



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA**  
**PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

EVALUACIÓN DE B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS EN DIETAS MAÍZ-SOYA PARA  
POLLOS EN SALUD INTESTINAL Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**PRESENTA:**

PANTOJA DON JUAN CARLOS ALBERTO

**TUTOR PRINCIPAL:**

GABRIELA GUADALUPE GÓMEZ VERDUZCO - FMVZ

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:**

ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ - FMVZ

DANIEL MARTÍNEZ GÓMEZ - UAMX



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Dedicatorias**

### **A mis padres**

Gracias por su apoyo en todos los aspectos. Si he llegado hasta aquí, es gracias es ustedes. Los amo mucho y espero seguir haciéndolos sentir orgullosos. Soy lo que ustedes me han hecho y estoy agradecido por eso.

### **A Cristina**

Eres mi motivación para crecer y seguir adelante. Tenerte en mi pensamiento y corazón hizo que este trabajo fuera más sencillo. Te amo mucho y muchas gracias por ser quien eres, tu amor y compañía me impulsará siempre.

### **A Kira**

Todos los días has estado ahí a mi lado, día y noche viéndome trabajar, preguntándote: ¿qué tanto he de estar haciendo?, si supieras lo mucho que me has ayudado con simplemente estar ahí. Te amo mucho.

### **A mi familia**

Aunque no siempre estemos juntos, los considero especiales, aprecio a cada uno de ustedes de manera especial, aunque piensen que no me acuerdo de ustedes. Para mis tíos, primos, sobrinos y hermanos; y ¿por qué no? también dedico esto a mi familia política, de alguna manera son parte de mi vida. No pongo nombres porque no acabaría, pero saben quienes ha estado conmigo en este camino de alguna u otra manera.

### **A mis amigos**

No tendré muchos, pero los que tengo los aprecio mucho, sé que no soy el mejor y que no escribo a diario, pero son muy especiales para mí. Gracias por su amistad incomparable: Talía, Emmanuel, Leidy, Mara, Nancy y Liz Flores.

### **A mi Doctora Gaby**

Más que una tutora o profesora, ha sido como una amiga en quien confiar. Todo este trabajo ha sido en gran parte a su guía y consejos. La admiro y quiero mucho, espero hacerla sentir orgullosa.

### **A mi Doctora Magda Escorcía**

Le debo mucho, mi pasión y amor por las aves. Gracias por todo su apoyo, sus consejos y esas pláticas interesantes que siempre tiene para mí. La quiero mucho y estoy feliz de haber caído en las garras de las aves.

### **A los servicios sociales de la granja**

Este trabajo fue gracias a ustedes. Gracias por su apoyo y amistad, los llevo siempre en mi pensar: Ximena, Liz, Pao, Paco, Lalo, Met, Osiris, Alfredo, Kary, Maya, Betza y Fany.

## **Agradecimientos**

Agradezco a mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por arroparme entre sus aulas y laboratorios, darme la oportunidad de mostrar de lo que soy capaz y de lo que puedo lograr.

Agradezco a mi tutora Gabriela Gómez y a mi comité tutor, los doctores Ernesto Ávila y Daniel Martínez por su conocimiento y guía.

Agradezco a los doctores Claudia Márquez, Silvia Carrilo y Sergio Gómez por aceptar y ser parte de mi jurado.

Agradezco al C.E.I.E.P.Av por permitirme utilizar sus instalaciones a la hora de realizar mi trabajo experimental, de igual manera a los académicos que son parte de este gran centro: Jorge Iriarte, Pilar Castañeda, Arturo Cortés, Analía Balderas, Monsserrat Martínez, Alma Vázquez, a su personal administrativo y alumnos de servicio social, quienes me apoyaron en alguna forma durante mi estancia.

Agradezco a la Universidad Autónoma de México plantel Xochimilco, por dejarme entrar en sus instalaciones y poder conocer un poco de su valor como institución.

Agradezco a David Ramos por su apoyo, sabiduría y amistad para la parte estadística de este trabajo.

Agradezco a la doctora Araceli Lima por su apoyo en la realización de hemogramas.

Agradezco a Marlenne Rubio y a DCV por su apoyo y ayuda en la realización de pruebas serológicas.

Agradezco a la doctora Mireya Juárez y al Departamento de Patología de la FMVZ por su atención y apoyo en la realización de pruebas histológicas.

Agradezco al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la FMVZ, así como a la doctora Cecilia Rosario, por la utilización de sus instalaciones y al doctor José Antonio Quintana por sus apreciados consejos y enseñanzas.

## RESUMEN

CARLOS ALBERTO PANTOJA DON JUAN. Evaluación de  $\beta$ -mananasa y bacteriófagos en dietas maíz-soya para pollos en salud intestinal y comportamiento productivo (Bajo la dirección de la Dra. Gabriela Guadalupe Gómez Verduzco, Dr. Ernesto Ávila González y Dr. Daniel Martínez Gómez).

En la reciente década ha sido documentado por diversos investigadores la utilización de  $\beta$ -mananasa como buenas alternativas de los antibióticos promotores de crecimiento (APC), obteniendo mejores conversiones alimenticias, ganancias de peso, entre otros parámetros productivos mientras que el uso de bacteriófagos es uno de los métodos emergentes como alternativa a los APC, pues no crean resistencia a antibióticos. El objetivo de este estudio fue evaluar la salud intestinal y el comportamiento productivo en pollo de engorda Ross 308 con la adición de  $\beta$ -mananasa y bacteriófagos en dietas maíz-soya y observar si hay interacción. Se utilizaron seiscientos pollos machos y hembras de un día de edad de la estirpe Ross 308 en caseta de ambiente natural, acomodados en 4 tratamientos y 6 réplicas, bajo un diseño completamente al azar y se usó un arreglo factorial 2 x 2 para su análisis. El primer factor fue enramicina, con 10 ppm (Enradin® F80) y un coctel de bacteriófagos ( $1 \times 10^6$  UFC/g) CTCBIO INC, con 500 ppm en el alimento. El segundo factor la inclusión o no de  $\beta$ -mananasa CIBENZA® (500 ppm en el alimento). Se midieron los siguientes parámetros: ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, mortalidad y rendimiento de la canal. Se realizó hemograma de los pollos de 21 y 49 días y cuantificación de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC) por inhibición de la hemoaglutinación (IH) a los 21, 35 y 49 días de edad. También, se sacrificaron aves a los 21, 35 y 49 días de edad para cuantificar inmunoglobulinas A (IgA) de yeyuno y evaluar la longitud de vellosidades (LV), profundidad de cripta (PC) y la relación vellosidad/cripta (RVC) de duodeno. Se evaluó coloración amarilla en canal fría y cálculo del índice morfométrico (IM) de bazo, bolsa de Fabricio, hígado y timo al final del estudio de 49 días. No se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) en los parámetros productivos, pigmentación, hemograma ni anticuerpos contra el virus de la ENC. En los resultados del IM de timo, aumentó el IM en un 21.57% al agregar  $\beta$ -mananasa ( $p < 0.05$ ), mientras que el factor bacteriófagos y enramicina incrementó el IM de hígado y timo en un 5.97 y 18.19% ( $p < 0.05$ ), además hubo una interacción entre enramicina y  $\beta$ -mananasa, obteniendo mayores valores al agregar  $\beta$ -mananasa. El factor  $\beta$ -mananasa incrementó la concentración de IgA en duodeno en un 23.63% a los 35 días de edad ( $p < 0.05$ ). En el análisis histológico, el factor bacteriófagos y enramicina mostró una mayor LV en los días 21, 35 y 49, así como mayor RVC en los días 21 y 49 de edad ( $p < 0.05$ ). El factor  $\beta$ -mananasa mostró menor LV en el día 21, menor PC a los 21, 35 y 49 días y mejor RVC a los 35 y 49 días de edad de los pollos de engorda. Se observó interacción entre bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa ( $p < 0.05$ ), hubo una mayor LV cuando no se agregaron  $\beta$ -mananasa y una PC menor a los 21 días de edad, además se incrementó la LV en el día 49. La otra interacción entre enramicina y  $\beta$ -mananasa, al incluir la enzima la PC fue menor en los días 21, 35 y 49 y una mayor RVC a los 35 días de edad. ( $p < 0.05$ ). Las  $\beta$ -mananasa mejoraron la respuesta inmune en dietas con enramicina y bacteriófagos. Los bacteriófagos son una alternativa a la enramicina, no afectaron los parámetros productivos ni la pigmentación amarilla. El uso conjunto de bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa mejoró la morfología intestinal de los pollos en dietas maíz-soya.

**PALABRAS CLAVE:**  $\beta$ -MANANAS, ENZIMAS EXÓGENAS, PASTA DE SOYA, MORFOLOGÍA INTESTINAL, INMUNIDAD.

## ABSTRACT

In the recent decade has been documented by various researchers the use of  $\beta$ -mannanases as good alternatives to the AGP (antibiotic growth promoters), obtaining better feed conversion ratios, weight gains, among other productive parameters while the use of bacteriophages is one of the emerging methods as an alternative to the AGP, because they do not create resistance to antibiotics. The aim of this study was to evaluate intestinal health and productive performance in Ross 308 broilers with  $\beta$ -mannanases and bacteriophages in corn-soybean diets and observe if there was interaction. Six hundred Ross 308 one-day-old broilers mixed-sex were reared in natural ventilated houses and randomly assigned to 4 treatments and 6 replications under a completely randomized design and a 2 x 2 factorial arrangement was used for their analysis. One factor was enramycin with 10 ppm (Enradin® F80) and a cocktail of bacteriophages (1 x 10<sup>6</sup> CFU / g) CTCBIO INC, 500 ppm added. The second factor was the inclusion or not of CIBENZA®  $\beta$ -mannanases (500 ppm). The following parameters were measured: weight gain, feed intake, feed conversion ratio, mortality and carcass yield. Hematological values were measured in 21 and 49-day-old broilers and quantification of antibodies against Newcastle disease virus (NDV) was performed by hemagglutination inhibition assay (HI) in 21, 35 and 49-day-old broilers. Broilers were sacrificed at 21, 35 and 49 days of age to quantify jejunum immunoglobulins A (IgA) and to evaluate villus length (VH), crypt depth (CD) and villus to crypt ratio (VCR) of the duodenum. Coloration and calculation of the morphometric index (MI) of spleen, bursa of Fabricius, liver and thymus at the end of the 49-day cycle were evaluated. No differences ( $p < 0.05$ ) were found in the productive parameters, pigmentation, hemogram or antibodies against NDV ( $p > 0.05$ ). The MI increased by 21.57% when adding  $\beta$ -mannanases ( $p < 0.05$ ), while the bacteriophage and enramycin factor increased the liver and thymus MI by 5.97 and 18.19 % ( $p < 0.05$ ). Also, there was an interaction in thymus MI between enramycin and  $\beta$ -mannanases, with higher values when  $\beta$ -mannanases were added. The  $\beta$ -mannanases factor increased the duodenum IgA concentration by 23.63% of 35-day-old broilers ( $p < 0.05$ ). In the histological analysis the bacteriophage and enramycin factor showed a higher VH of 21, 35 and 49-day-old broilers as well as higher VCR on days 21 and 49 of age ( $p < 0.05$ ). The  $\beta$ -mannanases factor showed lower VH on day 21, lower CD on days 21, 35 and 49 of age and better VCR of 35 and 49-day-old broilers ( $p < 0.05$ ). Interactions between bacteriophages and  $\beta$ -mannanases were observed ( $p < 0.05$ ), there was a higher VH when  $\beta$ -mannanases were not added and a lower CD at 21 days of age and the VH was increased on day 49. The other interaction was between enramycin and  $\beta$ -mannanases, when adding the enzyme, the CD of 21, 35 and 49-day old broilers was lower and a greater VCR at 35 days of age was observed. The  $\beta$ -mannanases improved the immune response in diets with enramycin and bacteriophages. The bacteriophages are an alternative to the enramycin, they did not affect the productive parameters nor the yellow pigmentation. The joint use of bacteriophages and  $\beta$ -mannanases improved the intestinal morphology of chickens in corn-soybean diets.

**KEY WORDS:**  $\beta$ -MANNAN, EXOGENOUS ENZYMES, SOYBEAN MEAL, INTESTINAL MORPHOLOGY, IMMUNITY.

## LISTA DE CUADROS

<b>CUADRO 1.</b> ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA ETAPA DE INICIACIÓN Y FINALIZACIÓN. ....	24
<b>CUADRO 2.</b> COMPOSICIÓN Y ANÁLISIS CALCULADO DE DIETA BASAL EXPERIMENTAL DE INICIACIÓN PARA POLLO DE ENGORDA (1-21 DÍAS DE EDAD).....	25
<b>CUADRO 3.</b> COMPOSICIÓN Y ANÁLISIS CALCULADO DE DIETA BASAL EXPERIMENTAL DE FINALIZACIÓN PARA POLLO DE ENGORDA (22-49 DÍAS DE EDAD).....	26
<b>CUADRO 4.</b> PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS, DE POLLOS AL DÍA 49 DE EDAD.....	35
<b>CUADRO 5.</b> ÍNDICE MORFOMÉTRICO DE LOS ÓRGANOS DE LOS POLLOS EN DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS, DE POLLOS AL DÍA 49 DE EDAD.....	37
<b>CUADRO 6.</b> PIGMENTACIÓN EN CANAL FRÍA EN DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS, DE POLLOS AL DÍA 49 DE EDAD.....	39
<b>CUADRO 7.</b> ANÁLISIS CELULAR POR MEDIO DE UN HEMOGRAMA DE LOS POLLOS ALIMENTADOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA, ADICIONADAS CON BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS A LOS 21 DÍAS DE EDAD. ....	40
<b>CUADRO 8.</b> ANÁLISIS CELULAR POR MEDIO DE UN HEMOGRAMA DE LOS POLLOS ALIMENTADOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA, ADICIONADAS CON BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS A LOS 49 DÍAS DE EDAD. ....	41
<b>CUADRO 9.</b> ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL SISTÉMICA DE POLLOS ADICIONADOS CON B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS, A LOS 21,35 Y 49 DÍAS DE EDAD.....	42
<b>CUADRO 10.</b> ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL LOCAL DE POLLOS ADICIONADOS CON B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS, A LOS 21,35 Y 49 DÍAS DE EDAD.....	43
<b>CUADRO 11.</b> ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE DUODENO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA, ADICIONADOS CON B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS, A LOS 21 DÍAS DE EDAD. ....	46
<b>CUADRO 12.</b> ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE DUODENO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA, ADICIONADOS CON B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS, A LOS 35 DÍAS DE EDAD. ....	50
<b>CUADRO 13.</b> ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE DUODENO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA, ADICIONADOS CON B-MANANASAS Y BACTERIÓFAGOS, A LOS 49 DÍAS DE EDAD. ....	54

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> ÍNDICE MORFOMÉTRICO DEL HÍGADO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD. ....	37
<b>FIGURA 2.</b> ÍNDICE MORFOMÉTRICO DEL TIMO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD. ....	38
<b>FIGURA 3.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN EL ÍNDICE MORFOMÉTRICO DEL TIMO DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD.....	38
<b>FIGURA 4.</b> IGÅ INTESTINAL DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 35 DE EDAD.....	44
<b>FIGURA 5.</b> LV Y PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 21 DE EDAD .....	47
<b>FIGURA 6.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA LV DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 21 DE EDAD.....	47
<b>FIGURA 7.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 21 DE EDAD.....	48
<b>FIGURA 8.</b> RVC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 21 DE EDAD. ....	48
<b>FIGURA 9.</b> LV Y PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 35 DE EDAD .....	51
<b>FIGURA 10.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 35 DE EDAD.....	51
<b>FIGURA 11.</b> RVC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 35 DE EDAD. ....	52
<b>FIGURA 12.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA RVC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 35 DE EDAD.....	52
<b>FIGURA 13.</b> LV Y PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD. ....	55
<b>FIGURA 14.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA LV DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD.....	55
<b>FIGURA 15.</b> INTERACCIÓN ENTRE FACTORES EN LA PC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD.....	56
<b>FIGURA 16.</b> RVC DE POLLOS CON DIETAS MAÍZ-SOYA ADICIONADAS CON ENRAMICINA O BACTERIÓFAGOS Y B-MANANASAS AL DÍA 49 DE EDAD. ....	56
<b>FIGURA 17.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T1, 21 DÍAS DE EDAD.....	91
<b>FIGURA 18.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T2, 21 DÍAS DE EDAD.....	91
<b>FIGURA 19.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T3, 21 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 20.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T4, 21 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 21.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T1, 35 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 22.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T2, 35 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 23.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T3, 35 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 24.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T4, 35 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 25.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T1, 49 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 26.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T2, 49 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 27.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T3, 49 DÍAS DE EDAD.....	92
<b>FIGURA 28.</b> FOTOMICROFOTOGRAFÍA DE VELLOSIDADES INTESTINALES DE DUODENO T4, 49 DÍAS DE EDAD.....	92



# CONTENIDO

REVISIÓN DE LA LITERATURA Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
JUSTIFICACIÓN .....	18
OBJETIVO GENERAL.....	19
OBJETIVOS PARTICULARES .....	19
HIPÓTESIS .....	20
MATERIAL Y MÉTODOS .....	21
RESULTADOS .....	34
DISCUSIÓN .....	57
CONCLUSIONES.....	75
BIBLIOGRAFÍA .....	76
ANEXOS .....	91

# I. REVISIÓN DE LA LITERATURA Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1. INTRODUCCIÓN

La industria avícola se ha caracterizado por ser una eficiente industria transformadora de proteína de origen vegetal en proteína de origen animal, por lo que constantemente busca la mejora continua en todos los procesos implicados en la producción, siendo el área de nutrición y alimentación un área de oportunidad.

En este sentido, la salud intestinal es un punto crucial para mejorar la salud, el bienestar y de esta manera ver reflejado la máxima expresión del potencial genético de las aves. Anteriormente, dado la falta de tecnología, el conocimiento de la diversidad del microbioma intestinal había sido muy simplificado y limitado; con el reciente progreso tecnológico ha evolucionado este conocimiento (Adil y Magray, 2012; Roberts *et al.*, 2015).

Además, con la prohibición de antibióticos promotores de crecimiento en la Unión Europea (UE), fue el origen para la generación y el desarrollo de nuevas alternativas como, por ejemplo: las enzimas, probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos grasos volátiles, aceites esenciales, etc.; cualquier que promueva la salud intestinal de las aves de producción (Estévez y Cutuli de Simón, 2011).

## **1.1- Situación mundial de la avicultura**

La avicultura mundial es una actividad creciente, como respuesta a la necesidad de alimento por los seres humanos. Se estima que en los próximos años la principal fuente de proteína de origen animal para nuestra alimentación provenga de la avicultura. Desde sus inicios, la avicultura se caracterizó por ser dinámica y usar la ciencia para su desarrollo frente a los desafíos del mercado y del campo (Uculmana, 2017).

**1.1.1- Producción mundial de carne de pollo.** La producción mundial de carne de pollo se espera que crezca 2 % en el 2018 (92.5 millones de toneladas), principalmente por la producción de Estados Unidos, Brasil, India y la Unión Europea. Se pronostica de igual manera que la producción de todos los países crezca, ya sea en menor o mayor medida (USDA, 2018). El panorama del sector depende de la capacidad de hacer frente a los desafíos de cualquier ámbito que se presenten.

## **1.2- Situación nacional del pollo de engorda**

La avicultura es un sector estratégico para la alimentación en el país, pues 6 de 10 personas incluyen en su dieta productos de origen avícola, debido a su contenido nutricional, accesibilidad y versatilidad. La carne de pollo tiene una participación del 38.4 % en el aporte de proteína por el sector pecuario, este aporte ha incrementado notoriamente, debido a un mayor consumo, de 15.83 kg en 1994 a un estimado de 32.88 kg *per cápita* en el 2018 (UNA, 2018).

**1.2.1- Producción nacional de pollo de engorda.** La producción de pollo en México ha crecido 145 % en el período de 1994 al 2017 (ritmo anual del 4

%), tan solo en 2017 se produjeron casi 3.5 millones de toneladas de carne de pollo, el cárnico con mayor producción en el país. La parvada nacional consta de 303 millones de pollos al ciclo, que decreció un 0.67 % respecto al crecimiento obtenido en el 2016 (UNA, 2018).

### **1.3- Salud intestinal**

La alta tasa de crecimiento y la eficiencia alimenticia son dos puntos importantes en la producción de carne de pollo. Un gran número de factores deben ser tomados en cuenta para el óptimo desarrollo de las aves, entre los cuales están: el potencial genético, la calidad de la dieta, las enfermedades, las condiciones ambientales y el manejo. Aparte de las variables mencionadas, la salud intestinal ha sido recientemente sujeta a numerosos estudios en la avicultura, pues el intestino de las aves es el encargado de la absorción de nutrientes, así como el sitio donde hay mayor contacto con patógenos, por lo que un intestino con buen funcionamiento es un punto importante para tener un desarrollo óptimo del ave. (Sugiharto, 2016; Yoshimura y Kawakami, 2016) Poder describir con precisión qué es salud intestinal sería bastante complejo, esta comprende la integridad estructural intestinal microscópica y macroscópica, el balance del microbioma y el estado del sistema inmune (Choct, 2009).

**1.3.1- Importancia de la salud intestinal.** La salud intestinal es crucial para mantener una buena producción, la salud en general y el bienestar animal (Yoshimura y Kawakami, 2016; Ducatelle *et al.*, 2018). La formulación de dietas para tener efectos en la salud del intestino se está convirtiendo rápidamente una realidad, porque a partir del mantenimiento adecuado de esta, se tiene una mejor productividad, y más desde que los antibióticos promotores crecimiento ya no están siendo una opción (Choct, 2009).

**1.3.2- Características del intestino.** El intestino de los pollos alberga más de 600 especies de bacterias, contiene numerosas hormonas, digiere y absorbe la mayoría de nutrientes y gasta aproximadamente el 20 % de la energía del organismo, por lo tanto, lo que afecte el intestino influenciará en todo el animal (Choct, 2009). Como el órgano más extenso de las aves, el intestino sirve como una barrera selectiva, por lo que una adecuada función es esencial. Cualquier daño directo o indirecto de las células intestinales puede causar un mal funcionamiento de la homeostasis, lo que puede llevar a una inflamación crónica o hasta una inflamación sistémica (Choct, 2009; Chen *et al.*, 2015).

**1.3.3- Microbioma intestinal.** Uno de los factores que puede ser responsable de la salud intestinal y el desarrollo de los pollos, es el microbioma intestinal, que ayuda en el desarrollo de la estructura intestinal, modula respuestas inmunes, ofrece protección contra patógenos y ayuda en la digestión y utilización de nutrientes (Sugiharto, 2016; Yoshimura y Kawakami, 2016). El microbioma intestinal de las aves es una mezcla de bacterias, hongos y protozoarios, donde las bacterias son las predominantes. Cada bacteria tiene sus preferencias de sustratos, por lo que el contenido de la dieta determina en gran manera la composición del microbioma, donde dietas que contienen tanto maíz y sorgo, incrementan los niveles de *Enterococcus*, por ejemplo (Yegani y Korver, 2008). El microbioma intestinal de los pollos es estable, pero puede ser influenciado por factores como la dieta, aditivos, enfermedad, manejo y factores ambientales (Choct, 2009). Aunque la mayoría de los agentes en contacto con el intestino no sean patógenos, son capaces de estimular respuestas inmunes, que pueden tener impactos negativos en la eficiencia alimenticia, ya que son energéticamente costosos (Yegani y Korver, 2008). Aquí la importancia del uso de productos que ayuden en el aprovechamiento de los recursos que se proveen a las aves.

**1.3.4- Factores que comprometen la salud intestinal.** Dentro de los factores que afectan la salud intestinal de los pollos están: los polisacáridos no amiláceos (PNA), la textura y presentación física del alimento, agentes infecciosos, toxinas, entre otro (Yegani y Korver, 2008). Tres diferentes mecanismos, pero interconectados han sido identificados de estar involucrados en el mal funcionamiento del intestino: disbiosis, pérdida de la integridad intestinal y la inflamación (Ducatelle *et al.*, 2018). Se ha reportado que, como consecuencia del retiro de los antibióticos promotores de crecimiento (APC), nuevas enfermedades multifactoriales que causan desórdenes intestinales han surgido en el pollo de engorda (Chen *et al.*, 2015).

**1.3.5- Nutracéuticos para la salud intestinal.** Para tener una buena salud intestinal, algunos ingredientes usados en las dietas han sido reportados para modular el microbioma intestinal y el sistema inmune, los cuales pueden ser benéficos para los pollos, estos ingredientes son conocidos como nutracéuticos. Los nutracéuticos pueden ser nutrientes aislados (ácidos grasos, vitaminas, minerales, etc.), productos herbales (polifenoles, especias, hierbas, etc.), aditivos (probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, enzimas, etc.), y alimentos genéticamente modificados (Sugiharto, 2016).

