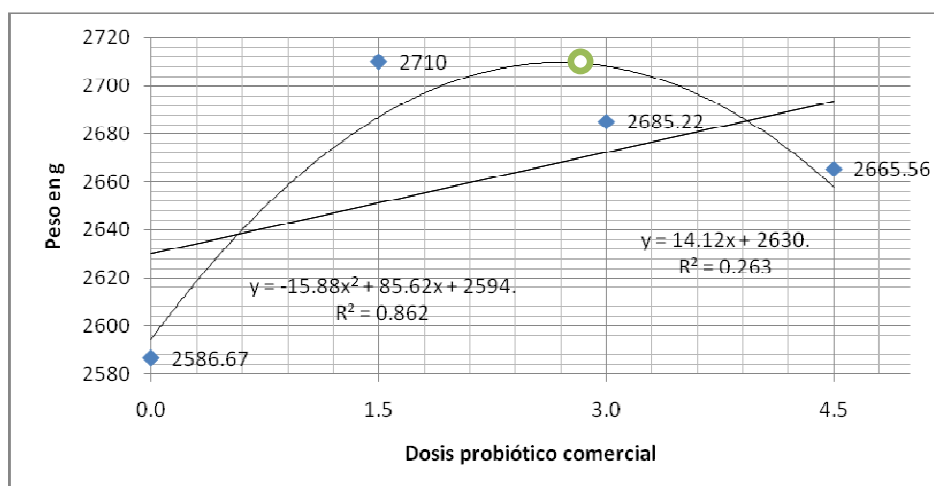


Figura 6. Análisis de correlación del probiótico comercial para la variable peso en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

4.2.2. CONVERSIÓN ALIMENTICIA (CA)

Para la variable Conversión Alimenticia, el ADEVA establece que existen diferencias significativas y para la comparación del Testigo vs el resto de tratamientos existe diferencia estadística significativa.

Al realizar la tendencia polinómica se observa que en el probiótico nativo existe diferencia significativa para la lineal y no significativo para la cuadrática y en el probiótico comercial de igual manera existe diferencia significativa para la lineal y no significativo para cuadrática.

Los lotes evaluados en diferentes épocas muestran una diferencia estadística significativa y para la interacción tratamiento x lote existe una diferencia no significativa.

El coeficiente de variación (1,11%), es bajo y da confianza a los resultados obtenidos en la investigación.

Cuadro 11. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis de probióticos sobre la conversión alimenticia en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.

Fuente de Variación	SC	Gl	CM	F	Prob.
Tratamiento	0,1	6	0,02	39,76	<,0001 s
Testigo vs resto	0,0715	1	0,0715	170,71	<,0001 s
P nativo vs P comercial	0,0163	1	0,0163	39,05	<,0001 s
P nativo lineal	0,0018	1	0,0018	4,30	0,0444 s
P nativo cuadrática	0,0000	1	0,0000	0,00	1,0000 ns
P comercial lineal	0,0098	1	0,0098	23,39	<,0001s
P comercial cuadrática	0,0004	1	0,0004	1,13	0,2936 ns
Lote	0,0113	2	0,0056	13,55	<,0001 s
Tratamiento*lote ²	0,0029	12	0,0002	0,58	0,8430 ns
Error experimental	0,01	12	0,001	2,44	1,94 s
Error de muestreo	0,0087	42	0,0004		
Total	0,13	62			
CV (%)			1,11		

* Significativo, ns no significativo

². Error usado para Tratamiento y Lote

En el Cuadro 12, se observa que dentro del rango de significación A, se encuentra los tratamientos que se aplicaron el probiótico T₄, T₅, T₆ y T₁, con mejores conversiones alimenticias.

Cuadro 12. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de CA

Tratamiento	Medias	n	E.E.		
4	1,78	9	0,01	A	
5	1,82	9	0,01	A	B
6	1,83	9	0,01	A	B
1	1,83	9	0,01	A	B
2	1,84	9	0,01		B
3	1,85	9	0,01		B
7	1,92	9	0,01		C

En la Figura 7, se observa que el tratamiento que presentó la mayor eficiencia fue la dosis 1,5 ml de probiótico comercial (T₄), con un valor de 1,78 a diferencia del

T₇, el cual presentó un valor más alto 1,92. Se deduce que la conversión es baja por que presenta menor número de aves muertas con respecto a los demás tratamientos.

El uso de probióticos, tanto nativos como comerciales, mejoró la Conversión Alimenticia, los microorganismos ayudaron a mejorar la digestión y asimilación de los nutrimentos, lo cual se afirma con Hoyos (2008) que observó una diferencia en el índice de conversión alimenticia a favor de los machos tratados con EM de 0,11.

También se puede constatar con Araujo (2005) quien probó un producto a base de bacterias y enzimas y comprobó una eficiencia en el consumo de alimento. Ramírez *et al.* (2005), demostraron que al incluir probiótico a base de *Lactobacillus sp.* y *Bacillus sp.* la conversión alimenticia mejoró, puesto que se registraron datos de pollitas que al adicionar probiótico en su dieta tuvieron una conversión alimenticia de 2,35 mientras que el tratamiento control tuvo una conversión de 2,68.

En un estudio realizado por Hansen (2004), citado por Milian (2005) menciona que al adicionar un probiótico compuesto por esporas de *Bacillus licheniformis* y *subtilis*. Demostrando que las enzimas que producen estas cepas como: amilasas, proteasas, lipasas contribuyen a mejorar la digestión de los ingredientes del pienso, hecho que se refleja en claras mejoras en los parámetros productivos como la ganancia de peso, conversión, mortalidad e ingresos económicos.

Palacios (2009), corrobora diciendo que la salud intestinal del broiler es la función óptima del tracto digestivo aspecto primordial que le permite alcanzar el peso y la conversión alimenticia para la línea genética en cuestión.

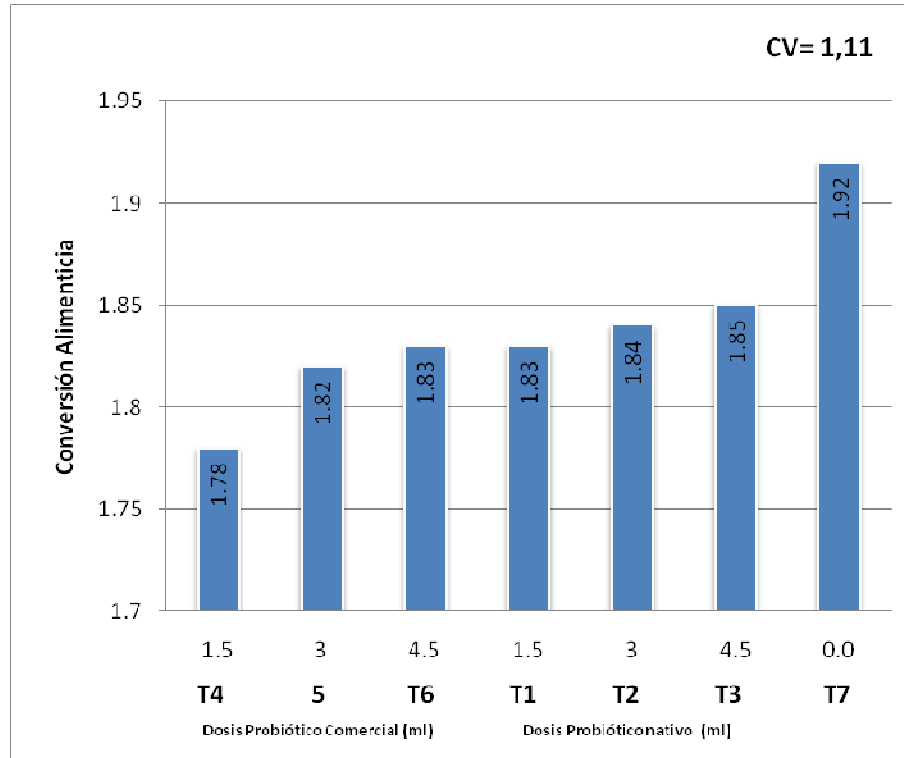


Figura 7. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la conversión alimenticia en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 8, se observa el análisis de correlación para el probiótico nativo y se deduce que a medida que se incrementa la dosis a partir de 2,96 ml por litro de agua, la conversión alimenticia tiende a incrementarse.

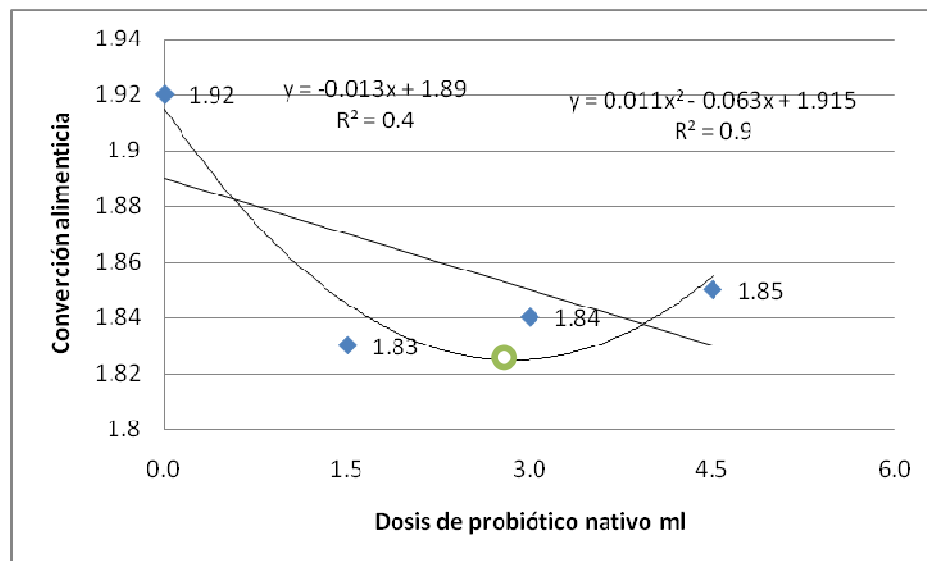


Figura 8. Análisis de correlación del probiótico nativo para la variable conversión alimenticia en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 9, se observa el análisis de correlación para el probiótico comercial y se determina que a medida que se incrementa la dosis a partir de 2,81 ml por litro de agua, la conversión alimenticia tiende a incrementarse.