**1.3.6- Biomarcadores como indicadores de salud intestinal.** Para poder establecer el grado de salud intestinal que poseen los pollos, esta se mide por medio de biomarcadores, que son definidos como: alteraciones medibles en sustancias biológicas, que se asocian con condiciones normales y anormales. Dentro de estos biomarcadores están: largo de

vellosidades intestinales, así como profundidad de criptas y la relación entre ambas; cuantificación de células L intestinales; linfocitos T en la mucosa de la lámina propia, medición de D-lactato en sangre, cantidad de *Firmicutes* y *Enterobacteriaceae* en heces y contenido cecal, medición de butirato en ciego, títulos de inmunoglobulinas, etc. (Ducatelle *et al.*, 2018). Cada biomarcador será más confiable dependiendo si se usan dos o más en conjunto, para así tener un panorama más acertado a la hora de evaluar la salud intestinal de las aves.

#### **1.4- Antibióticos promotores de crecimiento**

Desde la década de los 40, hay estudios que mencionan que la inclusión de APC en el alimento de los pollos de engorda causaban un incremento en la ganancia de peso (Cepero Briz, 2006; Ardonio *et al.*, 2017). En la producción de carne de pollo desde entonces se han utilizado los APC para mejorar la ganancia de peso, la conversión alimenticia y prevenir enfermedades usando dosis subterapéuticas (Engberg *et al.*, 2000; Cepero Briz, 2006; Barceló, 2007; Díaz-Sánchez y Hanning, 2015; Mehdi *et al.*, 2018).

**1.4.1- Funcionamiento de los APC.** Los antibióticos eliminan o controlan el crecimiento de las bacterias, sin embargo, no todos los antibióticos lo hacen con el mismo mecanismo, estos difieren en su habilidad para influenciar ciertos estados de enfermedad o mejorar el crecimiento y la eficiencia alimenticia (Miles *et al.*, 2006; Mehdi *et al.*, 2018). El mecanismo de acción de los antibióticos usados como APC se puede deber a que reducen la incidencia y severidad de infecciones subclínicas, reducen el uso de nutrientes por parte de microorganismos no deseados, mejoran la absorción y reducen la cantidad de metabolitos producidos por bacterias que ocasionan reducción en el uso de nutrientes. Se dice que un equilibrio entre

bacterias Gram positivas y negativas de 90 % y 10 % respectivamente es lo que se busca para mantener un medio ideal (Ardonio *et al.*, 2017).

**1.4.2- Problemática del uso de APC.** El uso de APC en México en la producción de carne de pollo se ha dado junto con la modernización tecnológica de la industria, para mejorar los parámetros productivos del pollo de engorda (Reyes *et al.*, 2000). Sin embargo, hay evidencia científica de que el uso masivo de los APC ha contribuido al problema de la resistencia a antibióticos y los residuos de estos en el alimento y el medio ambiente, pone en peligro la salud de humanos y animales (Mehdi *et al.*, 2018). Aunque, algunos investigadores dicen que hay poca evidencia científica convincente de que el uso de antibióticos en animales de producción está contribuyendo a la resistencia a antibióticos relevantes en medicina humana (Cepero, 2006; Cervantes, 2015); de cualquier manera, debido a la oposición de los consumidores, la preferencia de estos de comprar productos libres de antibióticos influenciados más por su percepción que basados en hechos científicos, la resistencia de bacterias a los antibióticos creciente, muchos países han prohibido la inclusión de antibióticos como promotores de crecimiento en las dietas de los animales de producción. Una de estas prohibiciones siendo la estipulada por la UE en el 2006 (Regulación (EC) N°1831/2003) (Brewer y Rojas, 2008; Díaz-Sánchez y Hanning, 2015; Sugiharto, 2016; Ducatelle *et al.*, 2018). Por lo que hay una necesidad creciente de encontrar alternativas eficientes que reemplacen los APC para su uso en la producción de carne de pollo y de esta manera mantener a los antibióticos como herramientas útiles en el futuro (Padilla, 2009; Mehdi *et al.*, 2018).



**1.4.3- Alternativas del uso de APC.** Entre las alternativas a los APC se pueden encontrar una gran variedad de productos como son: enzimas, prebióticos, probióticos, fitogénicos, bacteriófagos, ácidos orgánicos, inmunoestimulantes, bacteriocinas. nanopartículas. aceites esenciales, etc.(Cepero, 2006; Padilla, 2009; Luna *et al.*, 2010; Gonzáles *et al.*, 2013; Mehdi *et al.*, 2018).

## **1.5- Uso de enzimas en producción de pollo de engorda**

Las enzimas pueden ser una alternativa a los APC, que son cada vez más utilizadas en la producción de pollo de engorda. El uso de enzimas en los últimos años como aditivos en la dieta, se ha expandido rápidamente, numerosos estudios han sido encaminados para estudiar su impacto en el desarrollo del pollo de engorda (Khattak *et al.*, 2006; Kiarie, Romero y Nyachoti, 2013). Anteriormente, el origen de la mayoría de estas era fúngico, pero actualmente, la cantidad de enzimas derivadas de bacterias ha aumentado, usando de técnicas de fermentación líquida sumergida o fermentación en estado sólido, lo que ha facilitado su producción y por lo tanto su utilización (Luna *et al.*, 2010; Kiarie, Romero y Nyachoti, 2013). La principal limitación que existía para el uso de enzimas en las dietas de animales era el costo-beneficio, sin embargo, los avances en biotecnología han reducido el costo de producción de estas, por lo que hoy en día es más viable poder utilizarlas (Moyano, 2010; Ravindran, 2013). A diferencia de los APC y la resistencia a antibióticos, el uso de enzimas está ampliamente aprobado para su uso en dietas de animales de producción debido a que son productos de la fermentación y por lo tanto de origen natural, que no representan algún tipo de peligro para el animal y el consumidor (Khattak *et al.*, 2006).

**1.5.1- Enzimas utilizadas en pollo de engorda.** Actualmente, hay varias enzimas utilizadas en el alimento del pollo de engorda, comúnmente fitasas, proteasas o carbohidrasas, como las xilanasas, celulasas, alfa amilasas, beta mananasas, alfa galactosidasas y pectinasas; cada una de ellas actúa de forma distinta y con un fin particular, pero como un objetivo común, mejorar el uso de nutrientes para el crecimiento y desarrollo óptimo del pollo (Kiarie, Romero y Nyachoti, 2013).

**1.5.2- Funcionamiento de las enzimas exógenas.** Las enzimas adicionadas en la dieta pueden actuar de diversas maneras: rompiendo paredes celulares de los ingredientes para permitir un mejor acceso a las enzimas endógenas, inactivando factores antinutricionales encontrados en cereales y en las fuentes de proteína vegetal, suplementando el sistema enzimático de los pollos, minimizando la fermentación bacteriana en el intestino delgado y fomentándola en el ciego, etc. De esta manera, se obtienen beneficios como: reducción en la viscosidad intestinal, reducción de humedad en excretas, mejora en la absorción de nutrientes, mejor integridad intestinal, mejor valor de energía metabolizable aparente de la dieta, incremento en el consumo, mejor ganancia de peso, conversión alimenticia, etc. (Elizarraraz, 1999; Khattak *et al.*, 2006; Ravindran, 2013; Chotinsky, 2015). Una interesante forma en que las enzimas que degradan polisacáridos no amiláceos (PNA), como las  $\beta$ -mananasas, xilanasas,  $\beta$ -glucanasas,  $\alpha$ -amilasas, etc., ayudan a mejorar la salud intestinal de los pollos, es mediante la liberación de oligosacáridos de cadena corta liberados al actuar sobre los PNA, que funcionan como prebióticos, ayudando a modular el microbioma intestinal (Kiarie, Romero y Nyachoti, 2013).

**1.5.3- Manejo del uso de enzimas exógenas.** El grado de beneficio del uso de enzimas en las dietas del pollo de engorda variará de acuerdo con múltiples factores a tomar en cuenta, desde el tipo de ingredientes y su porcentaje de inclusión, la cantidad de factores antinutricionales en los ingredientes, la concentración de enzimas usadas, la edad del pollo, la conformación del microbioma intestinal y el adecuado uso de estas de acuerdo con su forma de presentación, ya sea en polvo, granulados o líquida (Khattak *et al.*, 2006; Chotinsky, 2015).

## **1.6- Polisacáridos no amiláceos**

Entre los factores con potencial de reducir la bioviabilidad de nutrientes están los PNA, que son carbohidratos complejos con alto peso molecular que se encuentran en la estructura de las paredes celulares de las plantas, indigestibles para los pollos. Los PNA incluyen varios tipos de fibra como la lignina, glucanos, arabinoxilanos o pentosanos, ácido urónico, galactosa y manosas, que se encuentran comúnmente en los ingredientes de las dietas del pollo de engorda. Algunos ingredientes usados como fuente de proteína también contienen PNA en forma de glucomananos y galactomananos, como la pasta de soya (3 % soluble, 16% insoluble), la pasta de palmiste, la pasta de ajonjolí y la pasta de coco. La identificación y la forma de eliminar estos factores antinutricionales es vital para una producción exitosa (Daskiran *et al.*, 2004; Arsenault *et al.*, 2017; Ryu *et al.*, 2017). Los PNA han sido demostrados que causan detrimento en el uso de nutrientes al incrementar la viscosidad intestinal y reducir la digestibilidad de estos (Chen *et al.*, 2015; Ryu *et al.*, 2017).

**1.6.1- Mananos.** Los mananos, un tipo PNA, pertenecientes a la hemicelulosa, se encuentran en forma de glucomananos, galactomananos, glucogalactomananos y glucuronomananos en las paredes celulares de las plantas; los  $\beta$ -mananos o también referidos como  $\beta$ -galactomananos, representan entre el 15 y 37 % de los PNA en las dietas de no rumiantes. Los  $\beta$ -mananos, están conformados de unidades repetidas de D-manosa, con enlaces  $\beta$ -1, 4 y unidades D-galactosa o glucosa acopladas, la razón de galactosa:manosa en la pasta de soya es de 1:1.8. La solubilidad de los  $\beta$ -mananos en agua incrementa mientras el número de moléculas de galactosa incrementa. La cantidad de  $\beta$ -mananos en la soya varía si esta tiene o no cascarilla (1.02-1.51% sin cascarilla y 1.33-2.14 % con cascarilla) (Hsiao, Anderson y Dale, 2006; Chauhan *et al.*, 2012; Soni *et al.*, 2016; Arsenault *et al.*, 2017; Ryu *et al.*, 2017). Varios estudios han demostrado los efectos negativos de los  $\beta$ -mananos en la dieta, hallados en los ingredientes anteriormente mencionados, como deterioro en el desarrollo de los pollos, empeorar los parámetros productivos y reducir la absorción de glucosa y agua (Daskiran *et al.*, 2004; Hsiao, Anderson y Dale, 2006).

**1.6.2- Mecanismo de acción de los  $\beta$ -mananos en el sistema inmune.** Para entender la importancia y la manera en que afectan a los pollos los  $\beta$ -mananos es necesario saber que, en el huésped, los receptores de superficie y citosólicos de reconocimiento de patrones (PRR, por sus siglas en inglés) expresados en el intestino, están involucrados en la detección de motivos moleculares microbianos altamente conservados llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS, por sus siglas en inglés). Aunque, dado que hay microorganismos comensales que comparten dichos patrones, el término PAMP ha sido recomendado para cambiarse por patrones moleculares asociados a microbios (MAMP, por sus siglas en inglés). La interacción PRR-PAMP es importante para desencadenar la señalización, que conlleva a la activación de genes que

codifican para moléculas proinflamatorias (Stahl y Ezekowitz, 1998; Didierlaurent, Simonet y Sirard, 2005). Los mananos que se encuentran en la pasta de soya y otros ingredientes utilizados en las dietas de pollo de engorda se reconocen como PAMP's; los mananos en diferentes configuraciones son parte de numerosos patógenos como hongos, bacterias y virus. La respuesta inmune innata de los animales está altamente especializada para reconocer antígenos de patógenos que incluyen mananos. Se ha demostrado que los  $\beta$ -mananos son capaces de estimular el sistema inmune innato y producir una respuesta no productiva, que solo produce un gasto de energía, en la que hay proliferación de macrófagos y monocitos e incremento en la producción de citocinas (Duncan *et al.*, 2002; Hsiao, Anderson y Dale, 2006). La manera en que los mananos son reconocidos por el sistema inmune es a través de las células dendríticas, que como parte del monitoreo del sistema inmune estas “muestran” el lumen intestinal (van Kooyk y Geijtenbeek, 2003).

### **1.7- Uso de $\beta$ -mananasas en el pollo de engorda**

En la reciente década ha sido documentado por diversos investigadores la utilización de  $\beta$ -mananasas como buenas alternativas de los APC, obteniendo mejores conversiones alimenticias, ganancias de peso, entre otros parámetros productivos. Así como reducir de manera importante los procesos de inflamación a nivel del intestino, mejorando la salud intestinal del pollo de engorda (Gharaei *et al.*, 2012; Cho y Kim, 2013; Mishra *et al.*, 2013; Barros *et al.*, 2014; Roberts *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2016; Latham *et al.*, 2016; Arsenault *et al.*, 2017). Entre otros beneficios reportados, están la disminución del desarrollo de lesiones contra desafíos de *Clostridium perfringens* e *Eimeria* y la disminución de viscosidad en dietas con altos niveles de  $\beta$ -mananos (Arsenault *et al.*, 2017).

**1.7.1- Características.** Específicamente, las  $\beta$ -mananasas tienen como objetivo compuestos ricos en mananos, como los glucomananos y los mananos o también llamados galactomananos que están presentes en la dieta (Oladiti Olaniyi y Adebowale, 2017). De acuerdo a la nomenclatura establecida por la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB, por sus siglas en inglés), las  $\beta$ -mananasas son referidas como EC 3.2.1.78, clasificación para glucosidasas y endo-hidrolasas de compuestos O- y S-glicosilados. (International Union of Biochemistry and Molecular Biology., 1992) El nombre recomendado para la  $\beta$ -mananasa es: manano endo-1,4-beta-manosidasa. La reacción que lleva a cabo es la de hidrólisis aleatoria de enlaces 1,4-beta-D-manosídicos de mananos, galactomananos y glucomananos, liberando pequeños fragmentos  $\beta$ -1,4-manano-oligosacáridos (manobiosa y manotriosa), además de pequeñas cantidades de manosa, glucosa y galactosa. Las mananasas se activan en un amplio intervalo de pH y son resistentes a proteasas como la pepsina y la tripsina, lo que las hace excelentes para su uso en nutrición animal (Chauhan *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2016; Oladiti Olaniyi y Adebowale, 2017; BRENDA, 2018).

**1.7.2- Obtención de manano-oligosacáridos (MOS) a través del uso de  $\beta$ -mananasas.** Una ventaja del uso de  $\beta$ -mananasas es que los productos obtenidos de la acción de estas ( $\beta$ -1,4-manano-oligosacáridos) o también llamados MOS (manano-oligosacáridos) funcionan como prebióticos. Se ha reportado el beneficio positivo de los MOS en el microbioma intestinal, estructura y función intestinal (Soni *et al.*, 2016).

**1.7.3- Uso y obtención de las  $\beta$ -mananasas.** El uso de las  $\beta$ -mananasas es bastante amplio, pues no solo se usan en nutrición animal, sino también en el procesamiento de papel y alimentos, en la industria farmacéutica y la

textil. Las  $\beta$ -mananases son producidas por bacterias, hongos, plantas y animales; las bacterias son la fuente más usada para su obtención, debido a las numerosas ventajas que implica, como, secreción extracelular, producción y purificación económica, alta tasa de producción, además de características como tolerancia al calor y condiciones alcalinas (Cheng *et al.*, 2016; Oladiti Olaniyi y Adebowale, 2017; Ryu *et al.*, 2017).

## 1.8- Bacteriófagos

Los bacteriófagos son un grupo de virus ampliamente distribuidos en la naturaleza, su ciclo de vida está estrictamente asociado con las bacterias. Son considerados parásitos intracelulares, son organismos incompletos que necesitan de células vivas para replicarse, carecen de sistemas enzimáticos necesarios para la alimentación y síntesis de proteínas o construcción de nuevas partículas. Los bacteriófagos fueron descubiertos desde principios del siglo XX, identificados como moléculas que inhibían el crecimiento bacteriano y posteriormente pocos años después fueron aislados y caracterizados. En 1917 D'Herelle desarrolló la primera terapia de fagos contra la tifoidea aviar inducida por *Salmonella Gallinarum* en pollos. Desde entonces se han obtenido resultados positivos utilizando bacteriófagos para hacer frente a enfermedades bacterianas en humanos y animales (Huff *et al.*, 2010; Seal *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013; Al Shamsi, 2014; Wernicki, Nowaczek y Urban-Chmiel, 2017). Aunque debido al rápido desarrollo de los antibióticos y el poco éxito que se tenía con los bacteriófagos, esto llevó a la discontinuación de la investigación con terapia de fagos, pero con los recientes problemas con los antibióticos, el uso de bacteriófagos se está considerando nuevamente como una herramienta (Borie *et al.*, 2008).

**1.8.1- Características.** La mayoría de los bacteriófagos están clasificados dentro de las familias *Myoviridae*, *Podoviridae* y *Siphoviridae*, pertenecientes al orden de los *Caudovirales* de acuerdo con la clasificación del Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, por sus siglas en inglés). Sus características fundamentales es la presencia de un tipo de ácido nucleico y una cápside construida de proteínas estructurales (helicoidal o isométrica), la mayoría de los fagos tienen ADN de doble cadena. Los bacteriófagos pueden ser aislados de todos los medios naturales, incluyendo agua de desecho, desechos animales y humanos, cuerpos de agua naturales, del suelo, plantas a nivel de suelo, productos alimenticios y otros microorganismos (Leverentz *et al.*, 2004; Andreatti *et al.*, 2007; Lau *et al.*, 2010; Wernicki, Nowaczek y Urban-Chmiel, 2017).

**1.8.2- Uso de bacteriófagos en el pollo de engorda.** El uso que se le ha dado a los bacteriófagos en pollo de engorda ha sido el de combatir enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) producidas por los géneros *Salmonella* y *Campylobacter*, además de *E. Coli*, pues se consideran como un problema de salud pública importante en todo el mundo, y además en el biocontrol de enfermedades, así como uso terapéutico (Fiorentin, Vieira y Barioni Júnior, 2005; Andreatti *et al.*, 2007; Borie *et al.*, 2008; Huff *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2010; Bardina *et al.*, 2012; Hungaro *et al.*, 2013; Wernicki, Nowaczek y Urban-Chmiel, 2017).

**1.8.3- Ventajas y desventajas del uso de bacteriófagos.** La efectividad y seguridad del uso de bacteriófagos en comparación a los antibióticos, se debe en parte a la especificidad por bacterias particulares, manifestado como la habilidad de infectar solo una especie, serotipo o cepa, por lo que no se causa daño al microbioma comensal. Otra ventaja es que no se replican en células eucariotas, lo que los hace excelentes para su uso en el



pollo de engorda, aunque implica que con el tiempo los títulos de bacteriófagos disminuirán cuando se utilicen contra infecciones o control de enfermedades en pollos. Algunas desventajas incluyen que, debido a su especificidad, estos no combaten infecciones de amplio espectro, también puede haber fagos que transmitan resistencia a antibióticos a las bacterias, así como volver bacterias que no lo son en patógenas y pueden ser eliminados por el sistema retículo-endotelial, reduciendo su efectividad (Fiorentin, Vieira y Barioni Júnior, 2005; Andreatti *et al.*, 2007; Borie *et al.*, 2008; Huff *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2010; Bardina *et al.*, 2012; Hungaro *et al.*, 2013; Wernicki, Nowaczek y Urban-Chmiel, 2017). Entonces, las características deseadas de un bacteriófago son: que sea virulento y sin genes bacterianos de virulencia (Bardina *et al.*, 2012). Cuando no se obtienen resultados positivos en parámetros productivos u otros indicadores, se puede deber a la incapacidad de proliferación de los bacteriófagos endógenos, ya sea por la alta temperatura corporal, medio ácido en el lumen intestinal, la presencia natural de anticuerpos contra estos y errores de dosificación; por ejemplo, cuando es muy alto el nivel de bacteriófagos, las bacterias patógenas son atacadas, resultando en una lisis temprana, lo que no da oportunidad a dejar progenie para el nuevo ciclo de infección (Huff *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2010).

**1.8.4- Uso de bacteriófagos como alternativa a APC y tratamiento.** El uso de bacteriófagos es uno de los métodos emergentes como alternativa a los APC, pues no crea resistencia a antibióticos (Joerger, 2003; Fiorentin, Vieira y Barioni Jr, 2005; Andreatti *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2013). Su naturaleza de autorreplicación y autolimitación de estos es lo que los hace atractivos como reemplazo de los APC en el control y tratamiento de enfermedades en animales. Una sola administración de bacteriófagos puede ser suficiente como tratamiento, contrario a los antibióticos. La administración se considera fácil, por medio del agua de bebida, aerosol,

intramuscular, alimento o tópicamente, cada una con niveles diferentes de efectividad (Borie *et al.*, 2008; Huff *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2010). El éxito de los bacteriófagos para controlar infecciones por estafilococos y *E. Coli*, ha traído más interés por utilizarlos contra otras especies bacteriana, como *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Acinetobacter* y *Enterococcus* (Fiorentin, Vieira y Barioni Jr, 2005; Huff *et al.*, 2010). Se ha demostrado que con desafíos de *E.coli*, el uso de fagos reduce la mortalidad, la aerosaculitis y también reduce niveles de *Clostridium perfringens* (Andreatti *et al.*, 2007). Varios estudios han demostrado que el uso de bacteriófagos reduce niveles de *Salmonella* sistémica en pollos, canales, piel y productos terminados (Fiorentin, Vieira y Barioni Júnior, 2005; Andreatti *et al.*, 2007; Borie *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2013). En cuanto a parámetros productivos, se ha reportado que se obtiene mejora en conversión alimenticia, ganancia de peso, la capacidad de retención de agua de la pechuga, mayor peso de bolsa de Fabricio y mayor peso del hígado (Kim *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013).

## **JUSTIFICACIÓN**

La tendencia mundial está focalizada, en la búsqueda de nuevas alternativas para el aprovechamiento máximo de nutrientes incluidos en las dietas de pollo de engorda. Con estos antecedentes, se diseñó el siguiente estudio de  $\beta$ -manananasas con bacteriófagos o el APC enramicina, en dietas para pollo de engorda para determinar su efecto productivo y en la salud intestinal, así como comparar el desempeño de los bacteriófagos con la enramicina y el impacto de la inclusión de las  $\beta$ -manananasas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la salud intestinal y el comportamiento productivo en pollo de engorda Ross 308, con la adición de  $\beta$ -manananasas con bacteriófagos o enramicina en dietas maíz-soya.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluación de los parámetros productivos: ganancia de peso, conversión alimenticia, consumo de alimento, mortalidad y rendimiento de la canal
- Cálculo del índice morfométrico del hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio en los pollos de engorda sujetos a investigación
- Medición de la pigmentación o coloración amarilla en canal fría de los pollos de engorda sujetos a investigación
- Conocer el estado inmunológico general, por medio de hematología de los pollos de engorda sujetos a investigación
- Valorar la inmunidad humoral sistémica, por medio de la cuantificación de anticuerpos específicos contra el virus de la enfermedad de Newcastle de los pollos de engorda sujetos a investigación
- Medir la inmunidad intestinal, por medio de la cuantificación de inmunoglobulinas IgA de los pollos de engorda sujetos a investigación
- Evaluar la morfología intestinal, a través de la medición de las vellosidades duodenales de los pollos de engorda sujetos a investigación

## **HIPÓTESIS**

La suplementación de  $\beta$ -manananas con bacteriófagos o enramicina en dietas maíz-soya, mejora la salud intestinal y los parámetros productivos en pollos de engorda.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1- Localización y duración del experimento**

La presente investigación se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en producción Avícola (C.E.I.E.P.Av) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle de Manuel M. López s/n en la Colonia Santa Ana Poniente de la Delegación Tláhuac, Ciudad de México; a una altura de 2250 m.s.n.m., en el paralelo 19°17' latitud norte y el meridiano 99°02'30" longitud oeste. El clima es de tipo templado subhúmedo (Cw) (INEGI, 2016). La investigación tuvo una duración de 49 días. Los animales permanecieron en caseta de ambiente natural en el CEIEPAv, desde el primer día hasta finalizar el experimento.

### **2.2- Unidades experimentales**

Las unidades o lotes experimentales de esta investigación estuvieron conformadas por 25 pollos, de la estirpe Ross 308 de un día de edad, con un peso promedio de 42 g, utilizándose un total de 600 pollos (50% hembras 50% machos) para el trabajo experimental.

### **2.3- Materiales, equipos e instalaciones**

Los materiales, equipos e instalaciones para desarrollar el trabajo experimental fueron los siguientes:

### **a) Materiales**

- Bebederos vitroleros
- Bebederos de campana
- Comederos de iniciación
- Comederos manuales de tolva
- Viruta (material de cama)
- Registros de parámetros productivos y mortalidad
- 600 pollos Ross 308
- Desinfectante para vado sanitario (glutaraldehído 50%)
- Desinfectante para acondicionar caseta (bio-clean®)
- Alimento balanceado
- Palas y escobas
- Para tomas de muestra: jeringas, tubos microtainer®, frascos de vidrio, formol al 10%, recipientes plásticos, microtubos plásticos, tijeras, pinzas de disección, bolsas plásticas, tela adhesiva y solución salina de cloruro de sodio al 0.9 %.

### **b) Equipos**

- Báscula eléctrica de 100 kg de capacidad
- Báscula eléctrica de 40 kg de capacidad
- Báscula analítica de 400 g de capacidad
- Equipo de limpieza y desinfección
- Equipo de rastro tipo comercial
- Criadoras
- Computadora
- Equipo de trabajo para granja (vestimenta)
- Espectrofotómetro Minolta CR 400
- Microscopio

## **b) Instalaciones**

Para las fases de iniciación y finalización de los pollos se utilizó una caseta de ambiente natural, localizada en la granja del C.E.I.E.P.Av.

### **2.4- Tratamientos y diseño experimental**

Los procedimientos de manejo realizados en las aves del presente experimento fueron aprobados previamente por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación (CICUA-FMVZ-UNAM), protocolo: MC-2018/1-6.

Se evaluó y comparó en dietas basales de maíz-soya, el efecto de la adición de un coctel de bacteriófagos (500 ppm en alimento), que contenía *Salmonella Gallinarum* ( $1 \times 10^6$  UFC/g), *Salmonella Pullorum* ( $1 \times 10^6$  UFC/g), *Salmonella Typhimurium* ( $1 \times 10^6$  UFC/g) y *Salmonella Enteritidis* ( $1 \times 10^6$  UFC/g), de la marca Bacteriophage Plus de CTCBIO INC, con el efecto del antibiótico promotor de crecimiento Enramicina (Enradin® F80), (10 ppm en alimento) y la adición de la enzima  $\beta$ -mananasa (800,000 U/kg; 500 ppm en alimento) de la marca CIBENZA DE200® de Novus International® con bacteriófagos y enramicina.

Las unidades experimentales se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2 x 2; un factor fue la suplementación de enramicina o bacteriófagos y el otro factor con y sin  $\beta$ -mananasas; conformado de 4 tratamientos con 6 réplicas de 25 pollos cada uno.

El diseño experimental fue como aparece en el **Cuadro 1**.



**Cuadro 1.** Diseño del experimento para la etapa de iniciación y finalización.

<b>Tratamiento</b>	<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>Réplicas</b>	<b>A/R</b>	<b>A/T</b>
1	Con enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	6	25	150
2	Con enramicina	Con $\beta$ -mananasas	6	25	150
3	Con bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	6	25	150
4	Con bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	6	25	150

A/R: aves por réplica, A/T: aves por tratamiento.

**Tratamiento 1:** Dieta basal maíz-soya + 10 ppm de enramicina (Enradin® F80)

**Tratamiento 2:** Como 1 + 500 ppm de  $\beta$ -mananasas CIBENZA DE200®

**Tratamiento 3:** Dieta basal de maíz-soya + 500 ppm de bacteriófagos Bacteriophage Plus

**Tratamiento 4:** Como 2 + 500 ppm de bacteriófagos Bacteriophage Plus

## 2.5- Composición de las raciones experimentales

La composición de las dietas experimentales y sus aportes se ilustran en los **Cuadros 2 y 3**.

**Cuadro 2.** Composición y análisis calculado de las dietas basales de iniciación para pollo de engorda (1-21 días de edad).

<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad (kg)</b>
Maíz	571.45
Pasta de soya	370.925
Aceite vegetal	18.425
Carbonato de calcio	14.75
Ortofosfato	10.55
Sal	3.5
Metionina	3.125
Premezcla mineral*	0.5
Premezcla vitamínica**	3
L-lisina HCl	2.85
L-treonina	0.725
Antioxidante (IQ)***	0.15
Fitasa	0.55
Cloruro de colina 60%	0.05
<b>Total</b>	<b>1000</b>
<b>Análisis calculado</b>	
Energía metabolizable	3010
Proteína cruda (%)	22
Lisina digestible (%)	1.44
Met+ Cis digestible (%)	0.9
Arginina total (%)	1.347
Sodio (%)	0.182
Calcio total (%)	0.96
Fósforo disponible (%)	0.48

\* Por 0.5 kg: Yodo 300 mg/kg; Selenio 200 mg/kg; Cobalto 200 mg/kg; Hierro 50 000 mg/kg; Cobre 12 000 mg/kg; Zinc 50 000 mg/kg; Manganeso 110 000 mg/kg

\*\* Núcleo comercial que aporta: Vit. A 12,000,000 UI, Vit. D3 2,500,000 UIP, Vit. E 15,000 UI, Vit. K3 2,000 mg/kg, Vit. B1 2,250 mg/kg, Vit. B2 7500 mg/kg, Vit. B3 45,000 mg/kg, Vit. B5 12,500 mg/kg, Vit. B6 3,500 mg/kg, Vit. B12 20 mg/kg, Ácido fólico 1,500 mg/kg, Biotina 125 mg/kg.

\*\*\* BHT (1.2%) y BHQ (9%)

**Cuadro 3.** Composición y análisis calculado de las dietas basales de finalización para pollo de engorda (22-49 días de edad).

<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad (kg)</b>
Maíz	644.85
Pasta de soya	289
Aceite vegetal	20.4
Carbonato de calcio	14.5
Ortofosfato	10.1
Sal	3.5
Metionina	3.5
Premezcla mineral*	3
L-lisina HCl	4
Antioxidante (IQ)**	0.15
Fitasa	0.5
Avelut amarillo	6
Coccidiostato	0.5
Total	1000
<b>Análisis calculado</b>	
Energía metabolizable	3200
Proteína cruda (%)	19
Lisina digestible (%)	0.94
Met+ Cis digestible (%)	0.73
Calcio total (%)	0.85
Fósforo disponible (%)	0.42

\* Núcleo comercial que aporta: Vit. A 12,000,000 UI, Vit. D3 2,500,000 UIP, Vit. E 15,000 UI, Vit. K3 2,000 mg/kg, Vit. B1 2,250 mg/kg, Vit. B2 7500 mg/kg, Vit. B3 45,000 mg/kg, Vit. B5 12,500 mg/kg, Vit. B6 3,500 mg/kg, Vit. B12 20 mg/kg, Ácido fólico 1,500 mg/kg, Biotina 125 mg/kg. Por 0.5 kg: Yodo 300 mg/kg; Selenio 200 mg/kg; Cobalto 200 mg/kg; Hierro 50 000 mg/kg; Cobre 12 000 mg/kg; Zinc 50 000 mg/kg; Manganeso 110 000 mg/kg.

\*\* BHT (1.2%) y BHQ (9%).

## 2.6- Mediciones experimentales

a) A los 21 días de edad

Se utilizaron dos aves por réplica, para los siguientes procedimientos:

- Toma de muestra de sangre de vena radial, para elaboración de hemograma
- Toma de suero de sangre de vena radial, para medición de inmunoglobulinas contra el virus de la enfermedad de Newcastle (ENC)
- Toma de contenido de yeyuno para medición de IgA
- Toma de duodeno, para medición de longitud de vellosidades (LV), profundidad de criptas (PC) y relación vellosidad/cripta (RVC)

b) A los 35 días de edad

Se utilizaron dos aves por réplica para los siguientes procedimientos:

- Toma de suero de sangre de vena radial, para medición de inmunoglobulinas contra el virus de la ENC
- Toma de contenido de yeyuno, para medición de IgA
- Toma de duodeno, para medición de LV, PC y RVC

c) A los 49 días de edad

Se utilizaron dos aves por réplica para los siguientes procedimientos:

- Toma de muestra de sangre de vena radial, para elaboración de hemograma
- Toma de suero de sangre de vena radial, para medición de inmunoglobulinas contra el virus de la ENC
- Toma de contenido de yeyuno para medición de IgA
- Toma de duodeno para medición de LV, PC y RVC

d) Semanalmente, durante los 49 días de experimentación

- Ganancia de peso, g
- Consumo de alimento, g
- Conversión alimenticia, kg/kg
- Mortalidad, %

e) En rastro (49 días)

Se utilizaron 160 aves en total (40 aves por tratamiento) para los siguientes procedimientos:

- Rendimiento de la canal
- Medición del pigmento
- Cálculo del índice morfométrico (IM) del hígado, bazo, timo y bolsa de Fabricio.

## 2.7- Análisis estadísticos y pruebas de significancia

Antes al análisis estadístico, se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) en las variables que se analizaron. Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de varianza para un diseño factorial de dos factores siendo el primer factor la inclusión de bacteriófagos y enramicina y el segundo la inclusión o no de  $\beta$ -mananasa, esto conforme al modelo siguiente (Daniel, 2010):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{(ijk)} \quad \begin{array}{l} i=1, 2 \\ j=1, 2 \\ k= 1, 2, 3, 4, 5, 6 \end{array}$$

En donde:

$Y_{ij}$ = Variables de respuesta

$\mu$ = Media general

$\alpha_i$ = Efecto del i-ésimo tratamiento (dietas con 500 FTU/kg y con 1500 FTU/kg).

$\beta_j$ = Efecto del j-ésimo tratamiento (Con y Sin Hemicell).

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo tratamiento.

$E_{ijk}$ = Error experimental.

También se utilizó la prueba de Tukey para diferencia de medias entre grupos. Para analizar los resultados de las variables se utilizó el software de computadora PASW® Statistics 18, y se utilizó una significancia de  $P \leq 0.5$  (Daniel, 2010).

## **2.8- Procedimiento experimental**

### **2.9.1- Descripción del experimento**

Para el desarrollo del experimento, fueron utilizados 600 pollos de la estirpe Ross 308 de un día de edad, los pollos fueron acomodados en lotes de 3.1 m<sup>2</sup>, con un total de 25 pollos en cada cuadrante en una de las casetas de ambiente natural del C.E.I.E.P.Av., lugar en el que permanecieron hasta concluir el trabajo experimental.

Se recibió el pollito de un día de edad con agua y alimento *ad libitum* (con dietas de los tratamientos correspondientes) con equipo de iniciación y en caseta previamente preparada con criadoras (32°C) y cortinas para mejor mantenimiento de la temperatura.

El suministro de agua y alimento durante el trabajo experimental fue realizado *ad libitum*.

El trabajo experimental terminó con el sacrificio de los pollos en el rastro del C.E.I.E.P.Av. (160 pollos) por medio de insensibilización (8 A, 25 V) y desangrado por medio de corte de la vena yugular. Posteriormente se realizó el escaldado ligero (53°C, 120 s) y el desplume en una desplumadura de tambor, para finalmente eviscerar y obtener la canal.

Las aves restantes, que no fueron utilizadas en el proceso experimental (rastros y toma de muestras) quedaron a disposición del C.E.I.E.P.Av

### **2.9.2- Programa sanitario**

Antes del inicio del trabajo experimental, se llevó a cabo el acondicionamiento de las instalaciones, utilizando un desinfectante con base en ácidos orgánicos (bio-clean® 2 mL/L).

El programa de vacunación empleado fue el siguiente:

A los 10 días de edad se vacunó contra el virus de la ENC por medio de vía ocular (1 gota/ave de Newcastle cepa La Sota®, Laboratorios Avilab) e influenza aviar por medio de vía subcutánea con vacuna emulsionada (0.5 mL/ave de Newcastle Plus®, Laboratorios Avilab).

En la entrada de la caseta se colocó un vado sanitario, utilizando glutaraldehído (GLUTALAB REFORT® 2 mL/L) para desinfectar el calzado y así poder realizar las diversas actividades de manejo con los pollos de engorda.

### **2.9.3- Metodología de las actividades**

#### **a) Cálculo de parámetros productivos**

Fueron obtenidos de la siguiente manera:

- Ganancia de peso (g):  $\text{peso final} - \text{peso inicial}$
- Consumo de alimento por ave (g):  $\frac{\text{alimento servido} - \text{alimento sobrante}}{\text{Suma de número de pollos vivos por día durante el período de prueba} \times \text{días de prueba}}$
- Conversión alimenticia:  $\frac{\text{consumo de alimento}}{\text{ganancia de peso}}$
- Mortalidad (%):  $\frac{\text{aves muertas}}{\text{aves iniciadas}} \times 100$



- Rendimiento de la canal (%): peso de la canal / peso del ave viva

### **b) Índice morfométrico de los órganos**

Los órganos, bazo, bolsa de Fabricio, timo e hígado fueron obtenidos durante la evisceración para después ser pesados en una báscula analítica Ohaus® de 400 g y calcular el IM de estos mediante la fórmula:

Peso del órgano x 100 / Peso vivo del ave

### **c) Coloración o pigmentación**

Se midió el amarillamiento (b\*) en las canales frías después de la evisceración y del chiller, se utilizó un colorímetro de la marca Minolta, modelo CR 400.

### **d) Evaluación de muestras sanguíneas**

Se evaluaron los analitos del hemograma (Mitchell y Johns, 2008). Se obtuvieron 0.5 mL de sangre de la vena radial (Valdivia, 2008). Se utilizaron microtubos con EDTA para su transporte e inmediato análisis. Se tomaron 5 muestras por tratamiento (20 por muestreo); 40 muestras totales de los dos muestreos realizados.

### **e) Medición de anticuerpos contra enfermedad de Newcastle**

Se evaluó el estado inmunológico general por medio de la cuantificación de los anticuerpos contra el virus de la ENC por medio de la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IH) (Saini *et al.*, 1990). Se obtuvieron 3 mL de sangre por vena radial como lo describe (Valdivia, 2008), después la sangre se mantuvo a temperatura ambiente por 18 h para la obtención del suero y se congelaron las

muestras para su posterior análisis. La toma consistió en 12 muestras por tratamiento (48 muestras por muestreo); 144 muestras totales de los tres muestreos realizados.

#### **f) Medición de Inmunoglobulinas IgA intestinales**

Se evaluó la inmunidad humoral local por medio de la concentración de IgA del contenido de yeyuno por medio de un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), de acuerdo al procedimiento de obtención de muestra y prueba descrito por Gomez *et al.* (2009). Se tomaron 12 muestras por tratamiento (48 muestras por muestreo); 144 muestras totales de los tres muestreos realizados. Las aves fueron sacrificadas por dislocación cervical.

#### **g) Medición de vellosidades intestinales**

Se evaluó la LV, PC y RVC del duodeno (Luna, 1968). Se obtuvieron cortes de 3 cm de duodeno y se depositaron en formol al 10 % para su posterior análisis. Se tomaron 12 muestras por tratamiento (48 muestras por muestreo); 144 muestras totales de los tres muestreos realizados. Las aves fueron sacrificadas por dislocación cervical.

Las mediciones fueron realizadas en vellosidades íntegras, teñidas con la tinción hematoxilina y eosina (H&E), utilizando un fotomicroscopio Leica DM500 con el objetivo 4X y la ayuda del software Leica LAS EZ (Leica Application suite) Versión 3.3.0. Para el análisis estadístico se tomaron en cuenta 40 mediciones de campos diferentes de las 12 muestras por tratamiento.

## 3. RESULTADOS

### 3.1- Parámetros productivos

Los resultados obtenidos para los parámetros productivos, se pueden visualizar en el **Cuadro 4**. Para ganancia de peso, en el factor 1 enramicina o bacteriófagos, no se encontró diferencia significativa ( $p= 0.91$ ). Para el factor 2 de  $\beta$ -mananasas tampoco se encontró diferencia significativa ( $p= 0.58$ ). No se encontró interacción entre los factores ( $p=0.8$ ).

En consumo de alimento, para el factor 1 enramicina o bacteriófagos, no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.67$ ) ni para el factor 2  $\beta$ -mananasas ( $p= 0.52$ ), aunque con  $\beta$ -mananasas se obtuvo un menor consumo (1.36%) solo fue diferente numéricamente. No se encontró interacción entre los factores ( $p= 0.77$ ).

En la conversión alimenticia, se ve que el factor 1 enramicina o bacteriófagos no hubo diferencias significativas ( $p= 0.6$ ) ni para el factor 2 de  $\beta$ -mananasas ( $p= 0.81$ ). No se encontró interacción de los factores ( $p= 0.5$ ).

Para la mortalidad, en el factor 1 enramicina o bacteriófagos no se encontró diferencia significativa ( $p= 0.8$ ) ni para el factor 2  $\beta$ -mananasas ( $p= 0.28$ ), aunque, se puede observar diferencia numérica para el factor bacteriófagos (4.7% vs 5.1%), teniendo menor mortalidad. De igual manera no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la interacción de los factores ( $p= 0.053$ ).

En cuanto al rendimiento de la canal, en el factor 1 enramicina o bacteriófagos tampoco hubo diferencias ( $p= 0.14$ ) ni para el factor 2 de  $\beta$ -mananasas ( $p= 0.18$ ). No se encontró diferencia estadística significativa para la interacción de los factores ( $p= 0.97$ ).

**Cuadro 4.** Resultados en dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, de pollos al día 49 de edad.

<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>GDP (g)</b>	<b>C (g)</b>	<b>CA (kg/kg)</b>	<b>RC (%)</b>	<b>M (%)</b>
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	2918.6	5430.9	1.87	69.9	5.8
Enramicina	Con $\beta$ - mananasas	2827.4	5389.1	1.91	69.5	4.4
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>2873.0</b>	<b>5410.0</b>	<b>1.89</b>	<b>69.7</b>	<b>5.1</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>2897.9</b>	<b>5471.5</b>	<b>1.90</b>	<b>69.7</b>	<b>4.1</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	2877.3	5512.1	1.92	69.4	2.5
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	2843.0	5405.3	1.91	69.0	6.9
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>2860.1</b>	<b>5458.7</b>	<b>1.91</b>	<b>69.2</b>	<b>4.7</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>2835.2</b>	<b>5397.2</b>	<b>1.91</b>	<b>69.3</b>	<b>5.6</b>
<b>Probabilidad</b>						
Factor 1		0.91	0.67	0.60	0.14	0.9
Factor 2		0.58	0.52	0.81	0.18	0.4
F1 * F2		0.80	0.77	0.54	0.97	-
EEM		270.30	275.40	0.10	1.87	3.4

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). EEM = Error estándar de la media. F1 = factor 1; F2 = factor 2; GDP = ganancia de peso; C = consumo de alimento; CA = conversión alimenticia; RC = rendimiento de la canal; M = mortalidad.

### 3.2- Índice morfométrico de los órganos

Los resultados obtenidos para el IM de los órganos, se pueden visualizar en el **Cuadro 5**. Para el IM del bazo y de la bolsa de Fabricio, no se encontró diferencia estadísticamente significativa para los factores 1 y 2 ni en la interacción de factores ( $p > 0.05$ ).

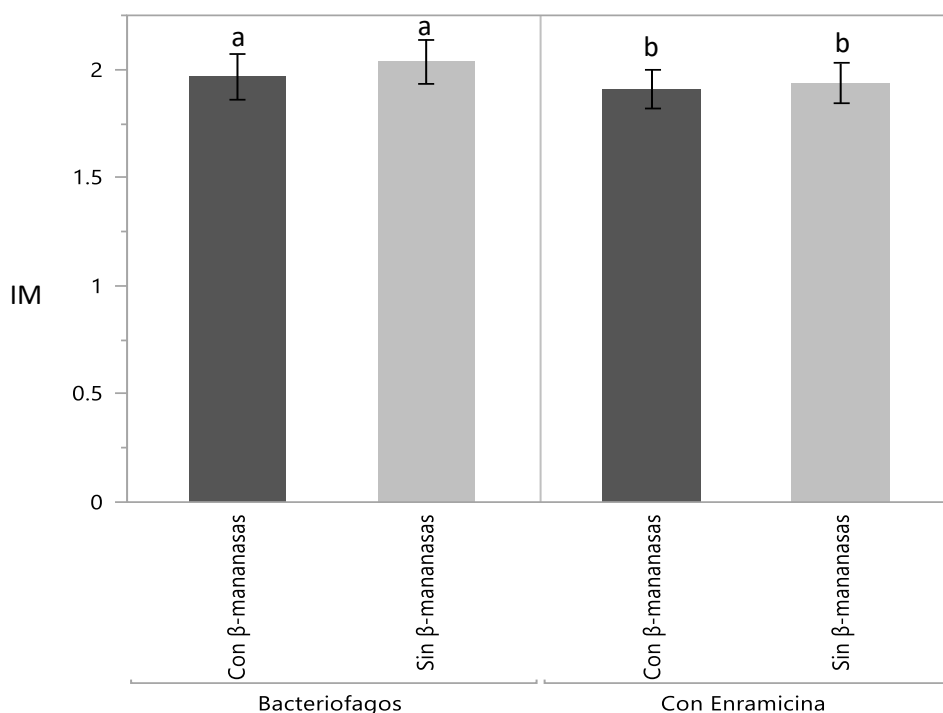
En el IM del hígado, el factor 1 enramicina o bacteriófagos fue significativo, como puede observarse en la **Figura 1** ( $p = 0.002$ ), obteniendo valores mayores cuando se utilizaron los bacteriófagos (2.01 vs 1.89). No hubo diferencias para el factor 2  $\beta$ -mananasas ( $p = 0.26$ ). No se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción de los factores ( $p = 0.17$ ).

En cuanto al IM del timo, el factor 1 enramicina o bacteriófagos resultó estadísticamente significativo ( $p = 0.002$ ), mostrado en la **Figura 2**, teniendo valores mayores para IM cuando se utilizaron los bacteriófagos (0.22 vs 0.18). Por otro lado, el factor 2  $\beta$ -mananasas no mostró diferencias significativas ( $p = 0.1$ ), solo numéricamente (0.21 vs 0.19). Se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción entre factores ( $p = 0.002$ ), como se muestra en la **Figura 3**; en dietas con enramicina con el uso de  $\beta$ -mananasas se obtuvieron valores más altos para el IM, aunque el desempeño de los T3 y T4 fue similar a este, mientras que el valor de T1 fue el más bajo para el valor de IM.

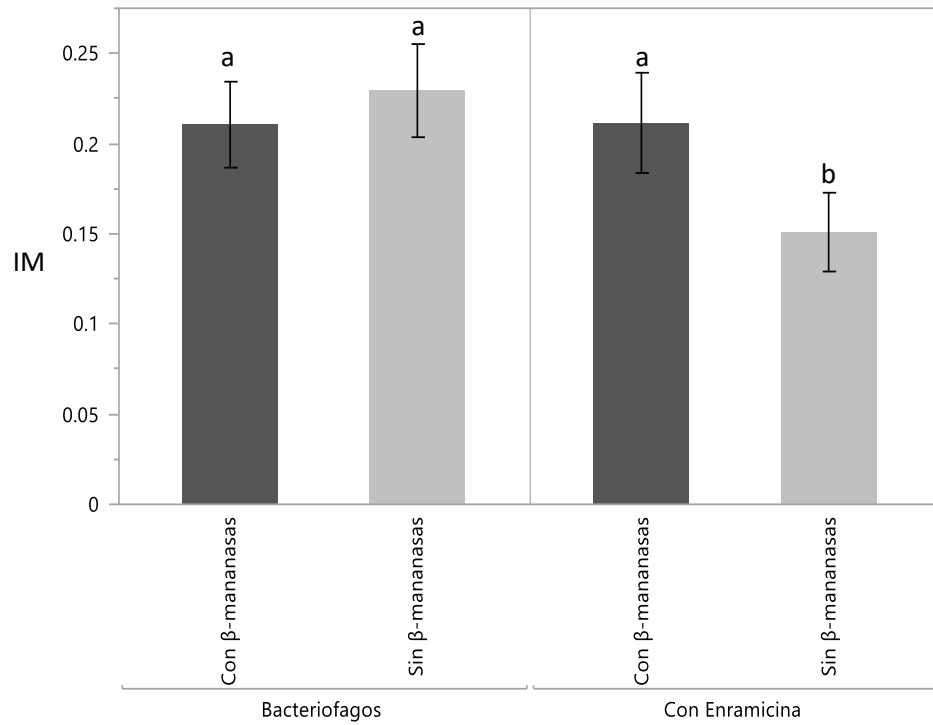
**Cuadro 5.** Índice morfométrico de los órganos de los pollos en dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, de pollos al día 49 de edad.