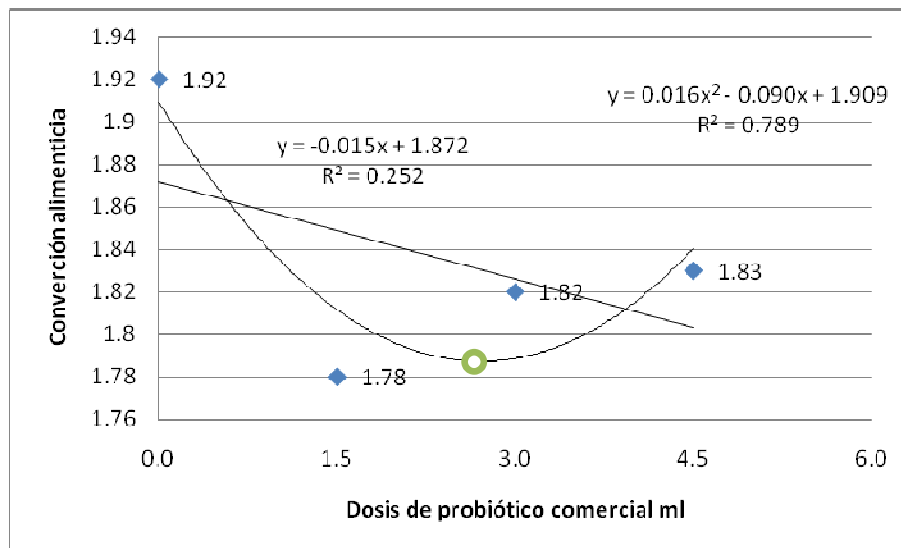


Figura 9. Análisis de correlación del probiótico comercial para la variable conversión alimenticia en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

4.2.3. MORTALIDAD

Para esta variable, el ADEVA establece que existen diferencias significativas, para los tratamientos y error experimental. Mientras que para los contrastes existe diferencia estadística significativa.

Al realizar la tendencia polinómica se observa que en el probiótico nativo existe diferencia significativa para la lineal y no significativo para la cuadrática y en el probiótico comercial existe diferencia significativa para la lineal y no significativo para el modelo cuadrático.

Los lotes evaluados en diferentes épocas muestran una diferencia estadística significativa y para la interacción tratamiento x lote existe una diferencia no significativa.

El coeficiente de variación (11,57%), es bajo y da confianza a los resultados obtenidos.

Cuadro 13. ADEVA para medir el efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial, sobre la mortalidad en pollos broiler en Santo Domingo, 2 010.

Fuente de Variación	SC	GI	CM	F	F tab
Tratamiento	2,79	6	0,47	8,90	<,0001
Testigo vs resto	1,392	1	1,39	26.63	<.0001 s
P nativo vs P comercial	0,799	1	0,79	15.29	0.0003 s
P nativo lineal	0,236	1	0,23	4.53	0.0393 s
P nativo cuadratica	0,0002	1	0,00021	0.00	0.9495 ns
P comercial lineal	0,3210	1	0,321	6.14	0.0173 s
P comercial cuadratica	0,0427	1	0,042	0.82	0.3711 ns
Lote	0,18	2	0,0899	1,72	0,1911 s
Tratamiento*lote ³	0,0029	12	0,0002	0,58	0,8430 ns
Error experimental	0,54	12	0,04		
Error de muestreo	1,91	42	0,05		
Total	5,42	62			
CV (%)			11,57		

* Significativo, ns no significativo

³. Error usado para Tratamiento y Lote

Se ha transformado los datos de mortalidad que vienen de un conteo de eventos raros, obteniéndose un coeficiente de variación más real.

Cuadro 14. Prueba de Tukey al 5% para los promedios de Raíz de mortalidad.

Tratamiento	Medias	n	E.E.			
7	2,34	9	0,07	A		
3	2,14	9	0,07	A	B	
2	2,04	9	0,07		B	C
1	1,92	9	0,07		B	C D
6	1,89	9	0,07		B	C D
5	1,85	9	0,07			C D
4	1,63	9	0,07			D

Al realizar la prueba de significación de Tukey al 5 % de probabilidad, se detectaron cuatro rangos de significación, en el primer rango se muestra el tratamiento T₄ 1,5 ml de probiótico comercial, es el que tiene la mortalidad más baja.

La Figura 10, ilustra al T₄ con menor mortalidad y por ende tiene mayor número de aves y se ve reflejado en una mejor conversión alimenticia frente a los otros tratamientos.

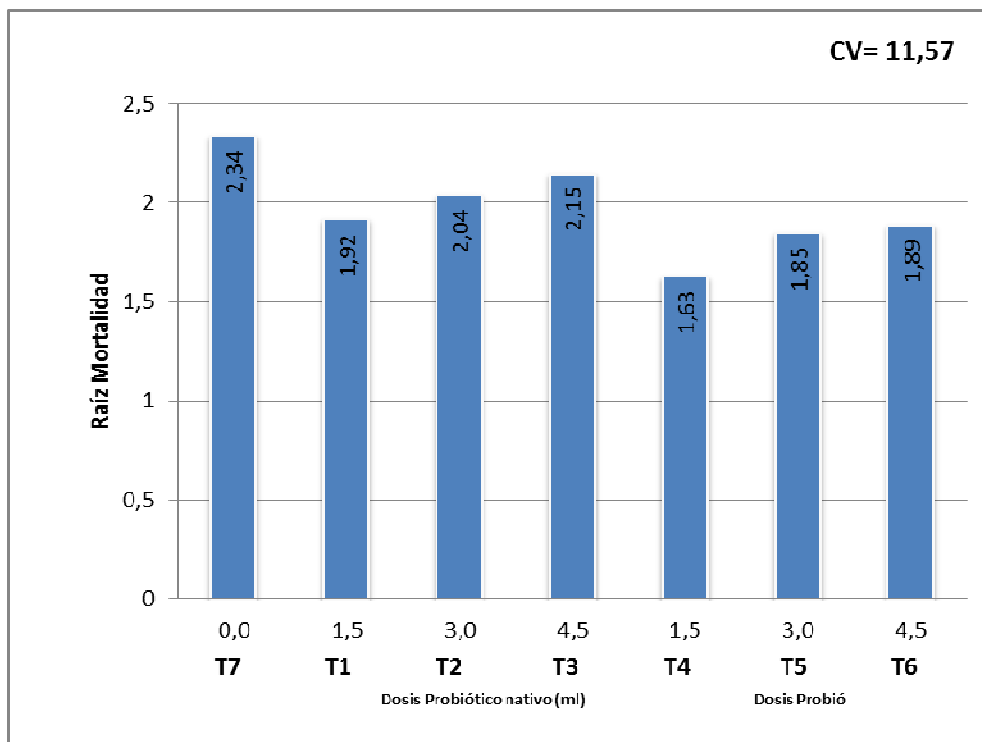


Figura 10. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la raíz de mortalidad en pollos broiler en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 11, el tratamiento que presentó menor porcentaje de mortalidad fue la dosis 1,5 ml del T₄ con un valor de 2,69% y dentro del probiótico nativo T₃ con un valor de 3,74 % a diferencia del T₇, el cual presentó el más alto 5,5%, y se deduce que las bacterias benéficas tienen la capacidad de multiplicarse, adherirse y colonizar el segmento gastrointestinal y esto permite mantener un buen estado sanitario lo cual coincide con Cortés y Ávila (2000) e indican que el uso de probióticos para pollos de engorde permiten la reducción de la mortalidad y de igual manera se afirma con Maruta (1996) mediante estudio determinó que la mortalidad fue disminuida a 2,7% y 4,5%, con respecto al grupo control.

Hansen (2004), el cual es citado por Milian (2005), Además inhibe el crecimiento de agentes patógenos (*Clostridium perfringens*, *Staphylococcus*, bacterias coniformes, *Eimeria*) y estimulan la respuesta inmunitaria dotando al animal completamente sano.

Los probióticos mantuvieron un equilibrio de la flora saprofita logrando mantener la salud de las aves y se confirma con la aseveración de Granados (2008) que las bacterias útiles como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacillus* juegan un papel importante en el control de la flora y estimula el desarrollo de la pared intestinal. Nava (2008) corrobora diciendo que los mecanismos de acción de los probióticos juegan un papel muy importante en el sistema digestivo, bajando el pH, un efecto competitivo, estimulación de defensa inmunointestinal y producción de bacteriocinas.

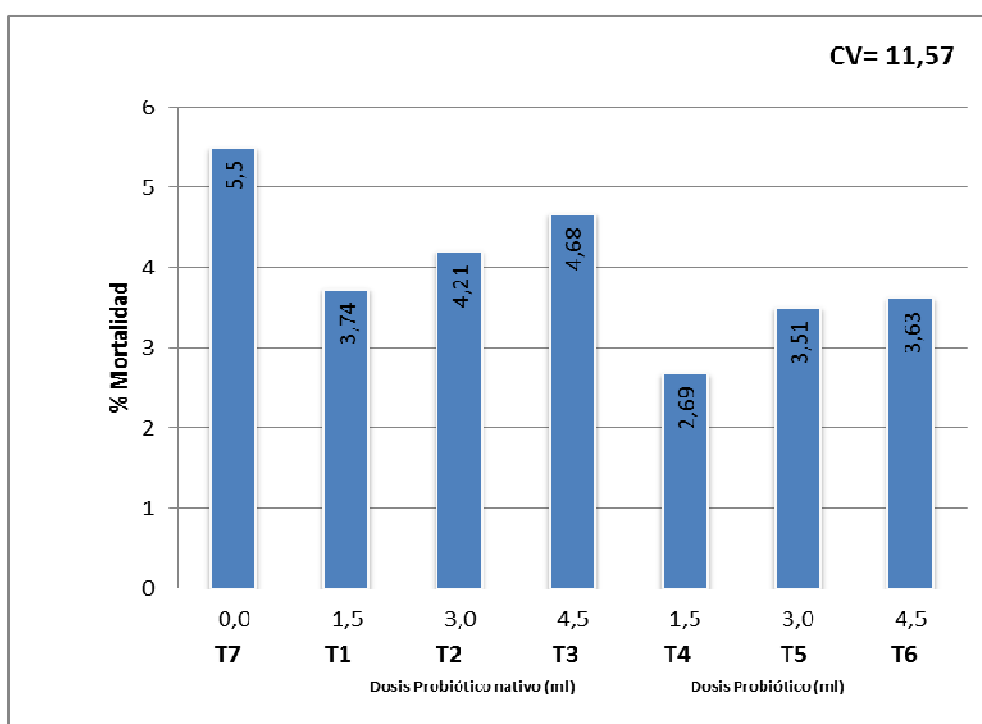


Figura 11. Efecto de diferentes dosis de probiótico nativo y comercial sobre la mortalidad expresado en porcentaje en pollos en broiler en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 12, se observa el análisis de correlación y se deduce que a medida que se incrementa la dosis del probiótico nativo la mortalidad tiende a subir cuando se administra una dosis de 2,5 ml por litro de agua, donde el porcentaje de mortalidad llega al 3,8 %.

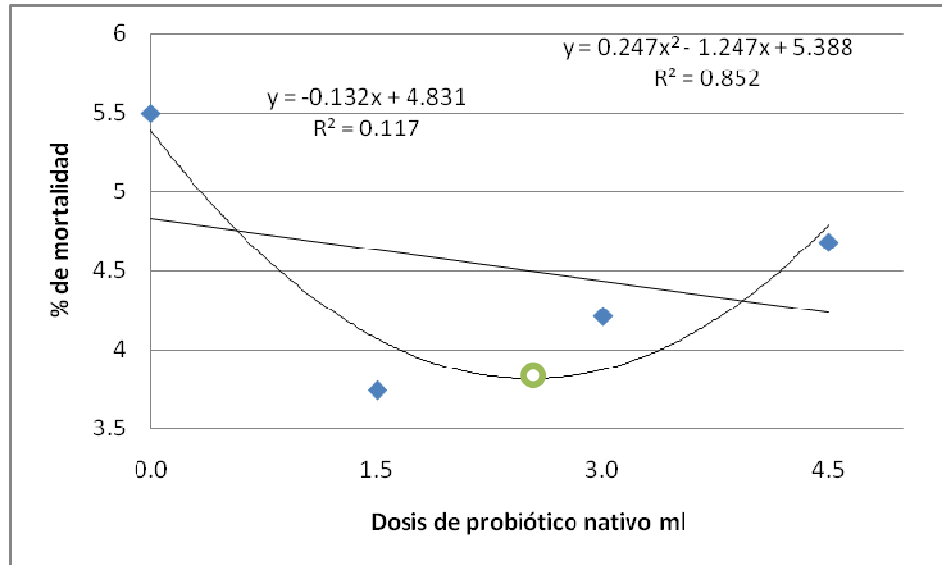


Figura 12. Análisis de correlación del probiótico nativo para la mortalidad en pollos broiler a los 42 días en Santo Domingo, 2010.

En la Figura 13, se observa el análisis de correlación y se deduce que a medida que se incrementa la dosis del probiótico comercial la mortalidad tiende a incrementarse al suministrar una dosis de 2,7 ml, con una mortalidad de 2,8 %.

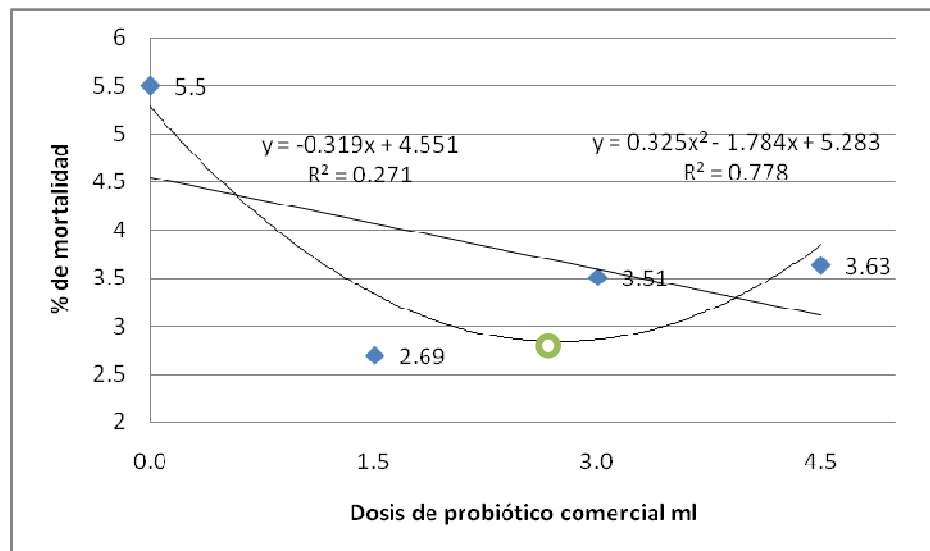


Figura 13. Análisis de correlación del probiótico comercial para la mortalidad en pollos broiler a los 42 días, en Santo Domingo, 2010.

4.2.4. FACTOR EFICIENCIA EUROPEA (FEE)

El factor del índice de eficiencia europeo tiene un valor constante de 300, cuyo objetivo es valorar los resultados zootécnicos del lote para determinar la rentabilidad económica. Si el resultado es mayor a 300 el lote productivo es bueno en términos económicos y si fuese un valor menor a 300 su rentabilidad es menor.

TRAT.	DOSIS (ml/l)	F.E.E
4	1,5	342,56
5	3	338,15
6	4,5	332,21
1	1,5	330,49
2	3	335,08
3	4,5	330,44
7	0,0	309,12

El mejor resultado corresponde para el tratamiento cuatro cuyo valor supera a todos los tratamiento con 342, cabe mencionar que todos los tratamientos que se aplico probióticos obtienen un valor idóneo para este factor de evaluación.

4.2.5. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

Para los tres factores evaluados no se encontró infección por *Salmonella* en pollos de engorde (Anexo 4-5).

Mediante reporte del análisis para parásitos gastrointestinales el tratamiento testigo tuvo gran cantidad de infección por Coccidias (*Eimeria tenella*, *máxima* y *acervulina*) y huevos de Áscaris, mientras en los tratamientos con probióticos no se encontró. Y se afirma con un estudio realizado por Hoerr (2009), que la enteritis y la coccidiosis son las principales amenazas de la integridad intestinal. De igual manera se concuerda con Milian (2005) y Rossi *et al.* (2006), el probiótico utilizado fue destacado como una biota acción del controlador o inhibidor de microorganismos patógenos, las aves mostraron un mejor desempeño en comparación con el tratamiento control.

La prueba microtest HI/Newcastle fue mas baja en el testigo 1:0, 1:40 y la más alta fue en los probióticos con 1:80, 1:40, los valores más altos determinan una excelente cantidad de anticuerpos y estimulación al sistema inmunológico. En el testigo existe un desafío que debe ser evaluado a cabalidad. Esto también concuerda con Ortiz (2006), a la eclosión el sistema inmunitario es inmaduro, y el pollito depende en gran medida del ambiente en que se encuentra. La capacidad de producir anticuerpos es menor en el transcurso de generaciones sucesivas.

La inclusión de probióticos ayudó a estimular el sistema inmunológico digestivo y se afirma con lo descrito por Gómez (2010), que el sistema inmune digestivo se considera como uno de los más grandes al ser el sitio que contiene mayor cantidad de células inmunológicas organizadas en diferentes estructuras. Los mejores reportes de la inclusión de probióticos fueron para el comercial, se deduce por que contiene varios géneros de bacterias y enzimas benéficas y es un producto liofilizado y esto concuerda con Yegani (2010), quien menciona que las preparaciones comerciales de probióticos pueden ser de cepa única o múltiple y también como una mezcla de varias especies (multiespecies) de bacterias. Los productos multiespecies pueden tener el beneficio de ser eficaces contra una gama más amplia de condiciones del tubo digestivo.

Con estos resultados está demostrado que las bacterias probióticas ayudan a mejorar los parámetros productivos en pollos de engorde.

4.2.6. ANÁLISIS ECONÓMICO

Siguiendo la metodología del presupuesto parcial, según Perrin *et al.* (1976), se procedió a obtener el beneficio bruto que correspondió al rendimiento en kilogramos de las aves procesadas en cada tratamiento. Este peso se multiplicó por el valor del kilo de carne de pollo en el mercado nacional.

Por otro lado se obtuvieron los costos variables para cada uno de los tratamientos, de la diferencia entre el beneficio bruto y los costos variables se obtuvo el beneficio neto.

Cuadro 15. Costos variables y beneficios para los tratamientos con la adición de probióticos a base de *L. acidophilus* y *B. subtilis*

Trat.	Dosis Prob. (ml)	Total de Costos que varían (\$/Trat)	Beneficios Bruto (\$/Trat)	Beneficios Netos (\$/Trat)	Dom.
7	0	0	2884,2391	2884,2391	nd
1	1,5	4	3026,6321	3022,6321	nd
2	4,5	8	3007,618	2999,618	d
4	3	9	2992,7623	2983,7623	d
3	3	12	3111,5205	3099,5205	nd
5	1,5	18	3057,10618	3039,10618	d
6	4,5	28	3031,06328	3003,06328	d

Ordenando los costos que varían de manera creciente, acompañados de los beneficios netos, se procedió a realizar el análisis de dominancia, donde el tratamiento dominado es aquel que a igual o menor beneficio neto, presentó un mayor costo variable.

De este análisis se determinó que los tratamientos no dominados son el 7,1,3. Al realizar el análisis de la tasa de retorno marginal el tratamiento numero 3 se constituyó en la alternativa económica recomendable.