Factor 1	Factor 2	Bazo (%)	Bolsa de Fabricio (%)	Hígado (%)	Timo (%)
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	0.13	0.09	1.88 b	0.15 b
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	0.14	0.11	1.89 b	0.21 a
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>0.14</b>	<b>0.10</b>	<b>1.89</b>	<b>0.18</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>0.14</b>	<b>0.10</b>	<b>1.97</b>	<b>0.19</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	0.15	0.12	2.06 a	0.23 a
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	0.13	0.10	1.96 a	0.21 a
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>0.14</b>	<b>0.11</b>	<b>2.01</b>	<b>0.22</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>0.14</b>	<b>0.10</b>	<b>1.93</b>	<b>0.21</b>
<b>Probabilidad</b>					
Factor 1		0.8	0.2	<b>0.002</b>	<b>0.002</b>
Factor 2		0.3	0.9	0.26	0.10
F1 * F2		-	-	0.17	<b>0.002</b>
EEM		0.03	0.04	0.24	0.08

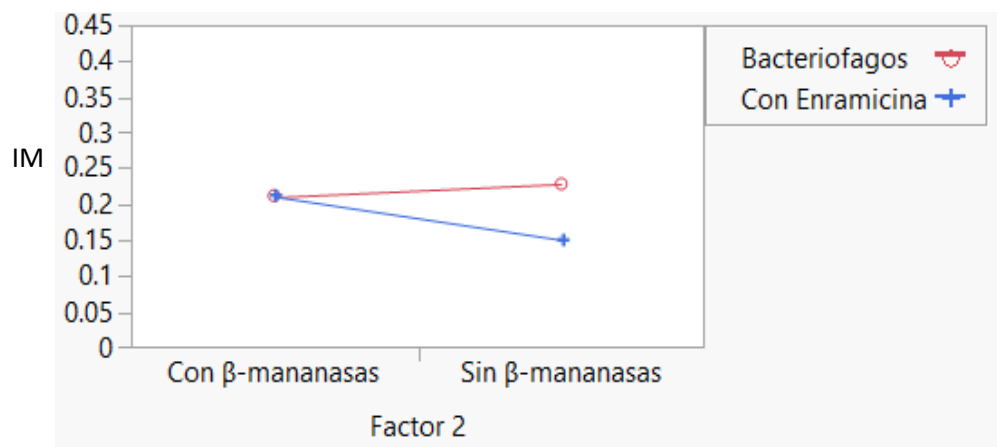
La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). F1 = Factor 1, F2 = factor 2, EEM = Error estándar de la media.



**Figura 1.** Índice morfométrico del hígado de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas al día 49 de edad.



**Figura 2.** Índice morfométrico del timo de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -manananas al día 49 de edad.



**Figura 3.** Interacción entre factores en el índice morfométrico del timo de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -manananas al día 49 de edad.

### 3.3- Coloración

#### 3.3.1- Amarillamiento

Los resultados obtenidos para la coloración en canal fría de las canales, se detallan en el **Cuadro 6**. El factor 1 enramicina o bacteriófagos ni el factor 2  $\beta$ -mananasas fueron diferentes estadísticamente ( $p > 0.05$ ). No se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción de factores en la coloración de las canales ( $p=0.86$ ).

**Cuadro 6.** Coloración amarilla en canal fría en dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, de pollos al día 49 de edad.

<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>Amarillamiento (b*)</b>
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	39.6
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	39.2
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>39.4</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>40.1</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	40.8
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	40.3
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>40.6</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>39.8</b>
<b>Probabilidad</b>		
Factor 1		-
Factor 2		0.49
Factor 1 * Factor 2		0.86
EEM		2.34

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). EEM = Error estándar de la media.



### 3.4- Hemograma

Los resultados obtenidos en el hemograma para el día 21 y 49 de edad se muestran en los **Cuadros 7 y 8**. Para el factor 1 enramicina o bacteriófagos ( $p > 0.05$ ), así como para el factor 2  $\beta$ -mananasa ( $p > 0.05$ ), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los analitos de ambos muestreos. De igual manera, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, para la interacción entre los factores en ninguno de los analitos de los muestreos ( $p > 0.05$ ).

Al día 21 de edad, se puede observar una tendencia de aumento de linfocitos cuando se utilizan  $\beta$ -mananasa en la dieta, aunque esta diferencia fue solamente numérica, no continúa al día 49 de edad.

**Cuadro 7.** Análisis celular por medio de un hemograma de los pollos alimentados con dietas maíz-soya, adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa a los 21 días de edad.

F 1	F 2	Er (L/L)	P.P (g/L)	Ht ( $10^{12}$ /L)	L ( $10^9$ /L)	H ( $10^9$ /L)	R H:L	Leu ( $10^9$ /L)	M ( $10^9$ /L)	E ( $10^9$ /L)	B ( $10^9$ /L)	T ( $10^9$ /L)
Enr	Sin $\beta$	2.38	32.7	0.35	2.27	1.37	0.46	4.65	0.29	0.52	0.20	13.25
Enr	Con $\beta$	2.45	31.3	0.34	2.70	0.84	0.48	4.90	0.20	0.19	0.26	17
Bact	Sin $\beta$	2.70	33.3	0.36	1.84	0.82	0.50	3.43	0.29	0.1	0.39	17.33
Bact	Con $\beta$	2.41	31.8	0.35	2.26	1.30	0.76	4.88	0.28	0.16	0.30	18.8
Probabilidad												
F 1		0.13	0.58	0.57	0.18	0.86	0.38	0.30	0.60	0.15	0.10	0.16
F 2		0.23	0.18	0.43	0.19	0.91	0.43	0.16	0.46	0.39	0.83	0.21
F1*F2		0.056	0.92	0.83	0.99	0.053	0.51	0.31	0.58	0.21	0.28	0.58
EEM		0.17	1.81	0.016	0.60	0.43	0.33	1.12	0.13	0.28	0.13	3.92

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). F1= factor 1, F2 = factor 2, Enr = enramicina, Sin  $\beta$  = sin  $\beta$ -mananasa, Con  $\beta$  = con  $\beta$ -mananasa, Bact = bacteriófagos, EEM = Error estándar de la media, Er = eritrocitos, P.P = proteínas plasmáticas, Ht = hematocrito, L=linfocitos, H = heterófilos, R H:L = Relación heterófilos: linfocitos, Leu = leucocitos, M = monocitos, E = eosinófilos, B = basófilos, T = trombocitos.

**Cuadro 8.** Análisis celular por medio de un hemograma de los pollos alimentados con dietas maíz-soya, adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa a los 49 días de edad.

F 1	F 2	Er (L/L)	P.P (g/L)	Ht ( $10^{12}$ /L)	L ( $10^9$ /L)	H ( $10^9$ /L)	R H:L	Leu ( $10^9$ /L)	M ( $10^9$ /L)	E ( $10^9$ /L)	B ( $10^9$ /L)	T ( $10^9$ /L)
Enr	Sin $\beta$	2.52	40	0.35	3.4	1.6	0.45	7.66	0.91	0.35	0.57	16.8
Enr	Con $\beta$	2.82	39	0.36	4.08	3.19	0.68	9.15	1.06	0.36	0.94	18.2
Bact	Sin $\beta$	2.57	39.4	0.35	4.55	2.86	0.47	9.11	0.68	0.5	0.51	17
Bact	Con $\beta$	2.37	42.8	0.36	3.16	1.94	0.62	6.29	0.51	0.24	0.43	16.25
Probabilidad												
F1		0.14	0.28	0.83	0.82	0.98	0.89	0.39	0.04	0.79	0.04	0.56
F2		0.71	0.41	0.52	0.48	0.49	0.16	0.42	0.95	0.10	0.29	0.83
F1 * F2		0.06	0.14	0.94	0.05	-	0.76	-	0.37	0.09	0.10	0.48
EEM		0.28	3.2	0.03	1.07	1.03	0.28	1.77	0.39	0.17	0.28	3.12

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). F1= factor 1, F2 = factor 2, Enr = enramicina, Sin  $\beta$  = sin  $\beta$ -mananasa, Con  $\beta$  = con  $\beta$ -mananasa, Bact = bacteriófagos, EEM = Error estándar de la media, Er = eritrocitos, P.P = proteínas plasmáticas, Ht = hematocrito, L=linfocitos, H = heterófilos, R H:L = Relación heterófilos: linfocitos, Leu = leucocitos, M = monocitos, E = eosinófilos, B = basófilos, T = trombocitos.

### 3.5- Respuesta humoral sistémica

Los resultados de las variables inmunológicas se muestran en el **Cuadro 9**. No hubo efecto del factor 1 enramicina o bacteriófagos ni del factor 2  $\beta$ -mananasas ( $p > 0.05$ ) en los títulos de anticuerpos séricos contra el virus de la ENC. No se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción entre factores en los tres muestreos realizados (21, 35 y 49 días de edad de los pollos) ( $p > 0.05$ ).

**Cuadro 9.** Análisis de la respuesta inmune humoral sistémica de pollos adicionados con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, a los 21,35 y 49 días de edad.

Factor 1	Factor 2	IH ENC, Log 2 d 21	IH ENC, Log 2 d 35	IH ENC, Log 2 d 49
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	4.9	4.9	4.7
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	4.0	5.0	5.2
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>4.4</b>	<b>4.9</b>	<b>5.0</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>4.9</b>	<b>5.0</b>	<b>4.6</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	5.0	5.1	4.6
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	4.2	5.2	4.7
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>4.6</b>	<b>5.2</b>	<b>4.7</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>4.1</b>	<b>5.1</b>	<b>5.0</b>
<b>Probabilidad</b>				
Factor 1		0.7	0.4	0.3
Factor 2		-	0.6	0.2
F1 * F2		0.9	0.9	0.5
EEM		1.2	0.8	1.02

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). F1 = factor 1, F2 = factor 1, IH = Inhibición de la hemoaglutinación, ENC = enfermedad de Newcastle, EEM = Error estándar de la media.

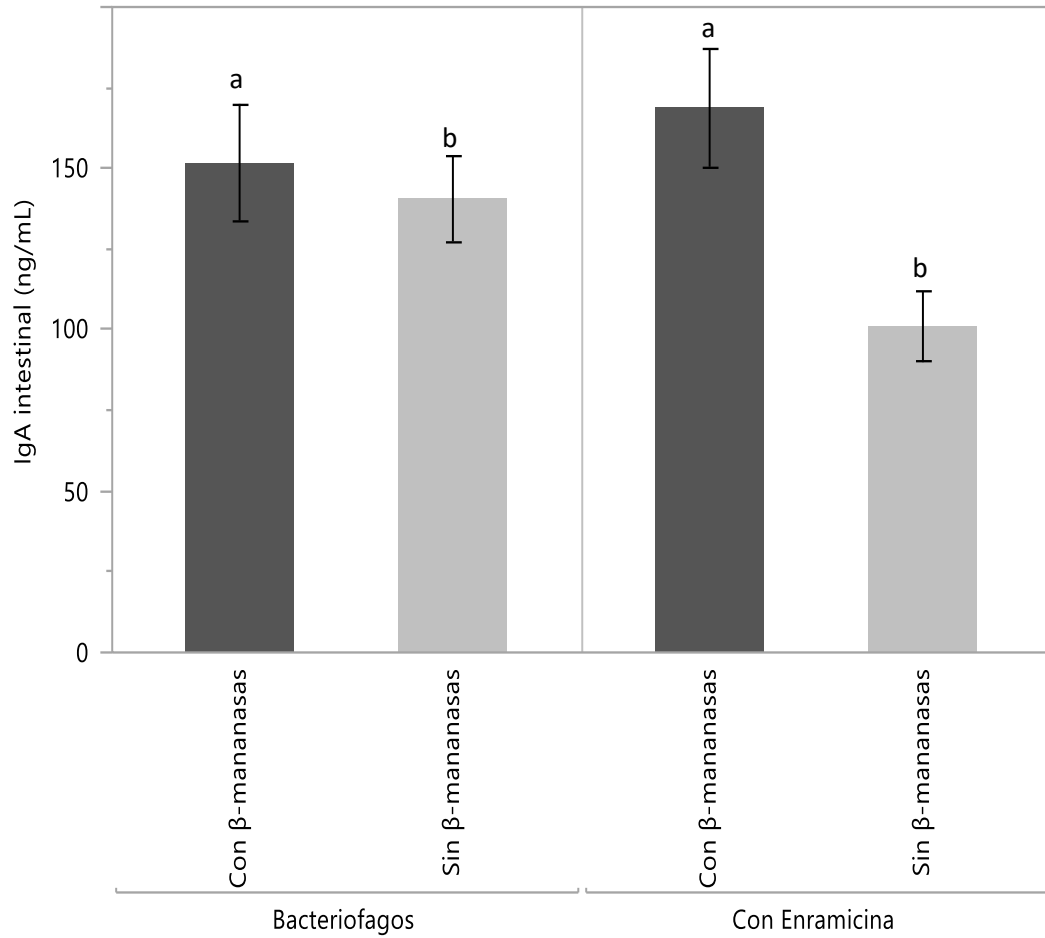
### 3.6- Respuesta humoral local

Los resultados de las variables inmunológicas se muestran en el **Cuadro 10**. Para los valores de IgA secretora en yeyuno, el factor 1 enramicina o bacteriófagos no mostró diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los tres días de muestreo, solamente hubo un aumento numérico de IgA del 6.51% al día 35 de edad. El factor 2  $\beta$ -mananasas tuvo un efecto positivo ( $p = 0.01$ ) en la cantidad de IgA secretora en el día 35 de edad de los pollos (160.4 vs 122.5), lo que significa un aumento del 23.65%, como se puede observar en la **Figura 4**; mientras que al día 21 de edad se observó un aumento solo numérico del 2.77%, tendencia que no se observa al día 49 de edad. No se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) para la interacción de los factores en ninguno de los tres muestreos realizados (21, 35 y 49 días de edad).

**Cuadro 10.** Análisis de la respuesta inmune humoral local de pollos adicionados con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, a los 21, 35 y 49 días de edad.

Factor 1	Factor 2	IgA intestinal (ng/ml) DO 450 nm d 21	IgA intestinal (ng/ml) DO 450 nm d 35	IgA intestinal (ng/ml) DO 450 nm d 49
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	95.6	100.8 b	247.3
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	109.2	168.9 a	172.7
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>102.4</b>	<b>136.5</b>	<b>211.9</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>91.3</b>	<b>122.5</b>	<b>216.2</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	87.4	140.5 b	190.3
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	81.2	151.9 a	218.8
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>84.2</b>	<b>146.0</b>	<b>203.9</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>93.8</b>	<b>160.4</b>	<b>198.1</b>
<b>Probabilidad</b>				
Factor 1		0.34	0.47	0.85
Factor 2		0.84	<b>0.01</b>	0.25
F1 * F2		0.60	0.08	-
EEM		58.30	51.60	97.80

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). F1 = Factor 1, F2 = factor 2, EEM = Error estándar de la media, DO = densidad óptica.



**Figura 4.** IgA intestinal de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 35 de edad.

## 3.7- Estudios histológicos

### 3.7.1- Día 21 de edad

Los resultados que muestran la LV, PC y RVC se muestran en el **Cuadro 11**. Para la LV, el factor 1 enramicina o bacteriófagos fue significativo ( $p= 0.006$ ), teniendo un valor de LV mayor cuando se utilizaron los bacteriófagos (2096.4 vs 2020.3) que se traduce en un 3.63% (**Figura 5**). El factor 2  $\beta$ -mananasas, también fue significativo ( $p = 0.002$ ), con valores mayores de LV (**Figura 5**) cuando no se usaron las  $\beta$ -mananasas (2083.4 vs 2020.8). Se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.0001$ ) para la interacción de factores (**Figura 6**), en dietas con bacteriófagos sin  $\beta$ -mananasas se obtuvo una LV mayor, mientras que los demás tratamientos tuvieron LV menores pero iguales estadísticamente entre sí.

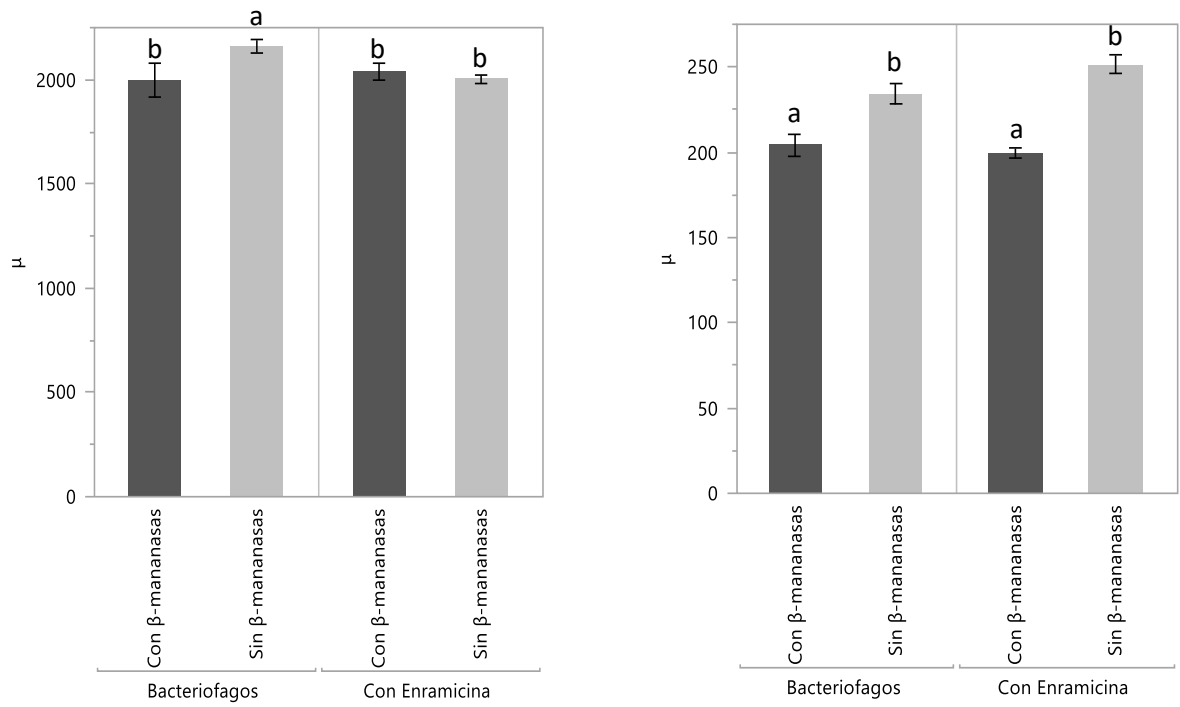
En cuanto a la PC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos no fue significativo, hubo una reducción numérica del 2.35% al usar bacteriófagos. El factor 2  $\beta$ -mananasas fue significativo ( $p < 0.0001$ ), teniendo valores de PC menores al utilizar  $\beta$ -mananasas, reduciéndola en un 17%, como se aprecia en la **Figura 5**. Se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0.03$ ) para la interacción de factores (**Figura 7**), teniendo valores de PC mayores en dietas con enramicina al no agregar  $\beta$ -mananasas, el T3, aunque ligeramente menor fue igual estadísticamente, los T2 y T4 mostraron los valores de PC más bajos.

En la RVC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos resultó significativo ( $p= 0.001$ ), con valores mayores (9.6 vs 8.9) al utilizar los bacteriófagos, como se muestra en la **Figura 8**. El factor 2  $\beta$ -mananasas, no mostró diferencias significativas ( $p= 0.23$ ), solo una diferencia numérica del 3.19% cuando se usaron las  $\beta$ -mananasas. No hubo diferencias estadísticamente significativas para la interacción de factores ( $p= 0.9$ ).

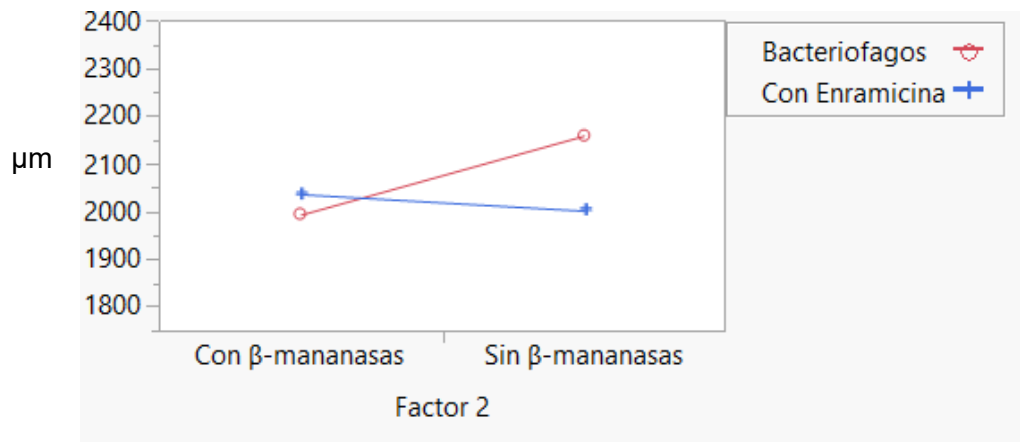
**Cuadro 11.** Análisis histológico de duodeno de pollos con dietas maíz-soya, adicionados con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -manananas, a los 21 días de edad.

<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>LV (<math>\mu</math>m)</b>	<b>PC (<math>\mu</math>m)</b>	<b>RVC</b>
Enramicina	Sin $\beta$ -manananas	2002.5 b	251.6 a	8.8 b
Enramicina	Con $\beta$ -manananas	2037.2 b	199.4 b	9.1 b
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>2020.3</b>	<b>225.5</b>	<b>8.9</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -manananas	<b>2083.4</b>	<b>242.8</b>	<b>9.1</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -manananas	2160.2 a	234.0 a	9.4 a
Bacteriófagos	Con $\beta$ -manananas	1994.4 b	204.1 b	9.7 a
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>2096.4</b>	<b>220.2</b>	<b>9.6</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -manananas	<b>2020.8</b>	<b>201.5</b>	<b>9.4</b>
<b>Probabilidad</b>				
F1		<b>0.006</b>	0.22	<b>0.001</b>
F 2		<b>0.002</b>	<b>&lt;0.0001</b>	0.23
F1*F2		<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.03</b>	0.9
EEM		122.3	32.1	1.2

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). LV = longitud de vellosidad, PC = profundidad de cripta, RVC = relación largo de vellosidad/profundidad de cripta, F1 = factor 1, F2 = factor 2, EEM = Error estándar de la media.

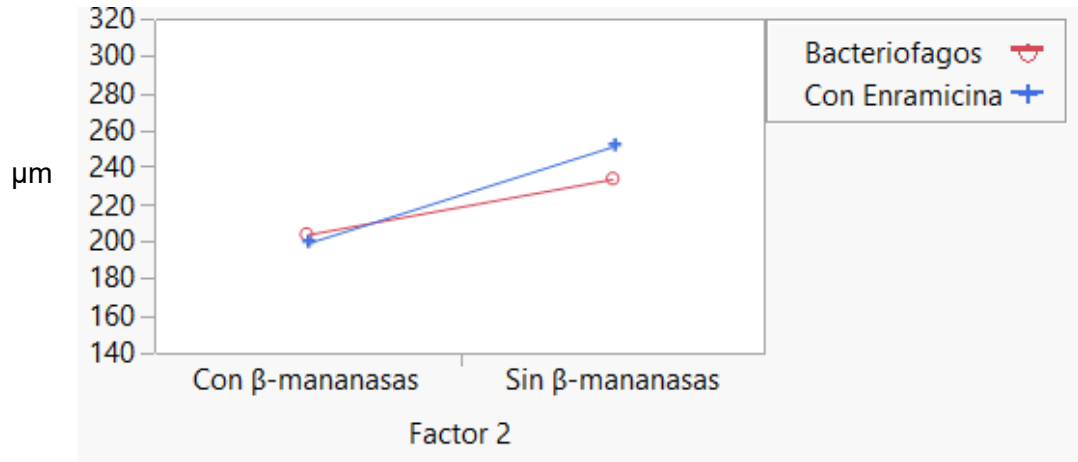


**Figura 5.** LV y PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 21 de edad

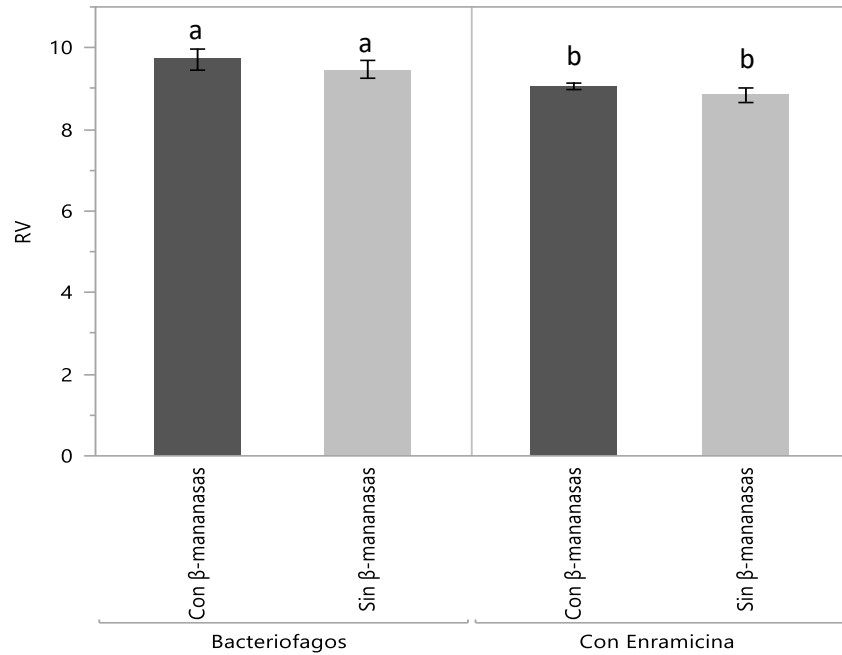


**Figura 6.** Interacción entre factores en la LV de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 21 de edad.





**Figura 7.** Interacción entre factores en la PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas al día 21 de edad.



**Figura 8.** RVC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas al día 21 de edad.

### 3.7.2- Día 35 de edad

Los resultados que muestran la LV, PC y RVC al día 35 de edad se muestran en el **Cuadro 12**. Para LV, el factor 1 enramicina o bacteriófagos fue significativo ( $p < 0.0001$ ), mostrando valores mayores en un 5.06%, cuando se incluyeron los bacteriófagos (2304 vs 2187.5) (**Figura 9**). No hubo diferencias significativas en el factor 2  $\beta$ -mananasas ( $p = 0.23$ ), solo un pequeño aumento numérico del 1.56% cuando se usaron. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la interacción entre factores en la LV ( $p = 0.8$ ).

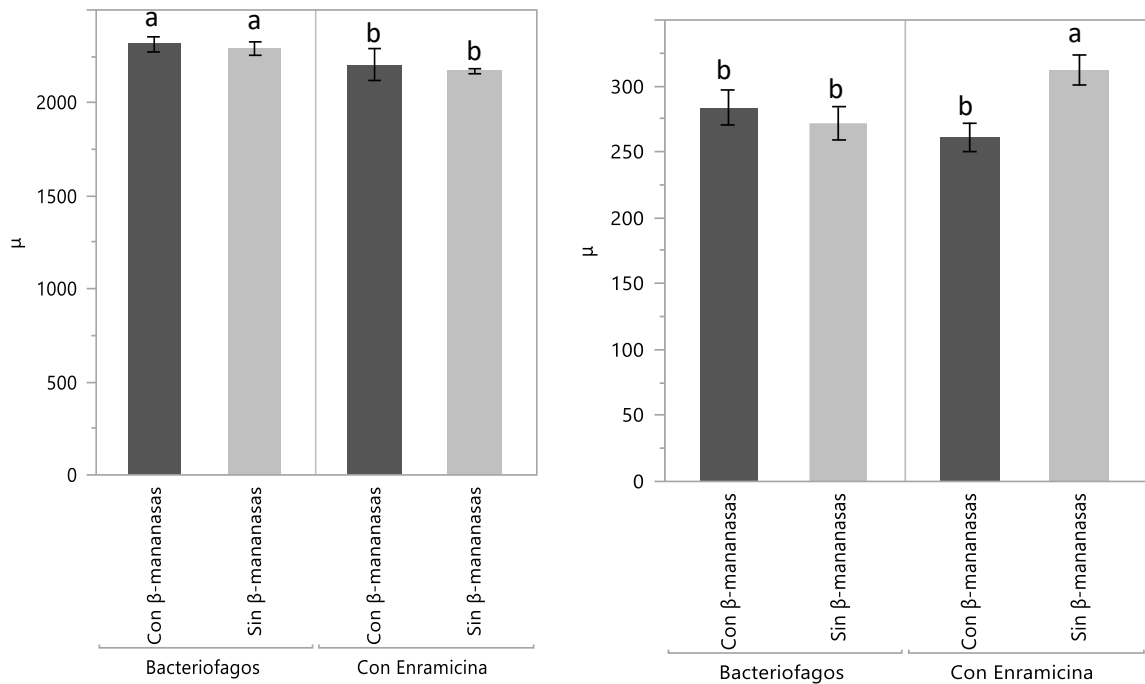
En la PC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos no mostró diferencias significativas ( $p = 0.13$ ), pero se pudo observar una disminución de la PC en un 3.45% con los bacteriófagos, mientras que el factor 2  $\beta$ -mananasas fue significativo ( $p = 0.002$ ), con valores menores para PC en un 6.96% (**Figura 9**). Se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.0001$ ) en la interacción de los factores, como se puede ver en la **Figura 10**, teniendo valores de PC mayores en dietas con enramicina cuando no se utilizaron  $\beta$ -mananasas, los demás tratamientos mostraron valores menores, iguales estadísticamente entre sí.

En cuanto a la RVC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos no mostró diferencias significativas ( $p = 0.17$ ), aunque hubo un aumento del 3.62% cuando se utilizaron los bacteriófagos, mientras que el factor 2  $\beta$ -mananasas si mostró significancia ( $p = 0.04$ ) con valores mayores para RVC cuando se agregaron las  $\beta$ -mananasas (8.4 vs 8) (**Figura 11**). Se encontró diferencia significativa ( $p = 0.0002$ ) en la interacción de los factores, mostrado en la **Figura 12**, con valores mayores en dietas con enramicina cuando se agregaron las  $\beta$ -mananasas, resultados similares como el obtenido por el T3 y el T4 (8.6 vs 8.5 y 8.1), siendo el T1 el que mostró el valor para RVC más bajo, aunque igual estadísticamente al T4.

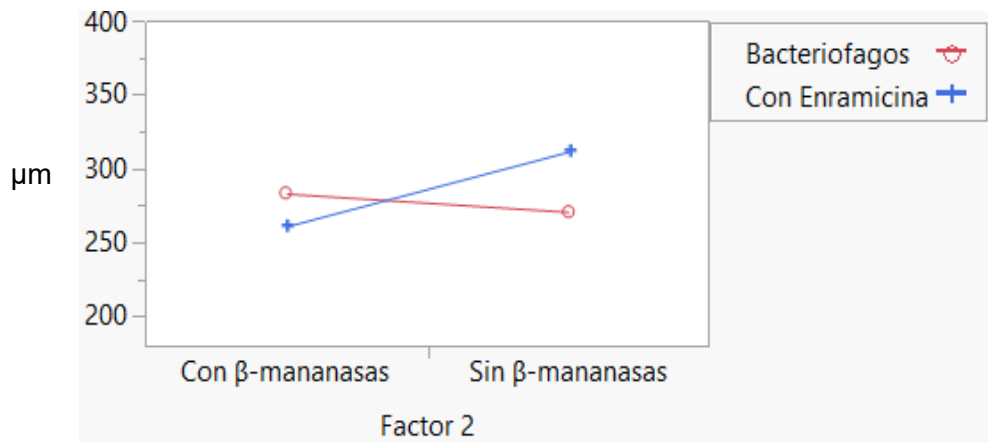
**Cuadro 12.** Análisis histológico de duodeno de pollos con dietas maíz-soya, adicionados con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, a los 35 días de edad.

<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>LV (<math>\mu</math>m)</b>	<b>PC (<math>\mu</math>m)</b>	<b>RVC</b>
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	2172.0 b	311.0 a	7.4 b
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	2206.3 b	261.3 b	8.6 a
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>2187.5</b>	<b>286.6</b>	<b>8.0</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>2230.6</b>	<b>291.6</b>	<b>8.0</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	2292.3 a	271.2 b	8.5 a
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	2315.2 a	283.5 b	8.1 ab
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>2304.0</b>	<b>276.7</b>	<b>8.3</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>2266.0</b>	<b>271.3</b>	<b>8.4</b>
<b>Probabilidad</b>				
F1		<b>&lt;0.0001</b>	0.13	0.17
F 2		0.23	<b>0.002</b>	<b>0.04</b>
F1*F2		0.8	<b>&lt;0.0001</b>	<b>0.0002</b>
EEM		146.1	37.5	1.3

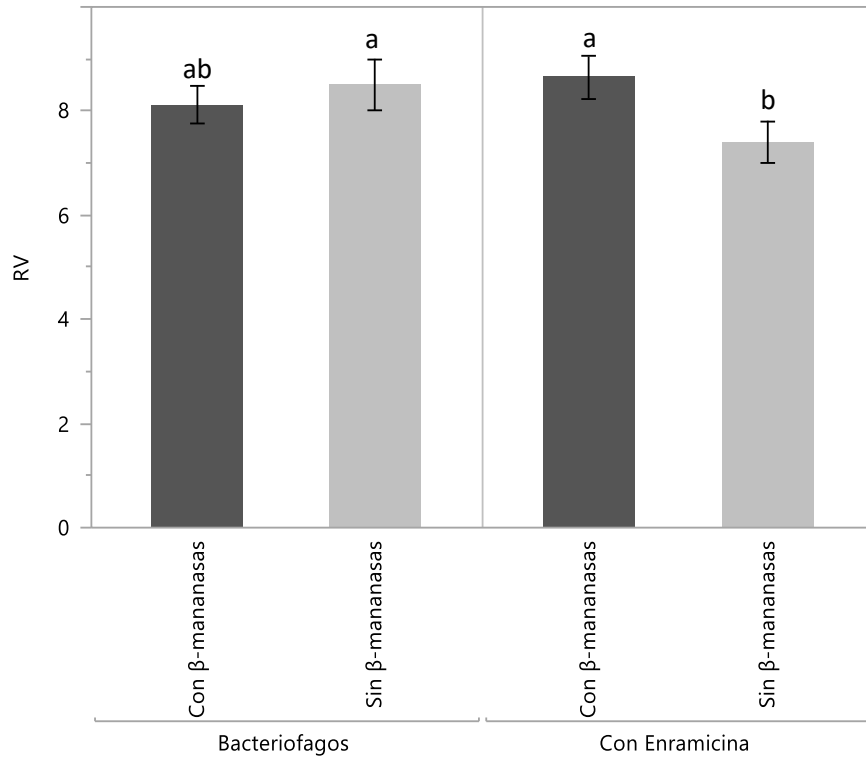
La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). LV = longitud de vellosidad, PC = profundidad de cripta, RVC = relación largo de vellosidad/profundidad de cripta, F1 = factor 1, F2 = factor 2, EEM = Error estándar de la media.



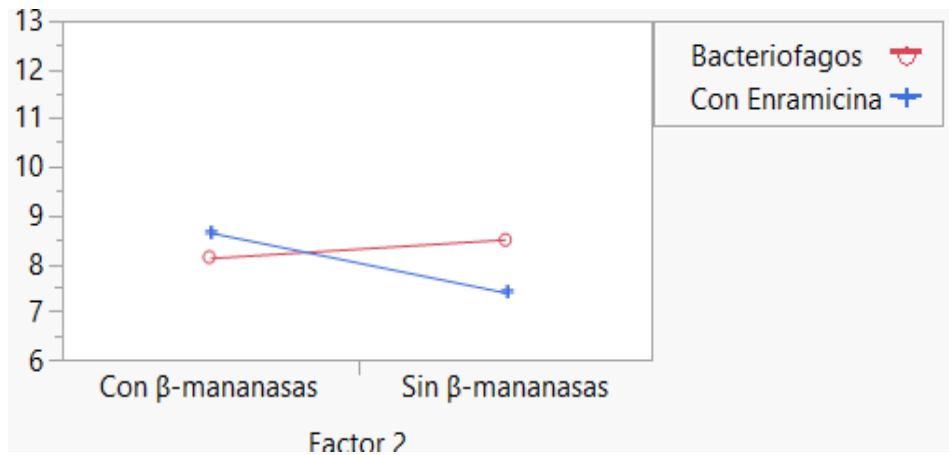
**Figura 9.** LV y PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 35 de edad



**Figura 10.** Interacción entre factores en la PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 35 de edad.



**Figura 11.** RVC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa al día 35 de edad.



**Figura 12.** Interacción entre factores en la RVC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasa al día 35 de edad.

### 3.7.3- Día 49 de edad

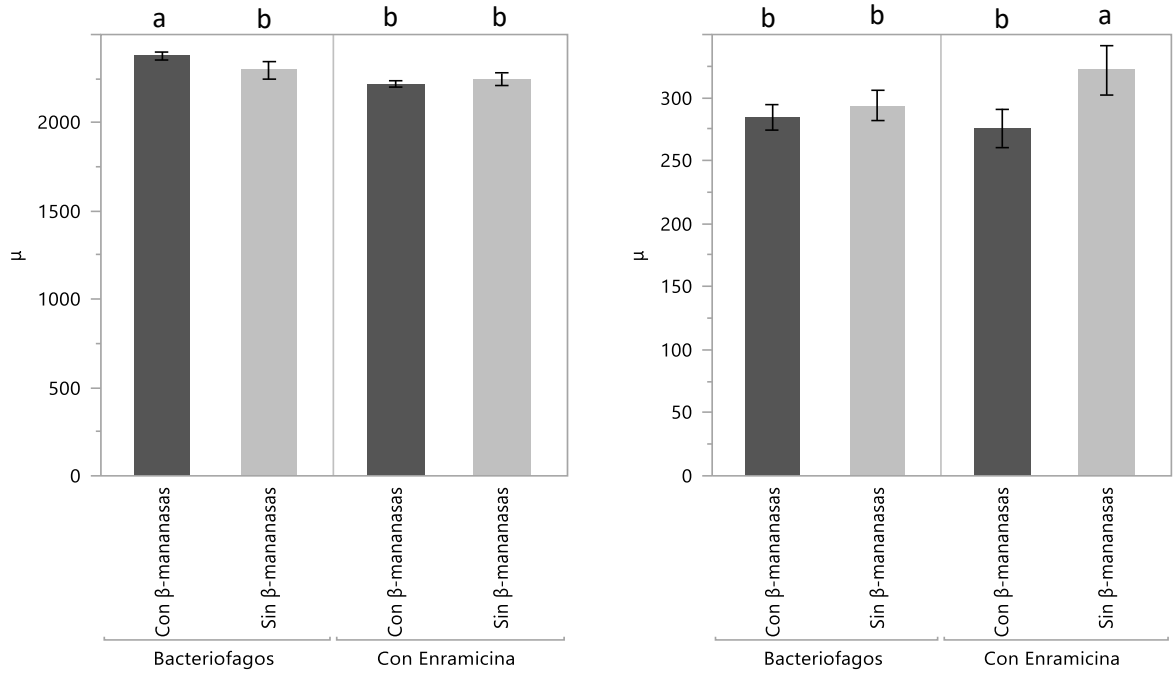
Los resultados que muestran la LV, PC y la RVC al día 49 de edad se observan en el **Cuadro 13**. Para LV, el factor 1 enramicina o bacteriófagos mostró diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ), teniendo valores 4.32% mayores con la adición de bacteriófagos (2338.8 vs 2237.6) (**Figura 13**). El factor 2  $\beta$ -mananasas no mostró diferencias significativas ( $p = 0.17$ ), solo un aumento del 2.25%. Se encontró interacción significativa entre los factores ( $p = 0.006$ ), con valores mayores en dietas con bacteriófagos cuando se agregaron  $\beta$ -mananasas, los T3 y T1 mostraron valores menores al T4 (2378.5 vs 2298.5 y 2246.6), mientras que el T2 obtuvo los valores más bajos para LV, aunque iguales estadísticamente al T1 (**Figura 14**).

En cuanto a PC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos no fue significativo ( $p = 0.18$ ), pero tuvo una disminución del 3.38%, por otro lado, el factor 2  $\beta$ -mananasas lo fue ( $p = 0.003$ ), obteniendo valores menores en PC en un 8.91% cuando se agregaron las  $\beta$ -mananasas, como se muestra en la **Figura 13**. Se encontró interacción significativa de los factores ( $p = 0.01$ ), con valores mayores en dietas con enramicina cuando no se utilizaron las  $\beta$ -mananasas, los demás tratamientos mostraron valores menores y fueron iguales estadísticamente entre si (**Figura 15**). En RVC, el factor 1 enramicina o bacteriófagos fue significativo ( $p = 0.008$ ) cuando se utilizaron los bacteriófagos (8.6 vs 7.9), mientras que el factor 2  $\beta$ -mananasas también fue significativo ( $p = 0.04$ ) al incluir las  $\beta$ -mananasas (8.5 vs 8.1), como se detalla en la **Figura 16**. No se encontró evidencia estadísticamente significativa en la interacción de los factores ( $p = 0.48$ ).

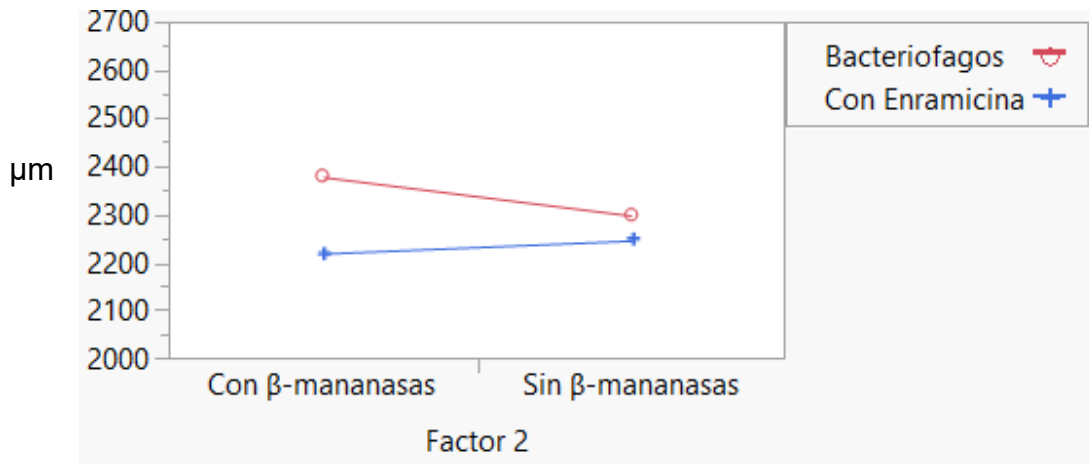
**Cuadro 13.** Análisis histológico de duodeno de pollos con dietas maíz-soya, adicionados con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas, a los 49 días de edad.

<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>	<b>LV (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>PC (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>RVC</b>
Enramicina	Sin $\beta$ -mananasas	2246.6 bc	321.7 a	7.8 b
Enramicina	Con $\beta$ -mananasas	2219.7 c	276.0 b	8.0 b
<b>Promedio F1</b>	Enramicina	<b>2237.6</b>	<b>299.2</b>	<b>7.9</b>
<b>Promedio F2</b>	Sin $\beta$ -mananasas	<b>2272.2</b>	<b>307.7</b>	<b>8.1</b>
Bacteriófagos	Sin $\beta$ -mananasas	2298.5 b	293.7 b	8.3 ab
Bacteriófagos	Con $\beta$ -mananasas	2378.5 a	284.5 b	8.9 a
<b>Promedio F1</b>	Bacteriófagos	<b>2338.5</b>	<b>289.1</b>	<b>8.6</b>
<b>Promedio F2</b>	Con $\beta$ -mananasas	<b>2324.6</b>	<b>280.3</b>	<b>8.5</b>
<b>Probabilidad</b>				
F1		<b>&lt;.0001</b>	0.18	<b>0.008</b>
F 2		0.17	<b>0.003</b>	<b>0.04</b>
F1*F2		<b>0.006</b>	<b>0.01</b>	0.48
EEM		108.20	46.20	1.30

La ausencia de literales entre las medias de cada columna indica que no existen diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). LV = longitud de vellosidad, PC = profundidad de cripta, RVC = relación largo de vellosidad/profundidad de cripta, F1 = factor 1, F2 = factor 2, EEM = Error estándar de la media.

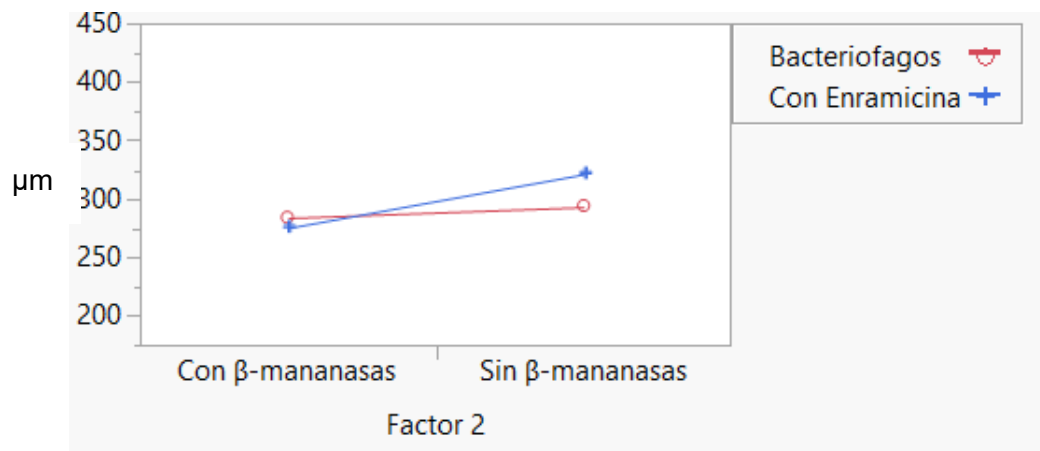


**Figura 13.** LV y PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 49 de edad.

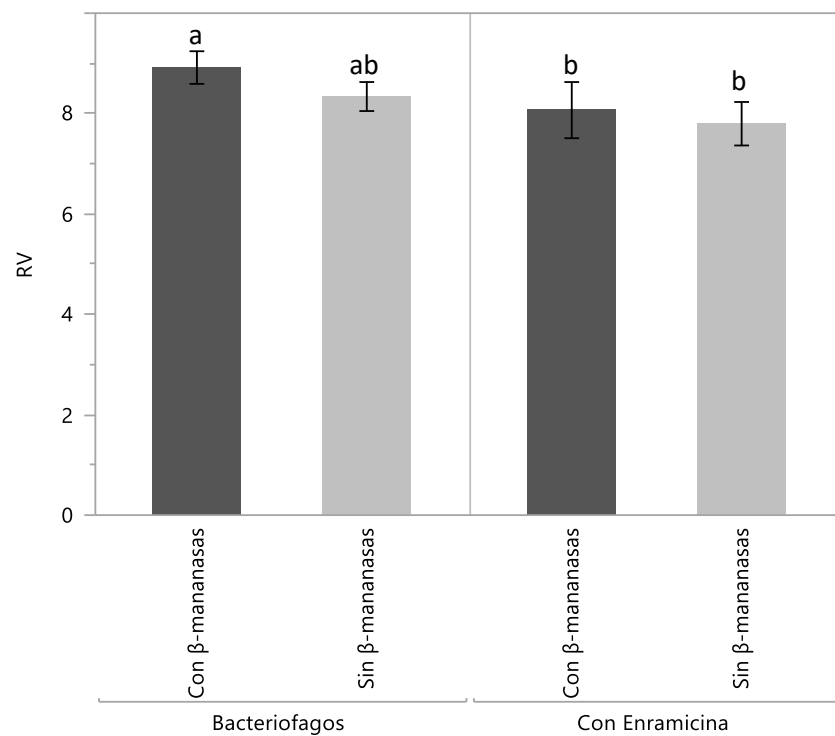


**Figura 14.** Interacción entre factores en la LV de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y β-mananasas al día 49 de edad.





**Figura 15.** Interacción entre factores en la PC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas al día 49 de edad.



**Figura 16.** RVC de pollos con dietas maíz-soya adicionadas con enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas al día 49 de edad.