Cuadro 16. Análisis marginal de tratamientos no dominados

Trat.	Dosis Prob.	Total de Costos que varían	Beneficios netos	CV marg	BN marg	TRM%
7	0	0	2884,2391	-	-	-
1	1,5	4	3022,6321	4	138,393	2,8903196
3	3	12	3099,5205	8	76,8884	10,4046904

Los beneficios netos aumentan conforme la cantidad invertida crece, la tasa de retorno marginal para gastos por encima de los USD \$ 12 es de 10,4% . El costo marginal del primer incremento es de \$4, el beneficio neto marginal es de \$138,29, y la tasa de retorno marginal es por lo tanto 2,89 %. El costo marginal del segundo incremento es de \$8, el beneficio marginal es de \$76,8 y la tasa de retorno marginal 10,4%

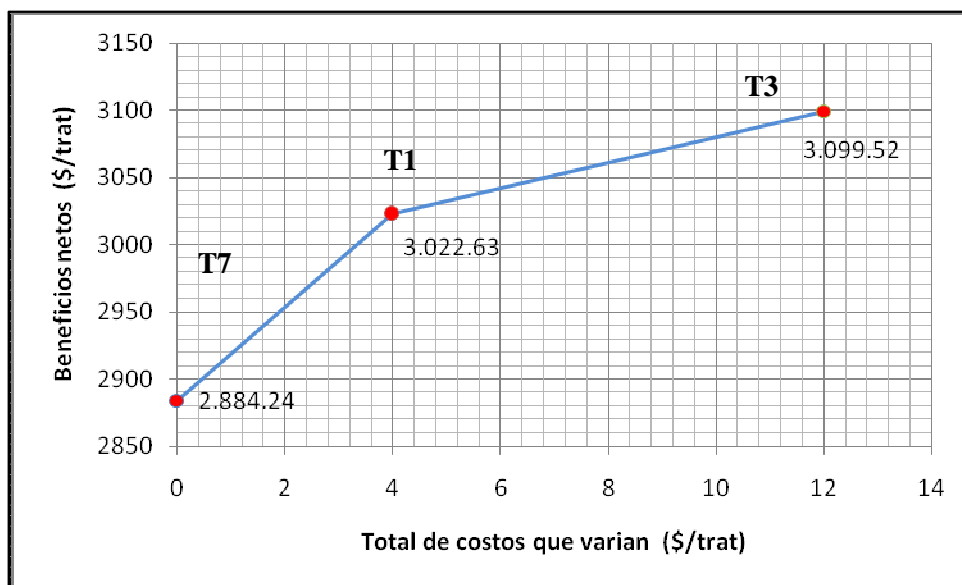


Figura 14. Curva de beneficios netos

En la Figura 14, se observa la relación entre los costos variables de las alternativas y los beneficios netos obtenidos, se muestra claramente que el tratamiento T₃ tiene un beneficio neto máximo.

Aparentemente no existe una diferencia muy marcada para estos dos índices desde el punto de vista económico, pero teniendo en cuenta que se trata de un producto competitivo y sensible económicamente en el mercado por el alto volumen en el que se produce se consideran algunos aspectos positivos en el lote experimental con el probiótico nativo como el menor costo de producción por unidad en pie (kg), una mayor utilidad neta siendo esta mayor que en el lote control sin probiótico.

V. CONCLUSIONES

- Los probióticos no son antibióticos, pero si se usan correctamente junto con medidas nutricionales de manejo y de bioseguridad, pueden ser una herramienta poderosa para mantener la salud del tracto gastrointestinal de las aves, mejorando así su rendimiento zootécnico.
- Las bacterias benéficas si contribuyen a inhibir el crecimiento de las bacterias patógenas mediante diversos mecanismos, además de estimular al aparato inmunocompetente, sintetizan vitaminas, que ayudan a mantener sano al animal.
- En cuanto a las variables de peso, conversión alimenticia y mortalidad los mejores resultados se obtuvieron con la dosis de 1,5 ml tanto el probiótico nativo y comercial por litro de agua.
- La aplicación de bacterias probióticas hace más eficiente el uso y consumo de alimento balanceado ya que con el mismo consumo de alimento permite tener una mejor ganancia de peso final y esta constatado con una conversión de 1,78 que corresponde al T₄.
- Los microorganismos benéficos ayudan a mantener una flora saprofita equilibrada en el sistema digestivo y se obtuvo una mejora en la digestión de los nutrimentos ya que se observó heces consistentes y libres de alimento balanceado (Anexo. 9).
- La inclusión de bacterias probióticas contribuyó a mejorar el estado sanitario de las aves, siendo más efectivas en el tratamiento uno y cuatro con la dosis de 1,5 ml fue la que alcanzó mayor ganancia de peso.
- Considerando la alternativa más recomendable económicamente, los tratamientos que presentaron una mejor relación beneficio costo fueron el T₁ y T₃; ambos pertenecientes al probiótico nativo. Las ganancias obtenidas al incrementar la

dosis a 3 ml son mayores que las dosis de los tratamientos T₇ y T₁ pero con un incremento de los costos que varían.

- Todos los tratamientos a los cuales se les aplicó los probióticos obtuvieron una eficiencia europea adecuada superando la constante cuyo valor es 300. Pero el que mostro ser más eficiente fue el tratamiento cuatro del probiótico comercial debido a que obtuvo un peso más alto, menor mortalidad y baja conversión alimenticia.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la inclusión de probiótico nativo o comercial en dosis de 1,5 ml por litro a través del consumo de agua, puesto que mejora la ganancia de peso, mejor conversión alimenticia y sanidad de las aves.
- Es necesario buscar nuevas alternativas en la multiplicación de bacterias ácido lácticas nativas, diversos sustratos con y sin esterilización para la reducción de costos en la producción de los probióticos y obtener un producto competitivo y al alcance de los avicultores.
- Se recomienda utilizar neutralizante de cloro antes de realizar la inoculación en el agua de bebida, ya que las bacterias mueren en presencia de cloro y otros productos desinfectantes.
- Realizar nuevos estudios empleando levaduras u otros microorganismos con características probióticas.
- El manejo y preparación de las bacterias debe ser lo mas estéril posible a fin de evitar posibles contaminaciones, alterando la microbiota de la solución.
- Se trata de microorganismos vivos y no debemos abusar de ellos.

VII. RESUMEN

La Industria avícola ha experimentado un importante crecimiento en el Ecuador durante estos últimos años, convirtiéndose en un producto con creciente representatividad a diferencia de otros tipos de carne. En el Ecuador, ha sido poco estudiada la inclusión y acción de los probióticos sobre el sistema gastro intestinal, ya que existen gran cantidad de bacterias patógenas que causan un desequilibrio microbiano en el sistema intestinal de las aves, sometidos al uso excesivo de antibióticos los cuales han incrementando los costos de producción. Existe por lo tanto la necesidad de implementar biotecnologías adecuadas al manejo de los broilers, una de ellas es la aplicación de bacterias benéficas o microorganismos eficientes a través del agua de bebida, siendo el objetivo del presente estudio determinar los efectos de la inclusión de probióticos durante la etapa de crianza en pollos broilers (Línea ROSS-308), para el mejoramiento de los parámetros sanitarios, productivos y económicos. Se usó un Diseño de Bloque Completamente al Azar (DBCA) en diferentes épocas, utilizándose 3 dosis de probiótico nativo y comercial que fue de 1,5; 3,0 y 4,5 ml/ l agua. Se identificaron en la parte media del íleon y ciegos del tracto gastrointestinal en pollos Broiler Ross-308 de seis semanas en producción, microorganismos benéficos principalmente del género *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*. La multiplicación del inóculo nativo inicial resultó ser efectiva al mantener la concentración de 10^6 ufc/ml para *Bacillus subtilis* y 10^7 ufc/ml para *Lactobacillus acidophilus*. En cuanto a las variables evaluadas, la aplicación de probióticos influyó positivamente sobre la ganancia de peso, conversión alimenticia y disminuyó la tasa de mortalidad. El porcentaje de colonización de las bacterias benéficas fue elevada ya que no se reportaron parásitos gastrointestinales mediante análisis en laboratorio y contribuyó a mejorar el estado sanitario de las aves, evidenciándose pollos libres de *E. coli*, *Eimeria* y *Salmonella*. Los tratamientos con una mayor relación beneficio costo fue el T₁ y T₃ (1,5 y 4,5 ml probiótico nativo/l agua). Siendo el mejor el T₃.

VIII. SUMMARY

The poultry industry has experienced significant growth in Ecuador in recent years, becoming a product with growing representation in contrast to other types of meat. In Ecuador, has been little studied inclusion and action of probiotics on the gastro intestinal system, as there are many pathogenic bacteria that cause microbial imbalance in the intestinal system of birds subjected to excessive use of antibiotics which have increased production costs. There is therefore a need to implement appropriate biotechnology to the management of broilers, one of which is the application of beneficial bacteria or microorganisms efficient through drinking water, with the objective of this study to determine the effects of the inclusion of probiotics in stage of aging in broiler chickens (Line ROSS-308) for the improvement of health parameters, productive and economical. Design we used a randomized complete block (RCBD) at different times, using 3 doses of native and commercial probiotic was 1.5, 3.0 and 4.5 ml / l water. Were identified in the middle part of the ileum and blind the gastrointestinal tract in Ross-308 Broiler chickens six weeks into production, beneficial microorganisms *Lactobacillus acidophilus* mainly and *Bacillus subtilis*. The multiplication of the initial native inoculum was effective in maintaining the concentration of 10^6 cfu / ml for *Bacillus subtilis* and 10^7 cfu / ml for *Lactobacillus acidophilus*. As for the variables evaluated, the application of probiotics had a positive effect on weight gain, feed conversion and decreased mortality. The percentage of colonization of beneficial bacteria was high since there were no reported gastrointestinal parasites through laboratory analysis and helped improve the health status of birds, showing chickens free of *E. coli*, *Eimeria* and *Salmonella*. Treatments with higher benefit cost ratio was the T1 and T3 (1.5 and 4.5 ml probiotic native / l water). Being the best T3.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- APAJALAHTI, J. 2002. Efecto de la dieta sobre la flora microbiana en el tracto gastrointestinal de aves. FEDNA. Dieta y microbiología en aves. Barcelona-España. Consultado el día sábado 31 de 01 de 20010.
http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:wSiBjp1Ue9sJ:www.etsia.upm.es/Fedna/capitulos/2002CAP_III.pdf+microorganismos+del+TGI+del+pollo&hl=es&gl=ec&sig=AHIEtbTdsW0rMEculJZY99s_jN9MmyY6og
- ARAUJO, R. 2005. Beneficios de la utilización de HYDROENZIME en la ganancia de peso y conversión alimenticia en pollos de engorde. Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer. Consultado el 18-05-2011, 15:00 horas.
http://www.agranco.com/pdf/hydroenzyme_prueba_elsalvador.pdf
- AVILA, E. 2005. Alimentación de las aves. México. Segunda edición. Editorial Trillas. 25p.
- BARRAGÁN, J. 2000. El buche como un importante elemento de control de patógenos en canales de pollo. 5p. Consultado el 08-03-2011
http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1183969852a.pdf
- BARRERA, P. 2008. Probióticos, Conciencia Animal, Bogotá-Colombia. 5 p. Consultado el día sábado 31 de 01 de 20010.
<http://www.conciencia-animal.cl/paginas/temas/temas.php?d=976>
- BORIN, 2006. Importancia de los alimentos en la estabilidad de la flora microbiana para la salud del ave. AMEVEA-PERÚ. Nutrición Animal. Consultado el día sábado 21 de marzo de 2009.
http://www.ameveaperu.org/documentos/palestra_drhomero.pdf
- BOTERO, L. 2008. Salmonelosis y su control. Avicultura Ecuatoriana. No, 128. Agroeditorial CIA. LTDA. 30 p.