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1- Parámetros productivos

La importancia de los parámetros productivos en la producción avícola, radica en que los precios de producción de carne de pollo se incrementan al obtener parámetros debajo de lo esperado. En el presente estudio, en dietas maíz-soya con enramicina o bacteriófagos, el uso de  $\beta$ -mananasa no influyó en los parámetros productivos medidos, lo cual puede deberse a múltiples causas. Esto concuerda parcialmente con un par de estudios (Kong, Lee y Adeola, 2011; Barros *et al.*, 2014), quienes reportan mejor ganancia de peso y consumo de alimento, en las primeras semanas, pero al final del ciclo el uso  $\beta$ -mananasa no mejoró la ganancia de peso, el consumo de alimento ni la conversión alimenticia de los pollos de engorda. Rehman *et al.* (2016) por otro lado, reportan mejor ganancia de peso, sin diferencias en consumo de alimento, y la conversión alimenticia, no se vio afectada en la etapa final del ciclo productivo.

Contrario a los estudios anteriores, otros (Zangiabadi y Torki, 2010; Ferreira *et al.*, 2016), no tuvieron diferencias significativas en las primeras semanas de los pollos, sino hasta después de las tres semanas y hasta terminar el ciclo; observaron mejores valores para ganancia de peso, incremento de consumo de alimento y conversión alimenticia. Concluyen que esto se debe a que el efecto de las  $\beta$ -mananasa no es muy observable en etapas tempranas debido a la inmadurez fisiológica de los animales, que evita se beneficien de la suplementación con enzimas o bien porque las aves se encuentran cerca de su potencial genético (Ferreira *et al.*, 2016).

Otro par de estudios con  $\beta$ -mananasa (Jovel y Ordoñez, 2015; Rogiewicz *et al.*, 2016), concuerdan con los resultados de este estudio, en los cuales no obtuvieron mejoras en los parámetros productivos. También, Jovel y Ordoñez (2015) reportaron que la conversión alimenticia solo mejoró entre la segunda y quinta

semana del ciclo y que la mortalidad no se vio afectada, esta última igual que el presente estudio. Cabe mencionar que estos trabajos no dicen la cantidad de enzima utilizada, para poder hacer una comparación más precisa. Rehman *et al.* (2016) evaluaron además rendimiento de la canal, con resultados similares a este estudio, mientras que Barros *et al.* (2014) si observaron beneficio con el uso de las  $\beta$ -mananasa. Mehri *et al.* (2010) reportan que la mortalidad no se vio afectada, como en este estudio.

Como posibles explicaciones de por qué el uso de  $\beta$ -mananasa no influyó en los parámetros productivos, está el contenido de energía metabolizable (EM) de las dietas, como es mencionado por Li *et al.* (2010), quienes reportan mejor conversión alimenticia y ganancia de peso, pero resaltan la importancia del contenido de energía metabolizable de las dietas, pues los resultados anteriores los obtuvieron en dietas bajas de energía (2827 kcal/kg EM y 2878 kcal/kg EM, iniciador y finalizador respectivamente) mientras que en este estudio, los niveles de energía fueron mayores (3010 y 3200 kcal/kg EM para iniciador y finalización respectivamente). Zuo *et al.* (2014) de igual manera obtienen mejores resultados cuando comparan el uso de la enzima con dietas bajas en energía.

Otra de las razones podría ser la cantidad de  $\beta$ -mananos presentes en la pasta de soya utilizada en las dietas, pues otros ingredientes han sido reportados de tener mayor cantidad de estos, al no haber suficiente cantidad de  $\beta$ -mananos, no hay energía extra disponible para beneficio de los pollos de engorda. También es importante conocer el ambiente y características en que se desarrollan otros estudios para poder compararse de mejor manera, pues varios estudios que se han mencionado trabajan en condiciones experimentales de ambiente controlado y jaulas, utilizando también varios de ellos dietas de baja energía metabolizable (2800-2900 kcal/kg EM).

Por otro lado, hay varios estudios que no concuerdan con lo obtenido en este trabajo (Zou, Qiao y Xu, 2006; Torki, 2011; Sastré, 2017; Hosseindoust *et al.*, 2018), quienes reportan mayores ganancias de peso y mejora en la conversión alimenticia, utilizando cantidades entre 250-750 ppm de  $\beta$ -mananasa. En

particular, el trabajo de Sastré (2017) quien incluyó 400 ppm de  $\beta$ -mananasas, resulta interesante, pues la cantidad de EM utilizada fue la misma que la del presente estudio, además de las condiciones en que se llevó a cabo el presente experimento. El estudio realizado por Torki (2011) quien también utilizó 400 ppm, obtuvo resultados mejores cuando en su dieta, además de pasta de soya, incluyó garbanzo como fuente de proteína.

El mecanismo de acción de las  $\beta$ -mananasas y las mejoras que se obtienen de su uso ha sido documentado, se ha demostrado que los mananos reducen la secreción de insulina y por lo tanto reducción en la absorción de glucosa, por lo que el uso de  $\beta$ -mananasas se piensa que mejora la secreción de insulina y la absorción de glucosa por medio de la hidrolización de los mananos (Zou, Qiao y Xu, 2006). La reducción en el tamaño de las partículas por acción de las  $\beta$ -mananasas permite mejorar la digestibilidad de los nutrientes como la materia seca, proteína y fibra cruda, lo que produce mayor energía metabolizable, mejores ganancias de peso se obtienen debido a al estímulo de las  $\beta$ -mananasas en el intestino, pues reduce la viscosidad intestinal, permitiendo mejor absorción de nutrientes.

El uso de las  $\beta$ -mananasas también ha sido reportado como benéfico contra desafíos de coccidias y *C. perfringens*, reduciendo severidad de lesiones y mejorando los parámetros productivos, esto por reducir la cantidad de  $\beta$ -mananos, los cuales exacerban la respuesta inmune, habiendo mayor producción de monocitos y macrófagos, lo que se traduce en mayor cantidad de citocinas (Jackson *et al.*, 2003).

El uso de las  $\beta$ -mananasas con otros productos se ha documentado, como con los MOS (que son el subproducto de la degradación de los  $\beta$ -mananos por las  $\beta$ -mananasas), pero no se obtienen resultados positivos, pues puede que haya antagonismo entre ambos productos, cuando son adicionados de manera conjunta (Barros *et al.*, 2014). En el presente trabajo se evaluó el efecto de las  $\beta$ -mananasas y su interacción con bacteriófagos, en cuanto a parámetros

productivos no se observó interacción alguna. No se encontró ningún trabajo que evalué dicha interacción.

Por otro lado, el uso de bacteriófagos o enramicina en este estudio, no mostró diferencias en los parámetros productivos medidos. A diferencia de la inclusión de  $\beta$ -mananasa en las dietas, el uso de bacteriófagos como aditivo está muy poco documentado, la mayor parte de los trabajos realizados están enfocados con fines terapéuticos por medio de desafíos con *Salmonella* y *Clostridium* por ejemplo. Un estudio realizado por Miller *et al.* (2010), concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en el que se utilizaron bacteriófagos contra *C. perfringens* como aditivo, incluyeron una dosis de  $2.5 \times 10^9$  UFC/mL en agua de bebida; no encontraron diferencias significativas en ganancia de peso ni mortalidad. En el mencionado estudio el uso de bacteriófagos fue significativo en parámetros productivos solo cuando se comparó con grupos desafiados contra *C. perfringens*, por lo que los autores recomiendan los bacteriófagos como tratamiento más que como aditivo. Cabe mencionar que la administración de los bacteriófagos no se hizo de forma continua en este estudio durante toda la vida de las aves. Otros estudios que utilizaron bacteriófagos como aditivos (Kim *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013), concuerdan con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en uno de ellos utilizaron bacteriófagos contra varias cepas de *Salmonella* y en el otro solo contra *Salmonella* Enteritidis; no encontraron diferencias significativas en la ganancia de peso ni consumo de alimento. Aunque uno de ellos menciona que se ve un efecto positivo en la primera semana de las aves al utilizarlos a una dosis de 500 ppm en alimento y no en la de 250 ppm, lo cual se atribuye en que, a edades tempranas del ave, esta está en mayor contacto con patógenos. Por lo que se recomienda utilizar cantidades más grandes de bacteriófagos y de forma continua, para obtener mejores parámetros productivos. En el estudio con una sola cepa bacteriana no encontraron diferencias significativas para ganancia de peso, consumo de alimento ni conversión alimenticia; cabe mencionar que realizaron también desafíos contra *Salmonella* Enteritidis, y en este caso se redujo la mortalidad.

Marietto-Gonçalves *et al.*, (2011) por otro lado, obtuvieron mejor ganancia de peso con el uso conjunto de probióticos de *Lactobacillus*, utilizando bacteriófagos en una concentración de  $3 \times 10^{10}$  UFC/mL, mayor que la utilizada en este estudio ( $1 \times 10^6$  UFC/g).

Como tratamiento para infecciones por *Salmonella* y *Clostridium* principalmente, está bien reportado que el uso de bacteriófagos ayuda en obtener mejores parámetros productivos y reducir la cantidad de bacterias, que cuando no se usa algún otro tratamiento; también en gallina de postura está reportado (Adhikari *et al.*, 2017) su eficiencia en lo anterior mencionado. Otro de estos estudios es el de Kim *et al.* (2014), quienes utilizaron un coctel de bacteriófagos contra varias cepas de *Salmonella* y *C. perfringens*, en una dosis de 0.5 g/kg con  $1 \times 10^8$  y  $1 \times 10^6$  UFC/g respectivamente. Reportan una mejora en la ganancia de peso y en la conversión alimenticia. Este beneficio lo atribuyen a la disminución de bacterias patógenas, blanco de los bacteriófagos específicos antes mencionados, además de hacer énfasis de que el uso de cocteles de bacteriófagos muestra mejores resultados que el uso de un solo tipo de bacteriófago.

## 4.2- Índice morfométrico de los órganos

La determinación del índice morfométrico de órganos linfoides constituye una herramienta útil en determinar la respuesta inmune del ave (Perozo *et al.*, 2004). También resulta ser útil como indicador de estrés en las aves, pues la atrofia y regresión de los órganos del sistema inmune son muestra de ello (Sandoval *et al.*, 2002).

En el presente trabajo el uso de  $\beta$ -mananasa no interfirió en el IM de los órganos evaluados, esto coincide con Rogiewicz *et al.* (2016) al no encontrar diferencias en el peso del bazo y la bolsa de Fabricio con el uso de la enzima y también con otros estudios (Li *et al.*, 2010; Barros *et al.*, 2014; El-Masry *et al.*, 2017) quienes no observaron diferencias en el tamaño del hígado, aunque Li *et al.* (2010) reportan que utilizando 2000 ppm en alimento de la enzima, obtuvieron un IM de hígado menor que utilizando dosis más bajas (1000 ppm). Mientras que Ferreira *et al.* (2016) muestran valores reducidos para el IM de bolsa de Fabricio, timo y bazo, del 11.8, 14.06 y 13.4% respectivamente, lo que atribuyen a que órganos linfoides activos y que funcionan adecuadamente utilizan la energía para producir moléculas del sistema inmune más que para el mantenimiento y crecimiento.

Se observó una interacción determinada por el análisis estadístico entre  $\beta$ -mananasa y enramicina, el efecto observado fue que al utilizar enramicina con  $\beta$ -mananasa se obtuvo mayor IM para timo que la dieta sin la enzima.

Los resultados para el factor  $\beta$ -mananasa no coinciden con lo señalado por El-Masry *et al.* (2017), que reportan un incremento en el IM de bolsa de Fabricio, timo y bazo al utilizar las enzimas. Similar a los trabajos de Zou, Qiao y Xu (2006), quienes obtuvieron mayor IM en bazo y bolsa de Fabricio con  $\beta$ -mananasa a las tres semanas de edad de las aves. En pollos de seis semanas de edad utilizando inclusiones de  $\beta$ -mananasa de 250, 500 y 750 ppm el IM del timo incrementó en un 22.6, 28.4 y 18.9% respectivamente. El mayor incrementó del IM de la bolsa de

Fabricio lo obtuvieron con una inclusión de 750 ppm. Así también como Sastré (2017), quien reporta mayor IM para bazo y bolsa de Fabricio, con una inclusión de 400 ppm.

El tamaño de los órganos linfoides está relacionado con características genéticas y desafíos ambientales, un mayor tamaño puede estar relacionado con una mayor producción de IgY. El incremento del IM de los órganos linfoides se atribuye al incremento de la proliferación de linfocitos T, reducción de la estimulación del sistema inmune innato, incremento de los anticuerpos maternos y mejor absorción de nutrientes por la degradación de los  $\beta$ -mananos y la consecuente liberación de MOS, el cual funciona como inmunomodulador.

En cambio, en este estudio, el uso de bacteriófagos incrementó el IM del hígado y del timo en un 5.97 y 18.19% respectivamente, concordando parcialmente con lo reportado por Wang *et al.* (2013), quienes obtuvieron mayor IM del hígado con el uso de bacteriófagos dirigidos a cepas de *Salmonella*, mientras que en el IM de los órganos linfoides no obtuvieron diferencias, igual que en este estudio a excepción del timo. En dicho estudio mencionan que el mecanismo que explique un hígado de mayor tamaño no es claro, que debe relacionarse quizá con sus funciones de metabolismo e inmunidad que lleva a cabo. Por otro lado, el estudio de Kim *et al.* (2013) no coincide con los resultados obtenidos, no observaron incremento en el IM del hígado ni del bazo. Una manera en que el uso de bacteriófagos pudiera incrementar el IM de los órganos podría ser de manera similar a como las  $\beta$ -mananasas lo hacen, estos funcionan como inmunomoduladores. A diferencia de reportes con el uso de  $\beta$ -mananasas, hay muy pocos donde utilizan bacteriófagos y menos aún que hablen sobre su papel en los órganos linfoides.



### 4.3- Coloración

El catalogar un alimento como seguro, de buenas características estéticas y sensoriales, está directamente relacionado con su color. La diferenciación del producto, así como la relación del color con la salud del pollo, definitivamente constituye una ventaja comercial que se traduce en mejor precio y preferencia por los pollos mejor pigmentados (Martínez *et al.*, 2004).

Los resultados de este trabajo experimental no mostraron diferencias en la coloración amarilla de la canal cuando se utilizaron las  $\beta$ -mananasa con la enramicina o bacteriófagos, ni se observó interacción alguna, solamente hubo una pequeña mejora con los bacteriófagos, pero sin tener relevancia estadística. Son contados los trabajos que reportan la coloración de las aves con el uso de  $\beta$ -mananasa, dado que esta es una característica que solo se toma en cuenta en algunos lugares donde el pigmento es importante para el mercado; caso parecido con el uso de bacteriófagos, que además de ser pocos los estudios que evalúan su uso como aditivo, solo se encontró un estudio (Wang *et al.*, 2013), quienes concuerdan con los resultados de no observar diferencias en la coloración de los pollos; dado los pocos resultados reportados, el presente estudio resulta de gran valor.

Uno de los trabajos experimentales que evaluó coloración con el uso de  $\beta$ -mananasa es el llevado a cabo por Farran, Shaib y Ramadan (2018), quienes utilizaron aves reproductoras de la estirpe Ross 308, obtuvieron mejor coloración en las yemas de huevo, mencionando que la enzima de alguna manera mejora la absorción intestinal del pigmento. En otro estudio (Gomez *et al.*, 2009) utilizan MOS proveniente de *Saccharomyces cerevisiae*, y concuerdan al no obtener diferencias significativas en la coloración al final del ciclo.

No obtener diferencias en coloración con el uso de los productos utilizados puede deberse a que estos no están dirigidos a mejorar la coloración *per se*, aunque si a la salud intestinal; más estudios evaluando la coloración podrían responder sobre

el papel que tienen las  $\beta$ -mananasas y los bacteriófagos con la absorción de pigmentos.

#### **4.4- Hemograma**

El hemograma es una de las pruebas que más se solicitan e información muestran sobre el estado homeostático de los animales y que sirve como parte del estudio básico requerido para la orientación diagnóstica. En cuanto al pollo de engorda la relación heterófilo/linfocito (H/L) ha sido considerada por varios autores como una de las variables de mayor valor predictivo del estrés, la cual solo es útil en su forma aguda. En la fase inicial del estrés de las aves, se observa heterofilia y linfopenia, seguida después por heteropenia y linfocitosis (Sandoval *et al.*, 2002).

Los valores del hemograma y de la relación H/L a los 21 y 49 días de edad no mostraron evidencia significativa de que el uso de  $\beta$ -mananasas con enramicina o bacteriófagos interfirieran en estos, aunque al día 21 de edad se observó una tendencia en el incremento de los linfocitos con el uso de las  $\beta$ -mananasas. De forma contraria, algunas investigaciones (Mehri *et al.*, 2010; Zangiabadi y Torki, 2010; Sastré, 2017) encontraron diferencias con el uso de  $\beta$ -mananasas, observando linfocitosis y heteropenia, lo que se traduce en una menor relación H/L. Estos resultados son explicados por el papel de los MOS en el sistema inmune como inmunomodulador, como se mencionó en el análisis de resultados del IM de los órganos.

En cuanto al uso de bacteriófagos Wang *et al.* (2013) coinciden con los resultados obtenidos, en los que no encontraron resultados significativos en los analitos que evaluaron del hemograma.

#### 4.5- Estudios inmunológicos

El uso de  $\beta$ -mananases con enramicina o bacteriófagos, no afectó los títulos de anticuerpos contra el virus de la ENC, ni mostraron interacción entre ellos, a los 21, 35 y 49 días de edad de los pollos. No se encontraron estudios que midieran estos parámetros inmunológicos con el uso de bacteriófagos, mientras que de  $\beta$ -mananases se encontraron varios, que a continuación se detallan.

Zangiabadi y Torki (2010) no coinciden con estos resultados, evaluaron los títulos de anticuerpos contra el virus de la ENC con el uso de  $\beta$ -mananases, los cuales fueron mayores en los pollos suplementados con la enzima a los 14 y 10 días postvacunación (dos vacunaciones) y hasta los 28 y 38 días edad. De igual forma Sastré (2017) reporta mayor título de anticuerpos contra el virus de la ENC en pollos de 21 días, vacunados al día 10 de edad. Por otro lado, el estudio de Farran, Shaib y Ramadan (2018) coincide parcialmente, aunque utilizaron aves reproductoras, obtuvieron valores sin diferencias en anticuerpos contra el virus de la ENC por seis meses, y en los último dos meses de su prueba, de un total de 8, los títulos aumentaron significativamente. Mientras que el presente trabajo concuerda con lo observado por Torki (2011) quienes no notaron diferencias en los títulos de anticuerpos contra el virus de la ENC con el uso de la enzima.

También hay reportes del uso de MOS y su efecto en los títulos de anticuerpos contra el virus de la ENC, como los de Shafey *et al.* (2001) y Gomez *et al.* (2009), en el primero no observaron resultados significativos en los títulos de anticuerpos y en el segundo observaron mayores títulos de anticuerpos a los 17 y 24 días de edad de los pollos, vacunados a los 10 días de edad, utilizando MOS derivado de una levadura.

Aves con un buen estado inmunitario, tienen la habilidad de resistir a patógenos y mostrar mejores respuestas a los programas de vacunación. Los MOS resultado de la acción de las  $\beta$ -mananases incrementan el potencial inmunológico de los pollos, promoviendo la activación de macrófagos e incrementando los títulos de

anticuerpos vacunales contra varias enfermedades. También estos muestran un fuerte efecto inhibitorio contra las bacterias fimbrias tipo 1 y aumenta la proliferación de bacterias beneficiosas (Chacher *et al.*, 2017). Además, el estudio de los MOS ha determinado que como inmunoestimulantes, aumentan significativamente el nivel de anticuerpos maternos en pollos de engorda, por medio de la estimulación de tejido linfoide asociado al intestino (GALT), que reconoce los MOS como PAMP (Shashidhara y Devegowda, 2003).

La concentración de IgA intestinal no fue afectada por el uso de bacteriófagos ni se observó interacción entre productos. Mientras que el uso de  $\beta$ -mananasas resultó en concentraciones de IgA mayores a los 35 días de edad de las aves. No se encontraron estudios que evaluaran concentraciones séricas ni intestinales utilizando bacteriófagos. Las concentraciones de IgA intestinal concuerdan con lo mostrado por un par de estudios (Gomez *et al.*, 2009; Sastré, 2017), donde observaron mayor concentración de IgA intestinal a los 21 días de edad, con el uso de MOS y  $\beta$ -mananasas. Rogiewicz *et al.* (2016) sin embargo, no observaron diferencias en las concentraciones de IgA, IgY e IgM sérica ni intestinal utilizando la enzima.

Otros estudios han cuantificado anticuerpos séricos con el uso de  $\beta$ -mananasas, como el de Zou, Qiao y Xu (2006), en donde no encontraron diferencias en la cantidad de IgA e IgY séricos, no así con la concentración de IgM, que fue mayor; Ferreira *et al.* (2016) reportan reducción en la concentración de IgA sérica y de IgM e IgY en un 33.54, 39.54 y 36.46% respectivamente. Explicando que esto es debido a menor efecto estimulador de los mananos por las  $\beta$ -mananasas, reduciendo así los niveles de inmunoglobulinas séricas, y Li *et al.* (2010) encontraron reducción en la concentración de IgY sérica en pollos de tres semanas utilizando 2000 ppm de  $\beta$ -mananasas y de IgM sérica usando 1000 ppm en alimento, comparando con su dieta control baja en energía. No observaron diferencias en la concentración de IgA sérica.

El incremento de IgA secretora en el presente trabajo se puede explicar por la unión de los receptores de manosa con los MOS, que son un producto de la acción de las  $\beta$ -mananasas sobre los  $\beta$ -mananos, los cuales actúan uniéndose con una colectina, funcionando así como agente opsonizante, además del incremento de la producción de anticuerpos anti-mananos dirigidos a los epítopes de oligosacáridos de los microorganismos patógenos, los cuáles podrían ingresar al torrente sanguíneo y estimular la respuesta inmune sistémica (Sastré, 2017).

Aunque no se hayan encontrado estudios que evaluaran el efecto de los bacteriófagos en los títulos de anticuerpos vacunales o concentraciones intestinales de inmunoglobulinas en pollo de engorda, la interacción de estos con el sistema inmune del huésped está documentándose, pues se busca su uso también como terapéutico en humanos. Los bacteriófagos por si mismos son inmunogénicos, pueden activar la respuesta inmune adaptativa, se ha observado que los bacteriófagos con la ayuda del sistema inmune del huésped trabajan en conjunto con receptores de reconocimiento de patógenos para eliminar amenazas. Estos estimulan las células B por medio de sus proteínas, que establecen un reconocimiento específico vía BCR, por ligandos para la activación de TLR coestimuladores en las células B (por ejemplo, ácidos nucleicos), como el ARN derivado de los bacteriófagos y por medio de la activación mediada por células presentadoras de antígeno de células T cooperadoras. El reconocimiento inmunitario de los bacteriófagos a través de PRR también contribuye, principalmente a la resolución de las infecciones al reclutar una respuesta celular en el sitio problema (Górski *et al.*, 2012; Krut y Bekeredjian-Ding, 2018).

#### 4.6- Estudio histológico

Se ha determinado que el estudio de la morfología microscópica del intestino delgado y el cálculo de la RVC es una herramienta útil para deducir la capacidad digestiva (Paiva, Walk y McElroy, 2014). La morfología intestinal es un indicativo de salud intestinal, por lo que vellosidades más cortas y criptas más profundas no son deseadas. El incremento en la LV y una disminución de la PC incrementan la superficie de absorción. El incremento de la RVC es un indicador de que el recambio celular disminuye, lo que resulta en menores requerimientos de mantenimiento y mayor energía disponible para mejorar los parámetros productivos (Zuo *et al.*, 2014). Sin embargo, Karimi y Zhandi (2015) mencionan que una mayor PC, que indica mayor recambio celular, significa una proliferación normal, aunque también puede significar una inusual demanda o regeneración de tejidos.