- CAÑADAS, L. 1983. Agro ecosistemas Andinos en el Ecuador. El mapa bioclimático y ecológico del Ecuador. Banco central del Ecuador. Quito.
- CERVANTES, M. 2010. Principales fundamentos de exclusión competitiva. Bayer A. G. N° 259. México D. F. 2p.
http://www.bayersanidadanimal.com.mx/index.php?art_id=30&categ=25&expand=2/24/25&file=view_article.tp
- CHOQUE, L. 2008. Evaluación del estado oxidativo y salud intestinal en pollos de carne en respuesta a la alimentación con grasas recicladas. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona – España. 10-22p. Consultado 04-05-2011.
http://www.tdr.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0925109-121137/jach11de1.pdf
- CORTÉS, C. ÁVILA. G. 2000. El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. Veterinaria. México. Consultado el 6-02-2010
<http://www.medigraphic.com/espanol/e-htms/e-vetmex/e-vm2000/e-vm00-4/ervm004e.htm>
- DOLZ, M. 2000. Bacteriocinas de Probióticos. Nuevos enfoques bioterapéuticos. Centro de información de medicamento del colegio oficial de farmacéuticos de Zaragoza – España. 2p. Consultado el 12-03-2011.
http://www.nutricion.org/publicaciones/revistas/NUTRICION-28-3_20_37.pdf
- DUCHATEL, J. 2005. Aparato Digestivo. Tomado de la revista "gut Flug", editada en Bélgica. Consultado el 6-02-2010
<http://www.mispalomos.com/portal/index.php?name=Sections&req=viewarticle&artid=75&page=1>
- ENSMINGER, M. 2000. Zootecnia general. Buenos Aires, Argentina. Tercera edición. Editorial El Ateno. 45 p.

- FEUCHTER, F. 2005. Los Probióticos en Nutrición Animal, Aditivos Biológicos, México Distrito Federal, 3p. Consultado el 30-01-2010
<http://www.midiatecavipec.com/nutricion/nutricion101104.htm>
- GALÁN, C. 2007. *Bacillus subtilis*. Departamento de Microbiología. Universidad de Valencia. Comunidad Valenciana – España. 3p. Consultado el 08-03-2011
<http://tubiologia.foroactivo.net/t338-bacillus-subtilis>
- GOMEZ, G. 2010. Sistema inmune digestivo en las aves. Investigación y Ciencia. Universidad Autónoma de Aguascalientes México. Vol. 18. Núm. 48. 9p. Consultado el 12-03-2011
<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtpdfRed.jsp?Cve=67413203003>
- GONZALES, A. 1997. Bacilos Gram Positivos, Universidad de Oviedo, España, 5 p. Consultado el 01-01-2010
<http://microral.wikispaces.com/Bacilos+Gram+positivos>
- GRANADOS, J. 2008. Factores que influyen en la Integridad Intestinal del Broiler. Listado de Memorias Seminario AMEVEA. Quito-Ecuador. 224p.
- GUZMÁN, O. 2008. Impacto del Sector Avícola en la Economía Ecuatoriana. Revista Avicultura Ecuatoriana N° 135. 46 p.
- HEINZ, J. 2000. Nutrición de aves. Departamento Nutricional. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 330 p.
- HOERR, F. 2009. La Integridad Intestinal y su Importancia Económica en la Industria Avícola. Departamento de Producción Animal. Consultado el 12-03-2011
http://www.porcicultura.com/avicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=458

HOYOS, D. 2008. Utilidad de los microorganismos eficaces (EM®) en una explotación avícola. Córdoba-Colombia. Consultado el día Martes 27 de abril de 2010.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012202682008000200013&script=sci_arttext

JARAMILLO, D. 2010. Evaluación de la producción de bacteriocinas a partir de Lactobacilos y Bifidobacterias. 1Universidad de Los Andes, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química. Carrera 1 Este, N° 19A-40, Edificio Mario Laserna, Bogotá D. C., Colombia. 2-4p. Consultado el 15-03-2011

http://www.rvcta.org/Publicaciones/Vol1Num2/ArchivosV1N2/Jaramillo-Giraldo_et_al._RVCTA-V1N2.pdf

LASTRAS, P. 2009. Probióticos, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, Suplementos nutricionales, Salud BIO, 12 p. Consultado el 15-12-2009

<http://saludbio.com/articulo/suplementos/probioticos-lactobacillus-acidophilus-bifidobacterium-bifidum>

MARCK, N. 2002. Manual de producción avícola. México. Tercera edición. Editorial, El Manual Moderno. 10-25p.

MILIAN, G. 2005. Empleo de probióticos a base de *Bacillus sp* y sus endosporas en la producción avícola. Instituto de Ciencia Animal. Apartado Postal 24. San José de las Lajas, La Habana, 16p. Consultado el 6-02-2010.

<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH01b8.dir/doc.pdf>.

MORENO, E. 1999. Probióticos y aves, Veterinaria Profesional, Islas Canarias-España. 5 p. Consultado el 25-10-2009

<http://www.timbrado.com/artprobioticos.shtml>

MROZ, Z. 2004. Acidificantes, fitasas y sus interacciones en la alimentación de cerdos y pollos. Institute for Animal Science and Health (ID-Lelystad). ID-TNO. Department of Animal Nutrition. Lelystad. PAÍSES BAJOS. Consultado el día sábado 21 de marzo de 2009.

<http://www.avancesentecnologiaporcina.com/contenidos/acimar3.html>

NAVA, J. 2008. Evaluación de Bacterias Ácido Lácticas Comercializadas como Probióticas. Universidad de los Andes. Departamento de Biología. Merida – Colombia. 15-16p.

ORTIZ, A. 2006. Salud Intestinal. Ajustes de dietas. Artículos técnicos de Sanidad. Licenciado en Veterinaria. Madrid-España. 22p.

<http://www.engormix.com/mbr-218934/andres-ortiz>

PALACIOS, M. 2009. Uso de anticoccidiales y promotores de crecimiento en el desarrollo de la salud intestinal del broiler. Lima-Perú. 15P. Consultado el 07-02-2010.

<http://www.ameveaecuador.org/datos/USO%20DE%20ANTICOCCIDIALES%20Y%20PROMOTORES%20DE%20CRECIMIENTO%20EN%20EL.pdf>

PAREJA, J. 2005. Anatomía y fisiología del aparato digestivo de las aves. Bacterias en la molleja de pollos. 12p. Consultado el 02-03-2011.

<http://es.scribd.com/doc/36440314/Anatomia-y-Fisiologia-Intestinal>

PASTRANA, L. 2004. Producción de probióticos y bacteriocinas a partir de subproductos de la industria alimentaria. Memorias del Congreso Internacional de Seguridad Alimentaria. Universidad de Vigo España. 318p. Consultado el 02-03-2011

<http://www.150facultadefarmacologia.com/simal/publicaciones/Coisa2004.pdf>

PERRÍN *et.al.*1976. Formulación de recomendación de datos agronómicos. Un Manual Metodológico de Educación Económica. Tercera Edición. México DF. Cymmit. 54 - 55 p.

- PINOS, A. 2007. Breve reseña de los probióticos. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Consultado el 31-01-2010.
<http://www.monografias.com/trabajos55/efecto-de-probioticos/efecto-de-probioticos2.shtml>
- ROSSI, A; SANGOI, M; PADILHA, J. 2006. Uso de probióticos en la prevención de salmonella en pollos de engorde. Zootécnica y medicina veterinaria. Brasil. Consultado el 23 de abril 2009.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000400039&lng=en&nrm=iso.htm&tlng=pt
- RODRIGUEZ, M. 1994. Bacterias productoras de ácido láctico: efectos sobre el crecimiento y la flora intestinal de pollos, gazapos y lechones. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Madrid-España. 8-27p.
- SALGADO, D. 2010. Una nueva tecnología ambientalista para la producción animal. Microorganismos eficaces. Agropecuaria Carrillo.
<http://agroca.com.ve/mundo.php?id=69>
- SALVADOR, F; CRUZ, D. 2009. Nutracéntricos. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Zootecnia. México D.F. 88p.
- SAMANIEGO, L. SOSA, M. 2002. Lactobacillus spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”. Matanzas, Cuba. Consultado el 19-04-2011.
<http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH011d/e18c5081.dir/doc.pdf>
- SANSALONE, P. 2008. Conceptos sobre Alternativas no Antibióticas en aves de consumo. Listado de Memorias. Seminario AMEVEA. Lab. VENTACO S.A. Quito-Ecuador. 224 p.

- SMITS, C. 2001. Modulación a través de la dieta del confort intestinal de los pollitos. 2Department of Avian Virology, DLO Institute for Animal Science y Health, Lelystad. The Netherlands. FEDNA. 4-9p. Consultado el 19-04-2011.
<http://www1.etsia.upm.es/fedna/capitulos/99CAP4.pdf>
- SPRING, P. 2004. Glycomics: el rol de carbohidratos específicos como nuevos aditivos alimenticios. Swiss College of Agriculture. Revista Avicultura Profesional. Volumen 22, N° 4. 17-19p.
- VILLAMIZAR, J. 2008. La Industria Avícola en los últimos años. POFASA. Revista Avicultura Ecuatoriana N° 130. Agroeditorial CIA. LTDA. 30 p.
- YEGANI, M. 2010. Manipulación de la Flora Intestinal en Aves. Universidad de Alberta Canadá. Consultado el 02-03-2011.
www./Manipulaci%C3%B3n%20de%20la%20microflora%20intestinal%20de%20las%20aves.htm

X. ANEXOS

Anexo 1. Conteo de bacterias ácido lácticas



Guayaquil: Cda. Vernaza Norte Mz. 10 V. 34
 Tel-Fax: (04) 2284066 2284615 Celular: 097488010
 e-mail: conceptazul@gmail.com

Guayaquil, 21 de Junio de 2010

PARA: ESPE
 Sr. Santiago Enriquez

DE: CONCEPTO AZUL
 Tcnlga. Paula Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

-Probióticos en cultivos líquidos:
 2B – AP8 – MRS
 Lactobacillus ciego
 Bacillus

FECHA DE ANALISIS: 16 de Junio del 2010 a las 13 :00 horas

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Cultivo y conteo de células viables en cada uno de las muestras

CLAVES:

UFC Unidad formadora de colonias.

A:	Amarilla	R:	Redonda	L:	Luminiscente
T:	Transparente	M:	Mediana	Cr:	Creмоса
A/Co:	Amarilla con Centro	I :	Irregular	B:	Blanca
V:	Verde	G:	Grande	Rj:	Roja
V/Co:	Verde con Centro	P:	Pequeña	An:	Anaranjada
Vda:	Verdosa	Co:	Con centro		

Continuación Anexo 1. Conteo de bacterias ácido lácticas

RESULTADOS DE ANÁLISIS:

Lectura a los 3 días (72 horas)

2B – AP8 – MRS

Agar MRS	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrIP	16.0 X 10 ⁵	33
	TRP	12.0 X 10 ⁵	25
	ARP	8.0 X 10 ⁵	17
	CrRP	12.0 X 10 ⁵	25
	TOTAL UFC/mL	48.0 X 10⁵	100
		4.8 X 10⁶	

Lactobacillus

Agar MRS	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	CrRP	2.0 x10 ⁷	10
	TRP	15.0 x10 ⁷	71
	BRP	4.0 x10 ⁷	19
	TOTAL UFC/mL	21.0x10⁷	100
	2.1X10⁷		

Bacillus

Agar MRS	MORFOLOGÍA COLONIAS BACTERIANAS	UFC	%
	BRP	1.0x 10 ⁶	
	TOTAL UFC/mL	1.0x 10⁶	100
	1.0x 10⁶		

Atentamente.

Paula Gloria Pinto B.

Tenlga. Paula Pinto B.

NOTA: Sólo los reportes con firma y sello de la empresa son válidos.



Anexo 2. Resultados moleculares



Guayaquil: Cda. Vernaza Norte Mz. 10 V. 34

Tel-Fax: (04) 2284066 2284615 Celular: (09) 423 695 e-mail:

Hconcepto@gve.satnet.net

Guayaquil, 23 de septiembre de 2010.

PARA: ESPE

Atención: Sr. Juan Carlos Aguavil/Santiago Enríquez

DE: CONCEPTO AZUL Tcnlga. Paula Pinto B.

REPORTE DE ANÁLISIS

MUESTRAS RECIBIDAS:

- 1 cepa bacteriana
- 1 cepa bacteriana

ANÁLISIS REALIZADOS:

- Identificación molecular de 2 cepas de bacterias.
- 1- Subcultivo de la cepa en medio sólido o líquido.
- 2- Extracción del ADN cromosómico.
- 3- Amplificación mediante PCR del gen 16S rRNA en bacterias.
- 4- Purificación de los amplicones
- 5- Secuenciación
- 6- Análisis de las secuencias en bancos de datos (GenBank, EMBL etc...), mediante alineamiento de homología usando el BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).
- 7- Entrega del informe.

Por medio de la presente, le hago entrega del informe correspondiente al análisis molecular para la identificación de las cepas de bacterias entregadas.

Agradeciendo por su interés en nuestros servicios, quedo de Ud., para cualquier información adicional que se requiera.

Atentamente,

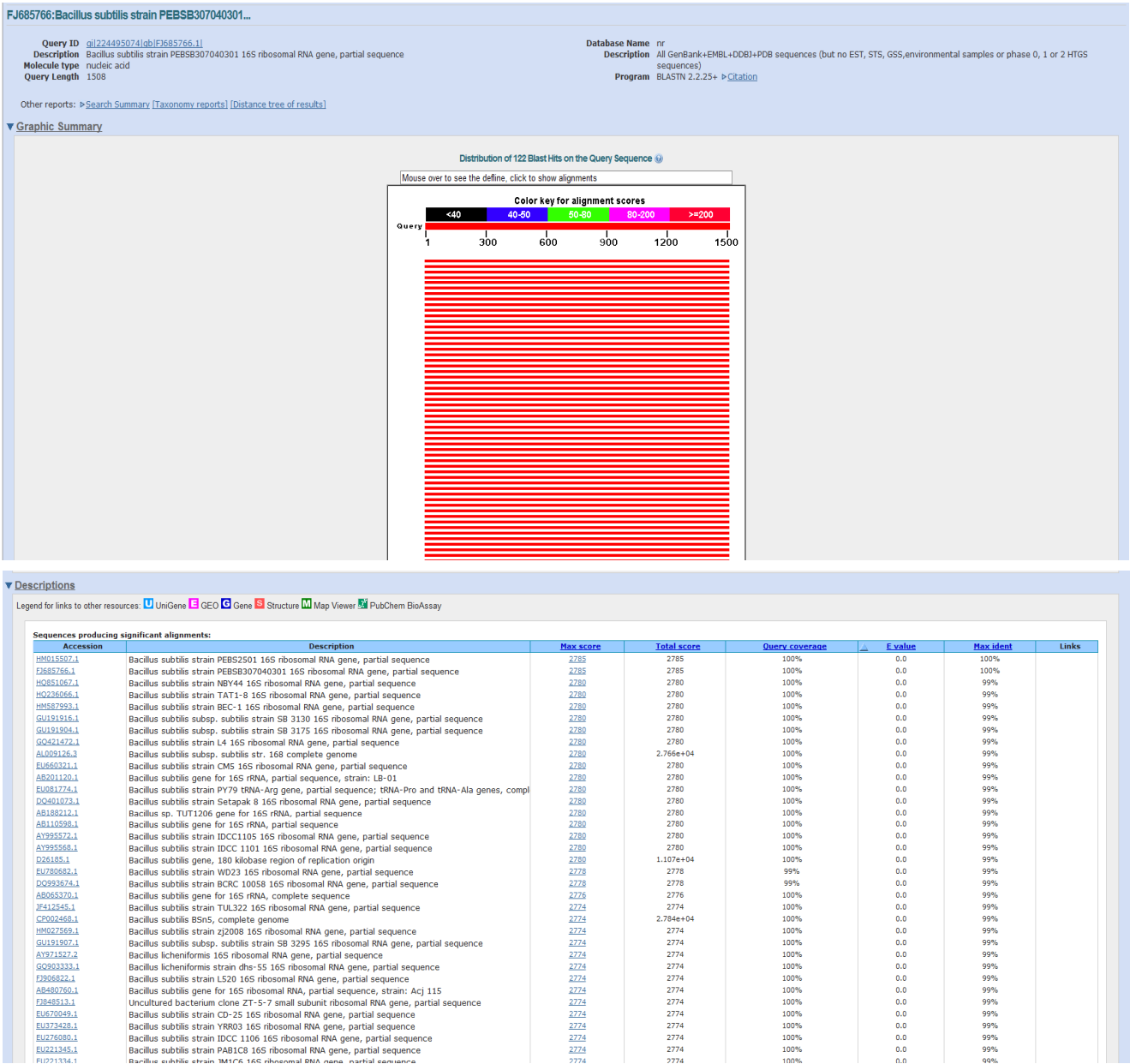
Paula Gloria Pinto B.

Tcnlga. Paula Pinto B.

Continuación Anexo 2. Resultados moleculares

<p>Identificación molecular de cepas de Bacterias</p> <p>Objetivos. Identificación molecular de 2 cepas bacterianas.</p> <p>Metodología.</p> <p>Sub cultivo de las Bacterias. Fueron recibidas 2 cepas bacterianas, las mismas que fueron subcultivadas en agar TSA e incubadas a 30°C durante 2 días, con el fin de obtener muestras frescas para el proceso de extracción de ADN</p> <p>Extracción de ADN. Para las cepas bacterianas obtenidas se procedió a extraer su ADN genómico mediante los protocolos aplicados para bacterias ("TENS").</p> <p>Amplificación por PCR. El trabajo de amplificación por PCR fue primeramente realizado sobre los genes 16S rRNA en bacterias, obteniendo los fragmentos del tamaño esperado.</p> <p>Purificación de los amplicones Los fragmentos amplificados del gen 16SrRNA fueron purificados mediante el Wizard PCR Clean Up System de Promega y enviadas a secuenciar.</p> <p>Secuenciación y análisis de secuencias. Los fragmentos purificados fueron enviados para la secuenciación y posteriormente se realizó el alineamiento de las secuencias, empleando el software online Blast (Basic Local Alignment Search Tool). Se determinó la homología de cada cepa bacteriana mediante comparación de las secuencias con las existentes en el GenBank (Banco de Genes-base de datos de las secuencias registradas a nivel mundial).</p> <p>Resultados.</p> <p>Cepa Bacteriana 1 >100903-05_G03_ESPE-Bac-514F ab1963 GAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTC TGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTC GGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGAC GGTACCTAACCCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGG CAAGCGTTGTCCGGAATTAATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGCGGGTTTCTTAAGTCTGATGTG AAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGAAAAGTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGG AGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCGCA AGGCGACTCTCTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATT AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCT TAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACG GTCGCAAGACTGAAACTC AAAAGGAATTGACGGGGCCCCGCACAAGCGGTG GAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGG AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGG GCAGAGTGACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTACGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCC CGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTGAGTTGGCAC TCTAAGGTGACTG CCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGG GCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGCCAATC</p>

Continuación Anexo 2. Resultados moleculares



La cepa bacteriana 1 permitió analizar una secuencia de 1508 pares de bases, la cual mostró tener 100% de homología con cepas de *Bacillus subtilis*.