No se encontraron estudios que evaluaran ambos productos en conjunto. Los pocos estudios que hay sobre bacteriófagos en pollo de engorda, ya sea como aditivo o pruebas contra desafíos bacterianos, no presentan información relacionada a la morfología intestinal. Sin embargo, se ha documentado su efecto en cerdos, dos estudios realizados (Hosseindoust *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2017) evaluaron la morfología intestinal utilizando 1000 ppm y 1500 ppm respectivamente de bacteriófagos como aditivo, ambos reportes utilizaron el mismo producto que contenía  $1 \times 10^9$  UFC/g de bacteriófagos contra varias cepas de *Salmonella*, *E.Coli*, *Streptococcus aureus* y *Clostridium perfringens* tipo A y C. En ambos casos reportan mayor LV en duodeno y yeyuno, pero no encontraron diferencias en PC ni RVC. En este estudio el uso de bacteriófagos mejoró la LV de duodeno en todos los muestreos realizados, así como la RVC en los días 21 y 49 de edad de los pollos. Se puede decir entonces que los bacteriófagos impactan en la salud intestinal de los pollos de engorda al mejorar la morfología del intestino. Esto puede explicarse debido a que los bacteriófagos disminuyen la cantidad de

bacterias patógenas en el lumen intestinal, favoreciendo una menor tasa de renovación celular y así vellosidades de mayor tamaño, que se traduce en mejores valores de RVC.

En el presente estudio se observaron varias interacciones entre factores a los 21 días de edad en LV y PC, PC y RVC a los 35 días y en LV y PC al día 49 de edad.

En la evaluación de la morfología intestinal del duodeno al día 21 de edad, el uso de bacteriófagos sin  $\beta$ -mananasas mostró una LV mayor que cuando se agregaron las enzimas, aunque el valor de PC fue mayor y la RVC se mantuvo entre las mayores de los cuatro tratamientos, solo debajo numéricamente del tratamiento 4 que contenía bacteriófagos y la enzima. En cuanto a la PC, se observaron criptas menos profundas en dietas con enramicina y bacteriófagos cuando se agregaron  $\beta$ -mananasas en los tratamientos 2 y 4. En RVC no se encontró interacción. Aunque los bacteriófagos resultaron con LV mejores al trabajar sin las  $\beta$ -mananasas, las  $\beta$ -mananasas mejoraron la PC con valores más bajos, por lo que la RVC de los tratamientos 3 y 4 obtuvieron los mejores resultados. La incorporación de  $\beta$ -mananasas y consecuente degradación de mananos ayuda a la liberación de nutrientes, lo que aumenta la altura de las vellosidades en el duodeno y el yeyuno, por lo tanto, un aumento en el área de la superficie, mayor absorción y una disminución de la viscosidad intestinal (Chauhan *et al.*, 2012). La viscosidad en el intestino, está asociada al desprendimiento celular epitelial, mayor intercambio celular (criptas más profundas) y disminución de la LV (Montagne, Pluske y Hampson, 2003).

Individualmente, los bacteriófagos incrementaron la LV y RVC, mientras que las  $\beta$ -mananasas mejoraron la PC, pero no la LV, obteniendo valores inferiores. Vellosidades más largas y criptas menos profundas con menor velocidad de recambio propician una mejor producción enzimática y maduración de las células intestinales. Las mejoras en morfología intestinal están muy asociadas con cambios en la dieta y modificación del microbioma intestinal. Las bacterias benéficas estimulan el desarrollo de un ambiente sano, lo que resulta en un

incremento en la LV a través de exclusión competitiva (Chacher *et al.*, 2017). Los resultados coinciden parcialmente con el estudio de Zuo *et al.* (2014), obtuvieron mayor LV en duodeno, yeyuno e íleon, utilizando 300 ppm de  $\beta$ -mananasa, en comparación con dietas bajas en energía (2778 kcal EM/kg), siendo iguales comparando con dietas de 2897 kcal EM/kg. PC menores en todo el intestino delgado con 450 ppm en comparación con la dieta baja en energía y en duodeno y yeyuno incluyendo 150 y 300 ppm de la enzima, aunque no hubo diferencias en la PC entre ambas dosis. La RVC de duodeno y yeyuno incrementó con dosis de 150, 300 o 450 ppm de  $\beta$ -mananasa comparando con la dieta baja en energía, siendo igual estadísticamente entre sí la RVC de las tres dosis utilizadas. Mientras que la RVC del íleon fue mayor utilizando 300 y 450 ppm, con un valor mayor cuando se utilizó 300 ppm de la enzima. Otro estudio realizado por Karimi y Zhandi (2015) observaron que en pollos de 21 días de edad y 1000 ppm de  $\beta$ -mananasa, el doble del presente estudio, aumentaron la PC y LV de duodeno. En yeyuno por otro lado observaron menor PC, sin cambios en la LV y en íleon mayor LV y PC. Mientras que el llevado a cabo por Sastré (2017) evaluó la LV, PC y RVC de duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 días de edad. No observó diferencias con el uso de las  $\beta$ -mananasa. Reporta que con el uso de una superdosis de fitasas y  $\beta$ -mananasa (400 ppm) se obtuvieron LV y RVC mayores, así como PC menor.

En la evaluación histológica del duodeno de pollos de 35 días de edad, se encontró que la PC mejora cuando se agregan  $\beta$ -mananasa en dietas con enramicina, resultando el tratamiento 2 con los mejores valores para RVC, aunque solo el tratamiento 1 fue estadísticamente menor. Por otro lado, la RVC muestra un resultado similar, pues la misma interacción que en PC se observó. En LV no hubo interacción entre factores. Los tratamientos 2, 3 y 4 obtuvieron valores mayores para RVC, solo el tratamiento 1 sin ninguno de los productos evaluados fue el que peor RVC mostró. Por lo que puede decirse que el uso de los productos muestra una mejora en la morfología intestinal de los pollos de engorda.



Por si solo el factor  $\beta$ -mananasas elevó la RVC y disminuyó la PC, mientras que los bacteriófagos incrementaron la LV. El-Masry *et al.* (2017) mencionan resultados similares, en pollos de 35 días de edad y con 300 ppm de  $\beta$ -mananasas reportan mayor LV y RVC, sin diferencias en la PC. Por otro lado Hosseindoust *et al.* (2018) obtuvieron un incremento en la LV de yeyuno, duodeno e íleon. Sin embargo, la PC y RVC no fue afectada por el uso de la enzima.

La evaluación histológica del duodeno de los pollos de 49 días de edad mostró que el uso de bacteriófagos en conjunto con  $\beta$ -mananasas mejoran la LV, el tratamiento 4 que contiene ambos fue el mejor de todos en cuanto a mejoramiento de la morfología intestinal, aunque tiene valores mayores de RVC, fue igual estadísticamente al tratamiento 3 que solo contiene bacteriófagos. La PC se vio influenciada por el uso de  $\beta$ -mananasas en la dieta que contenía enramicina, al agregar la enzima se observó un valor menor de PC. La proliferación continua y migración de los enterocitos desde la cripta a las vellosidades es el funcionamiento normal del intestino, sin embargo, este proceso se acelera con la presencia de infecciones o toxinas de bacterias patógenas. Entonces, una menor migración de enterocitos o renovación celular de la cripta incrementan la longitud de las vellosidades (Chacher *et al.*, 2017). Por otro lado, hay estudios que documentan el impacto benéfico de los MOS en la morfología intestinal, importantes aquí porque resultan de la acción de las  $\beta$ -mananasas sobre los  $\beta$ -mananos. Los MOS son utilizados por la microbiota normal y en la saturación de receptores de manosa que evita la unión de patógenos, además incrementan la fermentación del alimento en la parte distal del intestino, lo que resulta en una producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), producidos por géneros bacterianos como *Bifidobacterium sp.* y *Enterobacter sp.*; estos AGCC están involucrados en la proliferación celular de la mucosa intestinal. También se reduce el pH del microentorno de las células epiteliales, bloqueando la adhesión de patógenos, una menor cantidad de patógenos provoca una menor tasa de recambio celular y así criptas poco profundas. Los AGCC entonces tienen un

efecto trófico en las vellosidades, estos incrementan la producción del péptido similar al glucagón del plasma (GLP-2 por sus siglas en inglés), y del mRNA proglucagón que aumenta la expresión del transportador de glucosa (GLUT2) y la expresión de proteínas, lo que en conjunto incrementa la RVC por aumento de la digestibilidad proteica (Iji, Saki y Tivey, 2001; Montagne, Pluske y Hampson, 2003; Lan *et al.*, 2005; Halas y Nochta, 2012; Chacher *et al.*, 2017).

La inclusión de bacteriófagos incrementó la LV y el valor de RVC, mientras que las  $\beta$ -mananasa redujeron la PC e incrementaron de igual manera la RVC en pollos de 49 días, lo que se contraría con lo mencionado por Mehri *et al.* (2010), quienes reportan mayor LV, PC y menor RVC en duodeno, utilizando 700 ppm de  $\beta$ -mananasa en pollos de 42 días de edad. La LV, PC, RVC utilizando dosis de 0-500 ppm de la enzima, no mostró diferencias en todo el intestino delgado. Además, observaron mayor PC en íleon con la misma dosis. Cuando utilizaron una dosis más alta (900 ppm) la LV y PC del duodeno incrementaron comparando con las dosis de 0-500 ppm y la RVC por el contrario disminuyó. En yeyuno la LV incremento aún más que usando 700 ppm, la PC fue igual que con 700 ppm y la RVC fue la menor de todas las dosis utilizadas. En íleon la PC y RVC fue similar usando 700 que 500 ppm.

La evaluación de  $\beta$ -mananasa en morfología intestinal se ha documentado en otras especies de aves con resultados no tan prometedores. Park, Jung y Carey (2018) reportaron su uso en patos, observaron diferencias solamente en íleon, PC y LV mayores, mientras que en yeyuno no observaron diferencias. La dosis de la enzima que recomiendan con la que obtuvieron los mejores valores es de 1000 ppm de alimento, el doble del utilizado en este estudio.

Resulta inquietante notar que la morfología intestinal fue mejorada, así como la concentración de IgA intestinal con el uso de las  $\beta$ -mananasa, pero en los parámetros productivos no hubo diferencias significativas que reflejaran lo obtenido. Debe tenerse en cuenta que no se incluyó un control negativo, un tratamiento control sin ninguno de los dos productos evaluados. Es importante

correlacionar resultados con los parámetros productivos, por ejemplo, una mayor LV no necesariamente significa una mejor eficiencia en absorción intestinal, ya que el aumento en el LV puede resultar como un mecanismo adaptativo del organismo para intentar obtener mayor cantidad de nutrientes a falta de estos, resultando en un gasto extra energético (Sastré, 2017).

## 5. CONCLUSIONES

Se puede concluir de acuerdo con lo obtenido en el presente estudio que:

- 1) Los bacteriófagos son una alternativa al APC enramicina en dietas maíz-soya para pollos de engorda, sin afectar los parámetros productivos a los 49 días de edad ni la pigmentación amarilla de la piel.
- 2) Las  $\beta$ -mananasas mejoran la respuesta inmune en dietas con enramicina y bacteriófagos y el uso de enramicina o bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas en dietas maíz-soya, no afectó los analitos del hemograma.
- 3) Finalmente, el uso conjunto de bacteriófagos y  $\beta$ -mananasas mejoró la morfología intestinal del duodeno y por lo tanto la salud intestinal de los pollos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Adhikari, P. A. *et al.* (2017) “Effect of dietary bacteriophage supplementation on internal organs, fecal excretion, and ileal immune response in laying hens challenged by Salmonella Enteritidis”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 96(9), pp. 3264–3271. doi: 10.3382/ps/pex109.
2. Adil, S. y Magray, S. N. (2012) “Impact and Manipulation of Gut Microflora in Poultry: A Review”, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(6), pp. 873–877. doi: 10.3923/javaa.2012.873.877.
3. Andreatti, F. R. L. *et al.* (2007) “Ability of Bacteriophages Isolated from Different Sources to Reduce Salmonella enterica Serovar Enteritidis In Vitro and In Vivo”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 86(9), pp. 1904–1909. doi: 10.1093/ps/86.9.1904.
4. Ardonio, S. M. *et al.* (2017) “Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo”, *Ciencia Veterinaria*, 19(1), pp. 50–66. Disponible en: <https://getpocket.com/redirect?url=https%3A%2F%2Fcerac.unlpam.edu.ar%2Findex.php%2Fveterinaria%2Farticle%2Fdownload%2F2733%2F2626.&formCheck=ad896938ed40b005048cc72212454171>.
5. Arsenault, R. J. *et al.* (2017) “Changes in immune and metabolic gut response in broilers fed  $\beta$ -mannanase in  $\beta$ -mannan-containing diets”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 96(12), pp. 4307–4316. doi: 10.3382/ps/pex246.
6. Barceló, D. (2007) “Pharmaceutical-residue analysis”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier, 26(6), pp. 454–455. doi: 10.1016/J.TRAC.2007.02.008.
7. Bardina, C. *et al.* (2012) “Significance of the Bacteriophage Treatment Schedule in Reducing Salmonella Colonization of Poultry”, *Applied and*

- Environmental Microbiology*, 78(18), pp. 6600–6607. doi: 10.1128/AEM.01257-12.
8. Barros, V. R. S. M. *et al.* (2014) “ $\beta$ -mannanase and mannan oligosaccharides in broiler chicken feed”, *Ciência Rural*. Universidade Federal de Santa Maria, 45(1), pp. 111–117. doi: 10.1590/0103-8478cr20131544.
  9. Borie, C. *et al.* (2008) “Bacteriophage Treatment Reduces Salmonella Colonization of Infected Chickens”, *Avian Diseases*, 52(1), pp. 64–67. doi: 10.1637/8091-082007-Reg.
  10. BRENDA (2018) Information on EC 3.2.1.78 - mannan endo-1,4-beta-mannosidase. Disponible en: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.2.1.78#> (Consultado: el 16 de octubre de 2018).
  11. Brewer, M. S. y Rojas, M. (2008) “Consumer attitudes toward issues in food safety”, *Food Safety*, 28(1), pp. 1–22. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2007.00091.x>.
  12. Cepero, B. R. (2006) Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la Unión Europea: causas y consecuencias. Disponible en: [http://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/wpsa1142587453a.pdf](http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1142587453a.pdf) (Consultado: el 11 de octubre de 2018).
  13. Cervantes, H. M. (2015) “Antibiotic-free poultry production: Is it sustainable?”, *The Journal of Applied Poultry Research*. Oxford University Press, 24(1), pp. 91–97. doi: 10.3382/japr/pfv006.
  14. Chacher, M. F. A. *et al.* (2017) “Use of mannan oligosaccharide in broiler diets: an overview of underlying mechanisms”, *World’s Poultry Science Journal*. Cambridge University Press on behalf of World’s Poultry Science Association, 73(04), pp. 831–844. doi: 10.1017/S0043933917000757.
  15. Chauhan, P. S. *et al.* (2012) “Mannanases: microbial sources, production, properties and potential biotechnological applications”, *Appl Microbiol*

*Biotechnol*, 93, pp. 1817–1830. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22314515>.

16. Chen, J. *et al.* (2015) “Identification of Potential Biomarkers for Gut Barrier Failure in Broiler Chickens”, *Frontiers in Veterinary Science*. Frontiers, 2, p. 14. doi: 10.3389/fvets.2015.00014.
17. Cheng, L. *et al.* (2016) “Purification and Characterization of a Thermostable  $\beta$ -Mannanase from *Bacillus subtilis* BE-91: Potential Application in Inflammatory Diseases”, *BioMed Research International*. Hindawi, 2016, pp. 1–7. doi: 10.1155/2016/6380147.
18. Cho, J. H. y Kim, I. H. (2013) “Effects of beta-mannanase supplementation in combination with low and high energy dense diets for growing and finishing broilers”, *Livestock Science*. Elsevier, 154(1–3), pp. 137–143. doi: 10.1016/J.LIVSCI.2013.03.004.
19. Choct, M. (2009) “Managing gut health through nutrition”, *British Poultry Science*. Taylor & Francis Group , 50(1), pp. 9–15. doi: 10.1080/00071660802538632.
20. Chotinsky, D. (2015) “The use of enzymes to improve utilization of nutrient in poultry diets”, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(2), pp. 429–435. Disponible en:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/515e/193d417f0b42489306bba04192946b7f9e96.pdf>.
21. Daniel, W. W. (2010) *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4°. México: Limusa Wiley.
22. Daskiran, M. *et al.* (2004) “An Evaluation of Endo- $\beta$ -D-mannanase (Hemicell) Effects on Broiler Performance and Energy Use in Diets Varying in  $\beta$ -Mannan Content”, *Poultry Science*, 83, pp. 662–668. Disponible en:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/58be/3704c366a12f923e74e5185696369a740413.pdf> (Consultado: el 15 de octubre de 2018).
23. Díaz, S. S. y Hanning, I. (2015) “Antibiotic use in poultry ; A driving force for organic poultry production Antibiotic Use in Poultry: A Driving Force for

- Organic Poultry Production”, *Food protection trends*, 35(6), pp. 440–447.
24. Didierlaurent, A., Simonet, M. y Sirard, J. C. (2005) “Innate and acquired plasticity of the intestinal immune system.”, *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. Inserm, 62(12), pp. 1285–7. doi: 10.1007/s00018-005-5032-4.
  25. Ducatelle, R. *et al.* (2018) “Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives”, *Veterinary Research*, 49, p. 43. doi: 10.1186/s13567-018-0538-6.
  26. Duncan, C. J. G. *et al.* (2002) “Isolation of a galactomannan that enhances macrophage activation from the edible fungus *Morchella esculenta*.”, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(20), pp. 5683–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12236698> (Consultado: el 15 de octubre de 2018).
  27. El-Masry, K. N. *et al.* (2017) “Effect of Dietary Inclusion of Guar Meal with or without  $\beta$ -mannanase Supplementation on Broiler Performance and Immunity”, *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(5), pp. 341–350. doi: 10.3923/pjn.2017.341.350.
  28. Elizarraraz, V. R. (1999) Efecto de la suplementación de enzimas en la dieta para pollo de engorda sobre los parámetros productivos. Universidad de Colima. Disponible en: [http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Rogelio Elizarraraz Vargas.pdf](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rogelio Elizarraraz Vargas.pdf).
  29. Engberg, R. M. *et al.* (2000) “Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 79(9), pp. 1311–1319. doi: 10.1093/ps/79.9.1311.
  30. Estévez, R. M. y Cutuli de Simón, M. T. (2011) Alternativas en promoción del crecimiento tras la prohibición de los antibióticos I modificadores metabólicos y modificadores inmunológicos, *Información Veterinaria*, ISSN 1130-5436, N°. 4 (ABR), 2011, págs. 18-23. Consejo General de Colegios Veterinarios de España. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4613643> (Consultado: el



18 de septiembre de 2018).

31. Farran, M. T., Shaib, H. A. y Ramadan, N. M. (2018) "Dietary Hemicell® Improved Reproductive Performance of Broiler Breeders under Commercial Settings", *Poultry, Fisheries & Wildlife Sciences*, 06(01). doi: 10.4172/2375-446X.1000189.
32. Ferreira, H. C. *et al.* (2016) "Effect of the addition of  $\beta$ -mannanase on the performance, metabolizable energy, amino acid digestibility coefficients, and immune functions of broilers fed different nutritional levels", *Poultry Science*, 95(8), pp. 1848–1857. doi: 10.3382/ps/pew076.
33. Fiorentin, L., Vieira, N. y Barioni Júnior, W. (2005) "Use of lytic bacteriophages to reduce *Salmonella* Enteritidis in experimentally contaminated chicken cuts", *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 7(4), pp. 255–260. doi: 10.1590/S1516-635X2005000400010.
34. Fiorentin, L., Vieira, N. D. y Barioni Jr, W. (2005) "Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers", *Avian Pathology*, 34(3), pp. 258–263. doi: 10.1080/01445340500112157.
35. Gharaei, M. A. *et al.* (2012) Effects of Guar meal with and without-mannanas enzyme on performance and immune response of broiler chicks, *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. Disponible en: [www.irjabs.com](http://www.irjabs.com) (Consultado: el 17 de septiembre de 2018).
36. Gomez, V. G. *et al.* (2009) "Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria spp*", *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), p. 11. doi: 10.1186/1751-0147-51-11.
37. Gonzáles, S. *et al.* (2013) "Efecto de la suplementación de ácidos orgánicos sobre los parámetros productivos en pollos de engorde", *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(1), pp. 32–37. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-)

91172013000100004 (Consultado: el 11 de octubre de 2018).

38. Górski, A. *et al.* (2012) “Phage as a Modulator of Immune Responses”, en *Advances in Virus Research, Bacteriophages, Part B*. 1a ed. Academic Presss, pp. 41–71. doi: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00002-5.
39. Halas, V. y Nochta, I. (2012) “Mannan Oligosaccharides in Nursery Pig Nutrition and Their Potential Mode of Action”, *Animals*, 2(2), pp. 261–274. doi: 10.3390/ani2020261.
40. Hosseindoust, A. *et al.* (2018) “A dose–response study to evaluate the effects of pH-stable  $\beta$ -mannanase derived from *Trichoderma citrinoviride* on growth performance, nutrient retention, and intestine morphology in broiler chickens”, *Italian Journal of Animal Science*. doi: 10.1080/1828051X.2018.1500872.
41. Hosseindoust, A. R. *et al.* (2017) “Dietary bacteriophages as an alternative for zinc oxide or organic acids to control diarrhoea and improve the performance of weanling piglets”, *Veterinarni Medicina*, 62(02), pp. 53–61. doi: 10.17221/7/2016-VETMED.
42. Hsiao, H.-Y., Anderson, D. M. y Dale, N. M. (2006) “Levels of B-Mannan in Soybean Meal”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 85(8), pp. 1430–1432. doi: 10.1093/ps/85.8.1430.
43. Huff, W. E. *et al.* (2010) “Immune interference of bacteriophage efficacy when treating colibacillosis in poultry”, *Poultry Science*, 89(5), pp. 895–900. doi: 10.3382/ps.2009-00528.
44. Hungaro, H. M. *et al.* (2013) “Use of bacteriophages to reduce Salmonella in chicken skin in comparison with chemical agents”, *Food Research International*. Elsevier, 52(1), pp. 75–81. doi: 10.1016/J.FOODRES.2013.02.032.
45. Iji, P. A., Saki, A. A. y Tivey, D. R. (2001) “Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. John Wiley & Sons, Ltd, 81(12), pp. 1186–1192. doi: 10.1002/jsfa.925.

46. INEGI (2016) Cuaderno estadístico delegacional, Tláhuac, Ciudad de México. CDMX: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
47. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. (1992) Enzyme nomenclature: recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the nomenclature and classification of enzymes, Academic press. Disponible en: <http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/nomenclature/> (Consultado: el 16 de octubre de 2018).
48. Jackson, M. E. *et al.* (2003) “Beneficial Effect of  $\beta$ -Mannanase Feed Enzyme on Performance of Chicks Challenged with *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens*”, *Avian Diseases*, 47(3), pp. 759–763. doi: 10.1637/7024.
49. Joerger, R. D. (2003) “Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages”, *Poultry Science*, 82, pp. 640–647. Disponible en: <http://nonrumpasca.lecture.ub.ac.id/files/2011/12/alternatif-antibiotics.pdf> (Consultado: el 17 de octubre de 2018).
50. Jovel, L. J. R. y Ordoñez, L. M. E. (2015) *Efecto de la adición de Hemicell<sup>®</sup> en las dietas de pollos de engorde de la línea Arbor Acres Plus<sup>®</sup>*. Escuela Agrícola Panamericana. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4594/1/CPA-2015-047.pdf> (Consultado: el 15 de diciembre de 2018).
51. Karimi, K. y Zhandi, M. (2015) “The effect of  $\beta$ -mannanase and  $\beta$ -glucanase on small intestine morphology in male broilers fed diets containing various levels of metabolizable energy”, *Journal of Applied Animal Research*. Taylor & Francis, 43(3), pp. 324–329. doi: 10.1080/09712119.2014.978770.
52. Khattak, F. M. *et al.* (2006) “Enzymes in poultry nutrition”, *J. Anim. Pl. Sci.*, 16(1–2). Disponible en: [http://www.thejaps.org.pk/docs/16\\_1-2\\_2006/Khattak.pdf](http://www.thejaps.org.pk/docs/16_1-2_2006/Khattak.pdf).
53. Kiarie, E., Romero, L. F. y Nyachoti, C. M. (2013) “The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry”, *Nutrition Research*

*Reviews*, 26, pp. 71–88. Disponible en: [https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/5C3F7604E0AD78D9006511690DBE623B/S0954422413000048a.pdf/role\\_of\\_added\\_feed\\_enzymes\\_in\\_promoting\\_gut\\_health\\_in\\_swine\\_and\\_poultry.pdf](https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/5C3F7604E0AD78D9006511690DBE623B/S0954422413000048a.pdf/role_of_added_feed_enzymes_in_promoting_gut_health_in_swine_and_poultry.pdf).