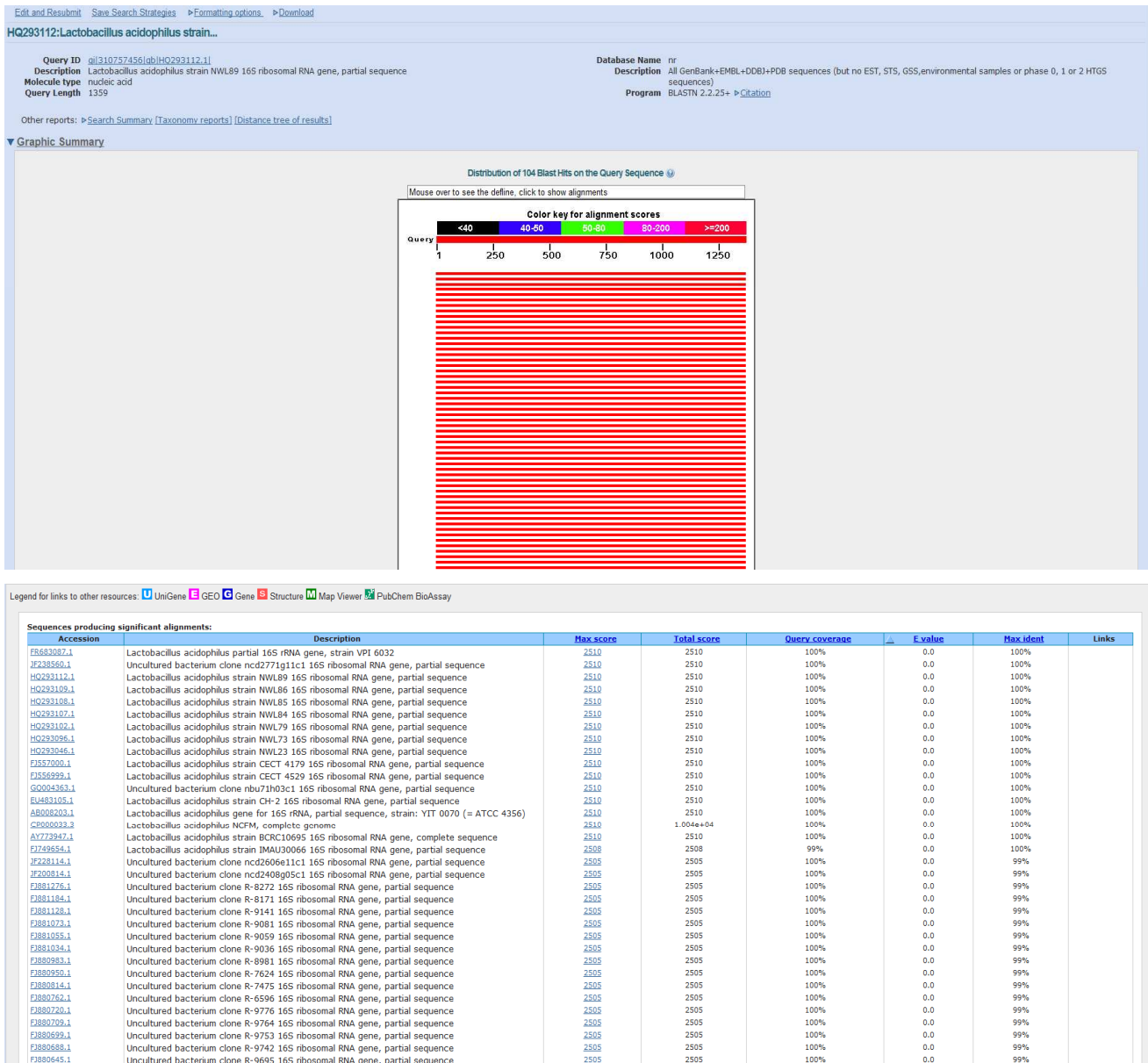
Continuación Anexo 2. Resultados moleculares

Cepa Bacteriana 2

>100903-05_E03_ESPE-Lac-514F.ab1 982

GGGACGAACGCTGGCGGCGTGCC TAATACATGCAAGTCGACCAACAGATTG
 CGAGCTGAACACTTCGGTGATGACGTTGGGAAGCGAGCGGCGGATGGGTGA
 GTAACACGTGGGGAACCTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGAAACAGG
 TGCTAAGAAAGCAGATTACCGGATAACGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGG
 CGTAAGCTGTCGCTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGG
 GTAACGGCCTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACCATGGG
 ACTTGATCGGCCAGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGG
 GAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAA
 GAAGGTTTTCGCTCTGTTGTTGATCGTAAAGGATAGAGGTAGGTGAAGAAG
 GTAAC TGGCCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTAC
 GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATT
 GGGCGTAAAGCGAGCGCATAAGTCTGATGGCGGAAGAAGTGAAAGCCCTC
 GGC TTAACCGAGGAACTGGAGTGCAGAA TGTTTTCTTCATCGGAAACGAG
 GAGAGTGAACTCCATGGAATGCGTAGGAACACCAGTATATATGGAATGTA
 GCGGTGGCTCTCTGGTGGCGAAGGCGCGCTGAGGCTCTGCAACTGACGAAA
 GCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGA
 TGAGTGGGAGGTTTTGCTAAGTGTCGCCTCTCATAACGCATTAGTGCTGCA
 GCCTGGGGAGTAAGCACTCCGCCGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATT
 GACGGGGGCCCTGGAGCATGTGCACAAGCGGGGTTTAATTCGAAGAACCTT
 ACCAGGTCTTGAAGCAACGCGACATCTAGTGAGATACGGAGCAATCCGTAG
 GGACACTAAGTTCCTTCGGCATGGCTGTGACAGGTGGTCGTCAGCTCGTGT
 CGTGAGACGAGCGCAACAGTCCCGCAACCTTGTCATTTGTTGGGTTAAGTTG
 CCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGGAGGAAGGTGTGACA

Continuación Anexo 2. Resultados moleculares




La cepa bacteriana2 permitió analizar una secuencia de 1352 pares de bases, la cual mostró tener 100% de homología con cepas de *Lactobacillus acidophilus*.

Conclusión

Cepas	Identificación Molecular
Cepa bacteriana 1	<i>Bacillus subtilis</i>
Cepa bacteriana 2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

ANEXO 3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO TESTIGO

	MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL LABORATORIOS VETERINARIOS	
	TELF: 2690-749/2690-806 CASILLA: 274 Quito - Ecuador	Dirección Panamericana Sur Km 12 ½
DIAGNOSTICO		
MUESTRA:		REG: 34/011
REMITE:		
PROVINCIA:	CANTÓN:	PARROQUIA:
Quito D.M.:	01/02/2011	
LABORATORIO: BACTERIOLOGIA		
ESTUDIO: BACTERIOLÓGICO		
Lote No. 1		
LABORATORIO: Bacteriología		
ESTUDIO: Bacteriológico		
Análisis Bacteriológico		
Cultivo directo de vísceras:		
Agar Mac Conkey = Negativo		
Agar Verde brillante: Negativo		
Agar Sangre = Estafilococo sp.		
Cultivo de vísceras en medios de enriquecimientos, trasplantes a medios específicos y selectivos=		
ANTIBIOGRAMA		
Oxitetraciclina		(R)
Sulfatrimetoprin		(R)
Kanamicina		(S)
Ciprofloxacina		(S)
Amoxicilina + A.clavulónico		(R)
Estreptomicina		(S)
Enrofloxacina		(S)
Norfloxacina		(S)
Cloranfenicol		(R)

Continuación Anexo 3. Resultados microbiológicos para el tratamiento testigo

Estaphilococos sp.	ANTIBIOGRAMA
Enrofloxacina	(S)
Penicilina	(R)
Estreptomina	(S)
Cloxacilina	(R)
Gentamicina	(S)
Doxicilina	(R)
Amoxicilina + A. Clavulónico	(R)
Eritromicina	(R)
Amoxicilina	(R)

Análisis Serológico.- Salmonella pullorum, prueba en placa= Negativo

HI/Newcastle, prueba microtest= 1:0, 1:40

Análisis Parasitológico.- Infestación masiva por Eimeria sp. Y huevos de áscaris

DICTAMEN: E.coli


Coccidiosis

Ascariidiosis

Negativo a Salmonella sp.

OBSERVACIONES:.....

.....



DR. JULIO AREVALO
PROFESIONAL RESPONSABLE

Anexo 4. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO PROBIÓTICO NATIVO

	MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL LABORATORIOS VETERINARIOS	
	TELF: 2690-749/2690-806 CASILLA: 274 Quito- Ecuador	Dirección Panamericana Sur Km 12 ½
DIAGNOSTICO		
MUESTRA:		REG:36011
REMITE:		
PROVINCIA: Tsáchila	CANTÓN:Sto.Domingo	PARROQUIA:
Quito D.M.: 01/02/2011		
LABORATORIO: BACTERIOLOGIA		
ESTUDIO: BACTERIOLÓGICO		
Análisis Bacteriológico		
Cultivo directo de vísceras:		
Agar Mac Conkey = E. coli		
Agar Verde brillante: E. coli		
Agar Sangre= Estafilococo sp.		
Cultivo de vísceras en medios de enriquecimientos, trasplantes a medios específicos y selectivos=		
E.Coli		
ANTIBIOGRAMA		
Oxitetraciclina		(R)
Sulfatrimetoprin		(S)
Kanamicina		(S)
Ciprofloxacina		(S)
Amoxicilina + A.clavulónico		(S)

Continuación Anexo 4. Resultados microbiológicos para el tratamiento probiótico nativo

Estreptomina	(S)
Enrofloxacin	(S)
Norfloxacin	(S)
Cloranfenicol	(S)

Estafilococos sp. **ANTIBIOGRAMA**

Enrofloxacin	(S)
Penicilina	(R)
Estreptomina	(R)
Cloxacilina	(R)
Gentamicina	(S)
Doxicilina	(R)
Amoxicilina + A. Clavulónico	(R)
Eritromicina	(R)
Amoxicilina	(R)

Análisis Serológico.- Salmonella pullorum, prueba en placa= Negativo
HI/Newcastle, prueba microtest= 1:40, 1:10

Análisis Parasitológico.- Negativo a parásitos gastrointestinales.


DICTAMEN: E.coli

Estafilococo sp.

Negativo a parásitos gastrointestinales


Negativo a Salmonella sp.

OBSERVACIONES:.....
.....




DR. JULIO AREVALO
PROFESIONAL RESPONSABLE

Anexo 5. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO PROBIÓTICO COMERCIAL

	MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL LABORATORIOS VETERINARIOS	
	TELF: 2690-749/2690-806 CASILLA: 274 Quito- Ecuador	Dirección Panamericana Sur Km. 12 ½
DIAGNOSTICO		
MUESTRA:	REG:35/011	
REMITE:		
PROVINCIA:	CANTÓN:	PARROQUIA:
Quito D.M.:		
01-02-2011		
LABORATORIO: BACTERIOLOGIA		
ESTUDIO: BACTERIOLÓGICO		
Análisis Bacteriológico		
Cultivo directo de vísceras:		
Agar Mac Conkey = E. coli		
Agar Verde brillante: E. coli		
Agar Sangre = Estafilococo sp.		
Cultivo de vísceras en medios de enriquecimientos, trasplantes a medios específicos y selectivos=		
E.Coli	ANTIBIOGRAMA	
Oxitetraciclina	(S)	
Sulfatrimetoprin	(S)	
Kanamicina	(S)	
Ciprofloxacina	(R)	

Continuación Anexo 5. Resultados microbiológicos para el tratamiento probiótico comercial

Amoxicilina + A. clavulónico	(R)
Estreptomina	(R)
Enrofloxacina	(R)
Norfloxacina	(S)
Cloranfenicol	(S)
Estaphilococos sp. ANTIBIOGRAMA	
Enrofloxacina	(S)
Penicilina	(R)
Estreptomina	(S)
Cloxacilina	(R)
Gentamicina	(S)
Doxicilina	(R)
Amoxicilina + A. Clavulónico	(R)
Eritromicina	(R)
Amoxicilina	(R)
Análisis Serológico.- Salmonella pullorum, prueba en placa= Negativo	
HI/Newcastle, prueba microtest= 1:80, 1:40	
Análisis Parasitológico.- Negativo a parásitos gastrointestinales.	
DICTAMEN: E.coli	
Estafilococo sp.	
Negativo a parásitos gastrointestinales	
Negativo a Salmonella sp.	
	
<hr/> DR. JULIO AREVALO PROFESIONAL RESPONSABLE	

Anexo 6. AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS Y FORMULACIÓN DEL PROBIÓTICO NATIVO



a. Muestreo del contenido intestinal



b. Inoculación en suero fisiológico



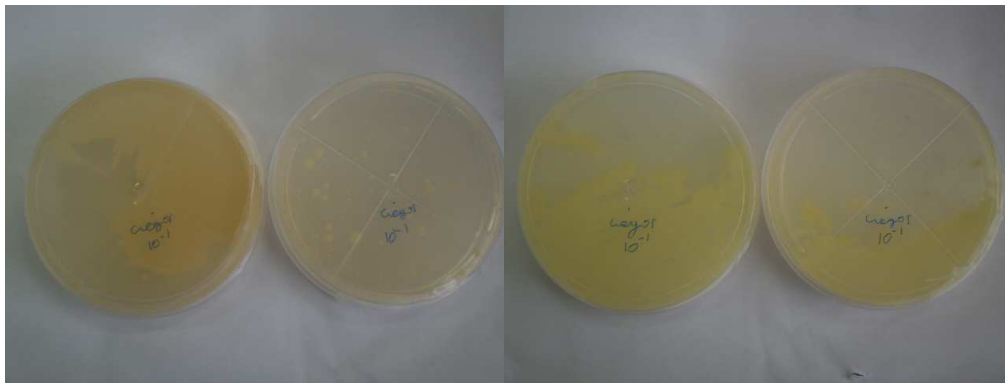
c. Elaboración del medio de cultivo Agar MRS



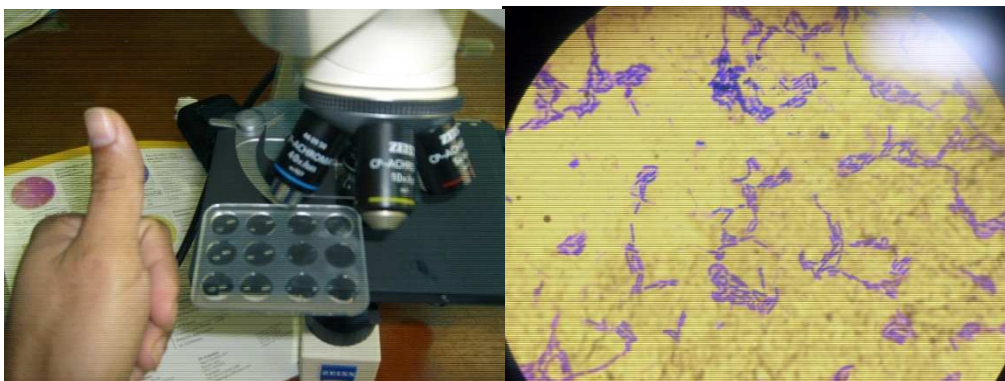
d. Siembra de *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*



e. Cultivo de *Lactobacillus acidophilus* en anaerobiosis, cultivadas a 28°C por 48 horas



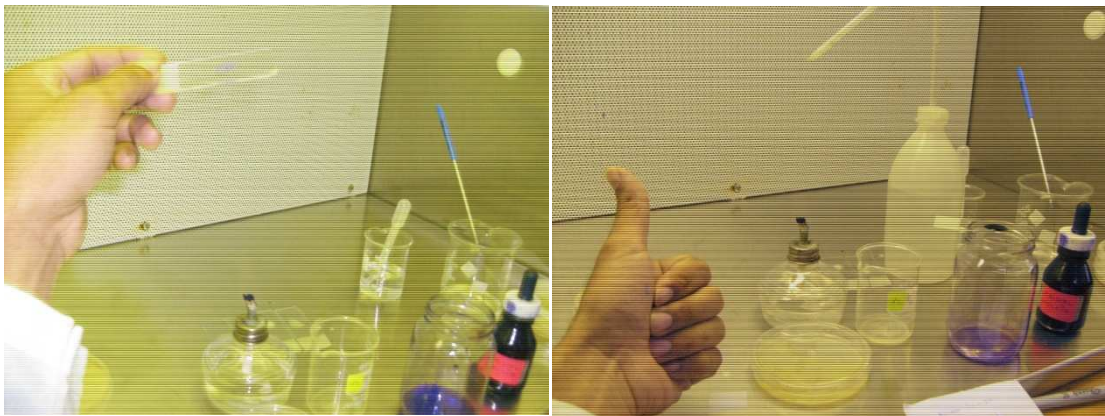
f. Placas de *Bacillus subtilis* cultivadas a 28°C por 72 horas



g. Identificación y caracterización por pruebas morfológicas



h. Aislamiento y purificación de *Bacillus subtilis*



i. Identificación por pruebas bioquímicas



j. Elaboración de la cepa madre del probiótico nativo



k. Mezcla de melaza mas agua



l. Control de la acidez de la solución



m. Inclusión de la cepa probiótica



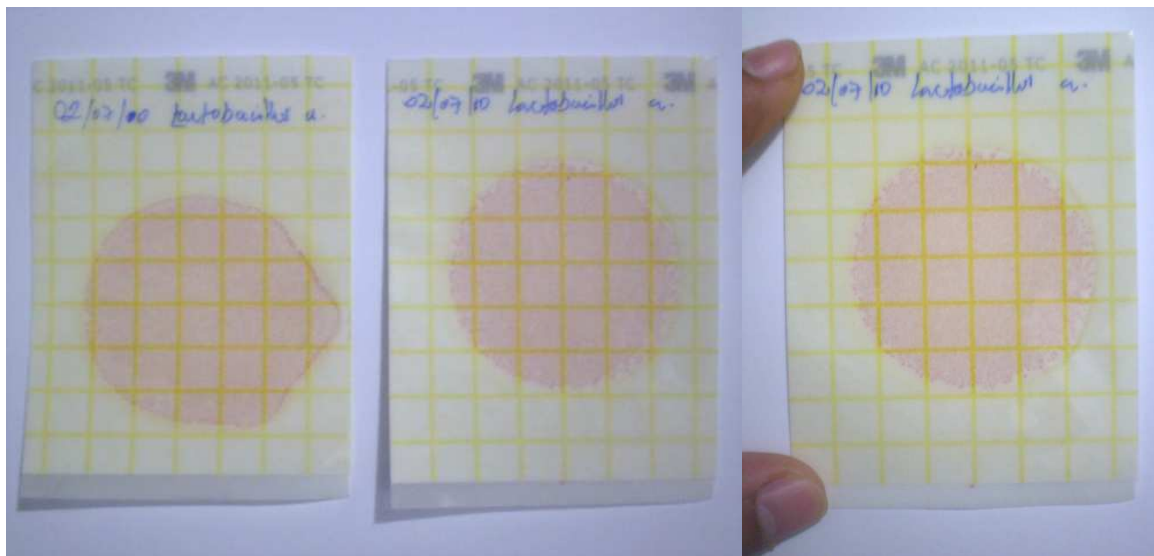
n. Producto final

Anexo 7. CONTEO DE BACTERIAS ANAEROBIAS



a. Colocación del difusor 3M

a.



b. Interpretación de lectura de la concentración ufc/ml

Anexo 8. FASE DE CAMPO

i. Instalación de tanques de agua para bebida



b. Instalación de red de tuberías



c. Colocación de bridas



d. Instalación de tuberías de gas divisiones



e. Malla divisoria para tratamientos



f. Sistema de filtro para una agua de calidad



g. Colocación de las aves en el recipiente



h. Lectura del peso



i. Conformación del lote durante el ensayo

Anexo 9. MUESTREO DE HECES



a. Probiótico comercial (heces consistentes)



b. Probiótico nativo



c. Tratamiento testigo (heces blandas)



Anexo 10. Composición química del Agar MRS. (Formula en gramos por litro)

Composición		Instrucciones
Proteasa peptona N° 3	10,0	1. Suspender 64 g del medio en un litro de agua destilada. 2. Reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante 1 ó 2 minutos. 3. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.
Extracto de carne	8,0	
Extracto de levadura	4,0	
Glucosa	20,0	
Monoleato de sorbitán	1 ml	
Fosfato dipotásico	2,0	
Acetato de sodio	5,0	
Citrato de amonio	2,0	
Sulfato de magnesio	0,2	
Sulfato de manganeso	0,05	
Agar	13,0	
pH final: 6.4 ± 0.2		

Anexo 11. Composición química del Caldo M.R.S. (Formula en gramos por litro)

Composición		Instrucciones
Proteasa peptona N° 3	10,0	1. Suspender 51 g del medio en un litro de agua destilada. 2. Reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante 1 ó 2 minutos. 3. Esterilizar en autoclave durante 15 min a 121 °C
Extracto de carne	8,0	
Extracto de levadura	4,0	
Glucosa	20,0	
Monoleato de sorbitán	1 ml	
fosfato dipotásico	2,0	
Acetato de sodio	5,0	
Citrato de amonio	2,0	
Sulfato de magnesio	0,2	
Sulfato de manganeso	0,05	
Agar	13,0	
pH final: 6,4 ± 0,2		