54. Kim, J. H. *et al.* (2014) “Effect of dietary supplementation of bacteriophage on growth performance and cecal bacterial populations in broiler chickens raised in different housing systems”, *Livestock Science*, 170, pp. 137–141. doi: 10.1016/j.livsci.2014.09.005.
55. Kim, J. S. *et al.* (2017) “Bacteriophage cocktail and multi-strain probiotics in the feed for weanling pigs: effects on intestine morphology and targeted intestinal coliforms and Clostridium”, *Animal*, 11(01), pp. 45–53. doi: 10.1017/S1751731116001166.
56. Kim, K. H. *et al.* (2013) “Evaluation of Anti-SE Bacteriophage as Feed Additives to Prevent Salmonella enteritidis (SE) in Broiler”, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP) and Korean Society of Animal Science and Technology (KSAST), 26(3), pp. 386–393. doi: 10.5713/ajas.2012.12138.
57. Kim, S. C. *et al.* (2013) “Effects of Dietary Supplementation of Bacteriophage on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Profiles, Carcass Characteristics and Fecal Microflora in Broilers”, *Korean Journal of Poultry Science*. The Korean Society of Poultry Science, 40(1), pp. 75–81. doi: 10.5536/KJPS.2013.40.1.075.
58. Kong, C., Lee, J. H. y Adeola, O. (2011) “Supplementation of  $\beta$ -mannanase to starter and grower diets for broilers”, *J. Anim. Sci*, 91, pp. 389–397. doi: 10.4141/CJAS10066.
59. van Kooyk, Y. y Geijtenbeek, T. B. H. (2003) “DC-SIGN: escape mechanism for pathogens”, *Nature Reviews Immunology*, 3(9), pp. 697–709. doi: 10.1038/nri1182.

60. Krut, O. y Bekeredjian-Ding, I. (2018) "Contribution of the Immune Response to Phage Therapy", *The Journal of Immunology*, 200(9), pp. 3037–3044. doi: 10.4049/jimmunol.1701745.
61. Lan, Y. *et al.* (2005) "The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens", *World's Poultry Science Journal*. Cambridge University Press on behalf of World's Poultry Science Association, 61(01), pp. 95–104. doi: 10.1079/WPS200445.
62. Latham, R. E. *et al.* (2016) "Effect of  $\beta$ -mannanase inclusion on growth performance, ileal digestible energy, and intestinal viscosity of male broilers fed a reduced-energy diet", *The Journal of Applied Poultry Research*. Oxford University Press, 25(1), pp. 40–47. doi: 10.3382/japr/pfv059.
63. Lau, G. L. *et al.* (2010) "Efficacy of a bacteriophage isolated from chickens as a therapeutic agent for colibacillosis in broiler chickens", *Poultry Science*. Oxford University Press, 89(12), pp. 2589–2596. doi: 10.3382/ps.2010-00904.
64. Leverentz, B. *et al.* (2004) "Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue.", *Journal of food protection*, 67(8), pp. 1682–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15330534> (Consultado: el 17 de octubre de 2018).
65. Li, Y. *et al.* (2010) "Effects of  $\beta$ -mannanase expressed by *Pichia pastoris* in corn–soybean meal diets on broiler performance, nutrient digestibility, energy utilization and immunoglobulin levels", *Animal Feed Science and Technology*, 159(1–2), pp. 59–67. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.05.001.
66. Luna, L. (1968) *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd ed. New York: Blakiston Division McGraw-Hill. Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/manual-of-histologic-staining-methods-of-the-armed-forces-institute-of-pathology/oclc/330784> (Consultado: el 18 de septiembre de 2018).
67. Luna, M. R. *et al.* (2010) "Uso de enzimas en la cría y engorde de pollos

broilers en época lluviosa en las localidades de Quevedo, Salcedo y Santo Domingo de Los Colorados”, *Ciencia y tecnología (Quevedo)*, 3(2), pp. 25–31. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-y-tecnologia-quevedo/articulo/uso-de-enzimas-en-la-cria-y-engorde-de-pollos-broilers-en-epoca-lluviosa-en-las-localidades-de-quevedo-salcedo-y-santo-domingo-de-los-colorados> (Consultado: el 11 de octubre de 2018).

68. Marietto-Gonçalves, G. A. *et al.* (2011) “Eradication of Salmonella Typhimurium in broiler chicks by combined use of P22 bacteriophage and probiotic”, *Microbiology Research*, 2(1), p. 2. doi: 10.4081/mr.2011.e2.
69. Martínez, *et al.*, (2004) “Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda”, *Téc Pecu Méx*, 42(1), pp. 105–111.
70. Mehdi, Y. *et al.* (2018) “Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives”, *Animal Nutrition*. Elsevier, 4(2), pp. 170–178. doi: 10.1016/J.ANINU.2018.03.002.
71. Mehri, M. *et al.* (2010) “Effects of  $\beta$ -Mannanase on broiler performance, gut morphology and immune system”, *African Journal of Biotechnology*. Academic Journals, 9(37), pp. 6221–6228. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/92233> (Consultado: el 6 de marzo de 2019).
72. Miles, R. D. *et al.* (2006) “Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology”, *Poultry Science*, 85(3), pp. 476–485. doi: 10.1093/ps/85.3.476.
73. Miller, R. W. *et al.* (2010) “Bacteriophage Therapy for Control of Necrotic Enteritis of Broiler Chickens Experimentally Infected with *Clostridium perfringens*”, *Avian Diseases*, 54(1), pp. 33–40. doi: 10.1637/8953-060509-Reg.1.
74. Mishra, A. *et al.* (2013) “Effects of partial replacement of soybean meal with roasted guar korma and supplementation of mannanase on performance and carcass traits of commercial broiler chickens”, *Veterinary World*, 6(9),

pp. 693–697. doi: 10.14202/vetworld.2013.693-697.

75. Mitchell, E. B. y Johns, J. (2008) “Avian Hematology and Related Disorders”, *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 11(3), pp. 501–522. doi: 10.1016/j.cvex.2008.03.004.
76. Montagne, L., Pluske, J. R. y Hampson, D. J. (2003) “A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals”, *Animal Feed Science and Technology*. Elsevier, 108(1–4), pp. 95–117. doi: 10.1016/S0377-8401(03)00163-9.
77. Moyano, V. A. T. (2010) *Utilización de diferentes niveles de palmiste más la adición de enzimas exógenas en cría y acabado en pollos de ceba*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1188/1/17T0947.pdf>.
78. Oladiti-Olaniyi, O. y Adebowale, O. (2017) “Production and partial purification of beta-mannanase from *Aspergillus niger* associated with ilaje lake, Ondo state, Nigeria”, *Journal of Bacteriology & Mycology*, 5(3). doi: 10.15406/jbmoa.2017.05.00132.
79. Padilla, S. A. (2009) *Efecto de la inclusión de aceites esenciales de orégano en la dieta de pollo de engorde sobre la digestibilidad y parámetros productivos*. Universidad de la Salle, Colombia. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6700/T13.09+P134e.pdf?sequence=1>.
80. Paiva, D., Walk, C. y McElroy, A. (2014) “Dietary calcium, phosphorus, and phytase effects on bird performance, intestinal morphology, mineral digestibility, and bone ash during a natural necrotic enteritis episode”, *Poultry Science*. Oxford University Press, 93(11), pp. 2752–2762. doi: 10.3382/ps.2014-04148.
81. Park, J., Jung, S. y Carey, J. B. (2018) “Effects of a Commercial Beta-Mannanase Product on Growth Performance, Intestinal Histomorphology, Bone and Body Composition, and Amino Acid Digestibility in White Pekin

- Ducks”, *The Journal of Applied Poultry Research*. doi: 10.3382/japr/pfy016.
82. Perozo, M. F. *et al.* (2004) “Morphometric characterization of ross line broiler chickens lymphoid organs reared under field conditions in Zulia State”, *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 14, pp. 217–225.
83. Ravindran, V. (2013) “Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities”, *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(3), pp. 628–636. Disponible en: <https://academic.oup.com/japr/article/22/3/628/778925>.
84. Rehman, Z. U. *et al.* (2016) “Effect of  $\beta$ -mannanase on the Performance and Digestibility of Broilers”, *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 11, pp. 393–398. doi: 10.3923/ajava.2016.393.398.
85. Reyes, S. E. *et al.* (2000) “Evaluación de promotores de crecimiento en pollos de engorda, en un sistema de alimentación restringida y a libre acceso”, *Veterinaria México*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 31(1), pp. 1–9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42331101> (Consultado: el 18 de septiembre de 2018).
86. Roberts, T. *et al.* (2015) “New issues and science in broiler chicken intestinal health: Emerging technology and alternative interventions”, *The Journal of Applied Poultry Research*. Oxford University Press, 24(2), pp. 257–266. doi: 10.3382/japr/pfv023.
87. Rogiewicz, A. *et al.* (2016) “ $\beta$  -Mannans of soybean meal: Their enzymatic hydrolysis and the effect of  $\beta$  -mannanase on growth performance and immune status of broiler chickens”, en *Poultry Science Association Annual Meeting*. New Orleans. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/320260895/PSA-2016-Rogiewicz-B-mannans-of-Soybean-Meal> (Consultado: el 26 de febrero de 2019).
88. Ryu, M. H. *et al.* (2017) “B-Mannanase Derived from *Bacillus Subtilis* WL-7 Improves the Performance of Commercial Laying Hens Fed Low or High Mannan-Based Diets”, *The Journal of Poultry Science*. Japan Poultry



- Science Association, 54(3), pp. 212–217. doi: 10.2141/jpsa.0160021.
89. Saini, S. S. *et al.* (1990) “Immune response of chicks to oral vaccination against Newcastle disease and fowl pox”, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, 13(1), pp. 1–6. doi: [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(90\)90002-B](https://doi.org/10.1016/0147-9571(90)90002-B).
90. Sandoval, G. L. *et al.* (2002) Relación Heterófilo/linfocito e índice morfométrico bursal como indicadores de estrés crónico en pollos parrilleros. Corrientes-Argentina. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/V-044.pdf> (Consultado: el 28 de febrero de 2019).
91. Sastré, C. N. (2017) Evaluación de la interacción de fitasas y  $\beta$ -mananasas en dietas sorgo-soya para pollos en crecimiento sobre el comportamiento productivo y la salud intestinal. Universidad Nacional Autónoma de México.
92. Seal, B. *et al.* (2012) “Bacteriophages of *Clostridium perfringens*”, en Ipek, K. (ed.) *Bacteriophages*. In Tech, pp. 215–236. Disponible en: [http://cdn.intechopen.com/pdfs/32286/InTech-Bacteriophages\\_of\\_clostridium\\_perfringens.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/32286/InTech-Bacteriophages_of_clostridium_perfringens.pdf).
93. Shafey, T. M. *et al.* (2001) “The Effect of Feeding Mannan-Oligosaccharides (Bio-MOS) on the Performance of Meat Chickens under Two Different Vaccination Programs”, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(4), pp. 559–563. doi: 10.5713/ajas.2001.559.
94. Al Shamsi, W. A. (2014) Bacteriophage Therapies as Alternatives to Antibiotics in Chicken Feed In the United Arab Emirates. United Arab Emirates University. Disponible en: [http://scholarworks.uaeu.ac.ae/all\\_theses](http://scholarworks.uaeu.ac.ae/all_theses) (Consultado: el 17 de octubre de 2018).
95. Shashidhara, R. y Devegowda, G. (2003) “Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity”, *Poultry Science*, 82(8), pp. 1319–1325. doi: 10.1093/ps/82.8.1319.
96. Soni, H. *et al.* (2016) “Purification and characterization of  $\beta$ -mannanase from *Aspergillus terreus* and its applicability in depolymerization of mannans and

saccharification of lignocellulosic biomass.”, *3 Biotech*. Springer, 6(2), p. 136. doi: 10.1007/s13205-016-0454-2.

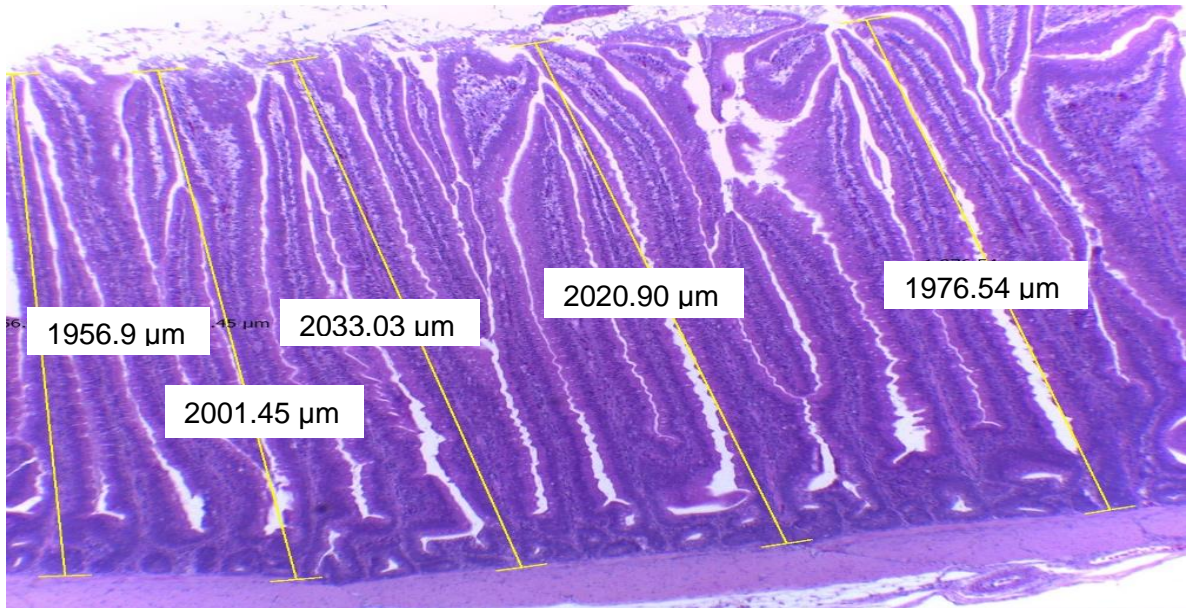
97. Stahl, P. D. y Ezekowitz, R. A. B. (1998) “The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense”, *Current Opinion in Immunology*. Elsevier Current Trends, 10(1), pp. 50–55. doi: 10.1016/S0952-7915(98)80031-9.
98. Sugiharto, S. (2016) “Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry”, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. Elsevier, 15(2), pp. 99–111. doi: 10.1016/J.JSSAS.2014.06.001.
99. Torki, M. (2011) “Evaluation of growth performance of broiler chicks fed with diet containing chickpea seeds supplemented with exogenous commercial enzymes”, *Advances in Environmental Biology*, 5(4), pp. 595–604. Disponible en: <https://www.thefreelibrary.com/Evaluation+of+growth+performance+of+broiler+chicks+fed+with+diet...-a0256365680> (Consultado: el 26 de febrero de 2019).
100. Uculmana, M. C. (2017) “Producción Avícola: Recomendaciones para aumentar la rentabilidad”, 10 mayo. Disponible en: <http://elproductor.com/articulos-tecnicos/articulos-tecnicos-salud-animal/produccion-avicola-recomendaciones-para-aumentar-la-rentabilidad/>.
101. UNA (2018) *Unión Nacional de Avicultores*. Disponible en: <http://www.una.org.mx/index.php/panorama/situacion-de-la-avicultura-mexicana>. (Consultado: el 10 de octubre de 2018).
102. USDA (2018) *Livestock and Poultry: World Markets and Trade*. Disponible en: [https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf) (Consultado: el 10 de octubre de 2018).
103. Valdivia (2008) *Toma, conservación y envío de muestras para el laboratorio clínico veterinario*. 1° ed. México.

104. Wang, J. P. *et al.* (2013) "Evaluation of Bacteriophage Supplementation on Growth Performance, Blood Characteristics, Relative Organ Weight, Breast Muscle Characteristics and Excreta Microbial Shedding in Broilers", *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP) and Korean Society of Animal Science and Technology (KSAST), 26(4), pp. 573–578. doi: 10.5713/ajas.2012.12544.
105. Wernicki, A., Nowaczek, A. y Urban-Chmiel, R. (2017) "Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry.", *Virology journal*. BioMed Central, 14(1), p. 179. doi: 10.1186/s12985-017-0849-7.
106. Yegani, M. y Korver, D. R. (2008) "Factors Affecting Intestinal Health in Poultry", *Poultry Science*. Oxford University Press, 87(10), pp. 2052–2063. doi: 10.3382/ps.2008-00091.
107. Yoshimura, Y. y Kawakami, S. (2016) "Gut mucosal functions and health in poultry". Fukuoka, Japón. Disponible en: <http://jpn-psa.jp/wpcms/wp-content/uploads/2016/08/17th-AAAP-workshop-abstracts-rev1.pdf>.
108. Zangiabadi, H. y Torki, M. (2010) "The effect of a  $\beta$ -mannanase-based enzyme on growth performance and humoral immune response of broiler chickens fed diets containing graded levels of whole dates", *Tropical Animal Health and Production*, 42(6), pp. 1209–1217. doi: 10.1007/s11250-010-9550-1.
109. Zou, X. T., Qiao, X. J. y Xu, Z. R. (2006) "Effect of  $\beta$ -Mannanase (Hemicell) on Growth Performance and Immunity of Broilers", *Poultry Science*, 85(12), pp. 2176–2179. doi: 10.1093/ps/85.12.2176.
110. Zuo, J. J. *et al.* (2014) "Supplementation of  $\beta$ -Mannanase in Diet with Energy Adjustment on Affect Performance, Intestinal Morphology and Tight Junction Proteins mRNA Expression in Broiler Chickens", *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 13(3), pp. 144–151. Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2014/144-151.pdf>

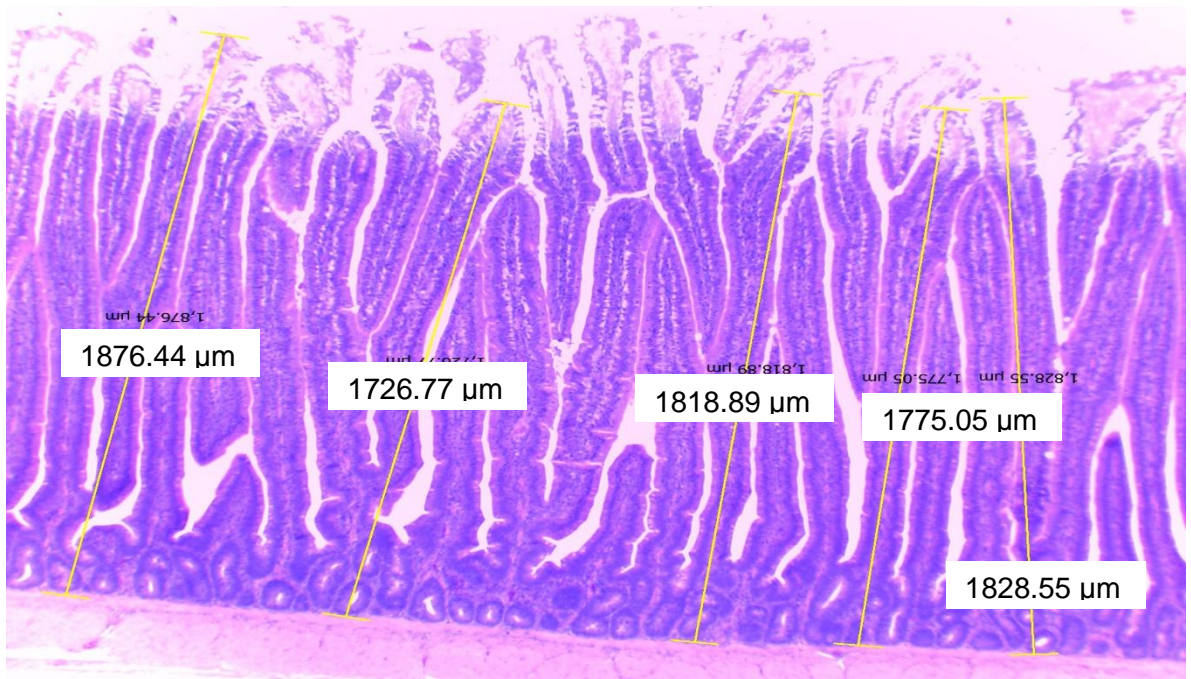
## 7. ANEXOS

### 7.1- Anexo 1

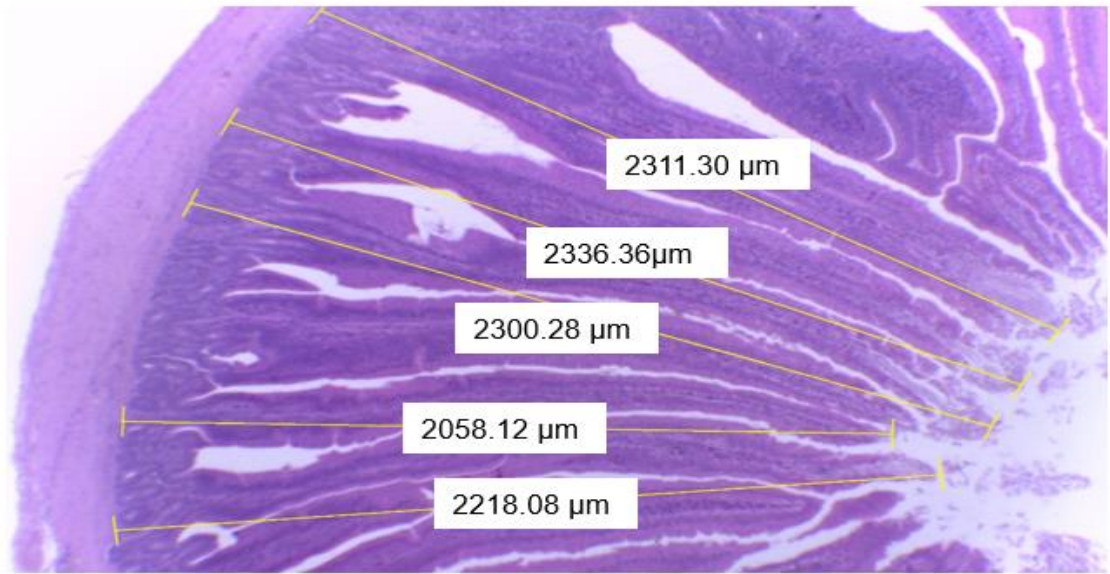
Figuras del estudio histológico (H&E, 40X).



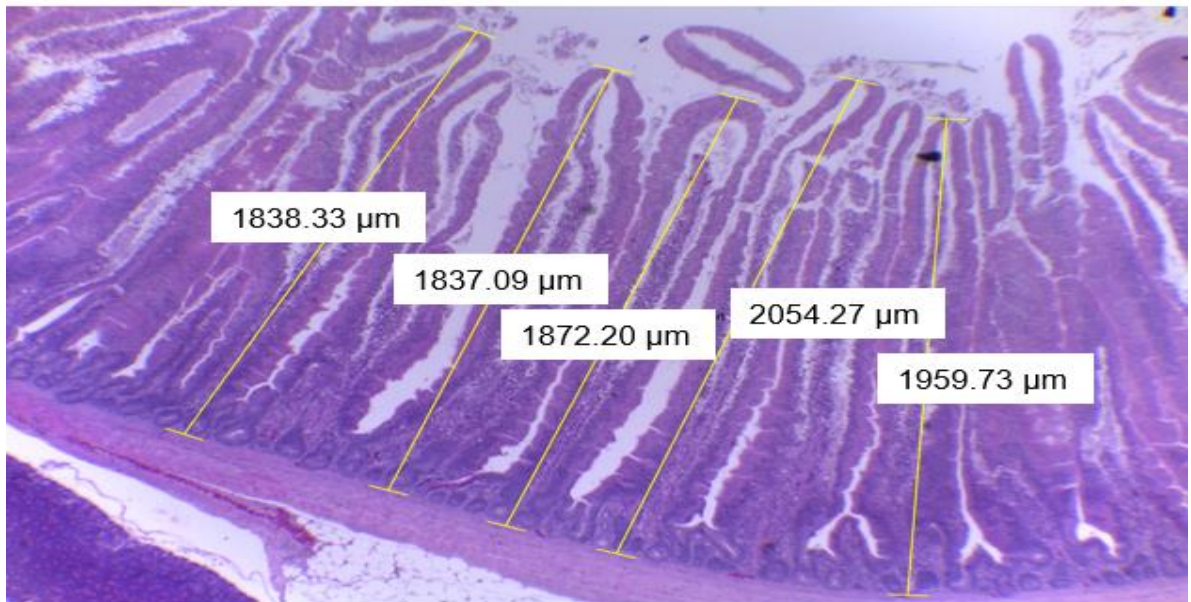
**Figura 17.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T1, 21 días de edad.



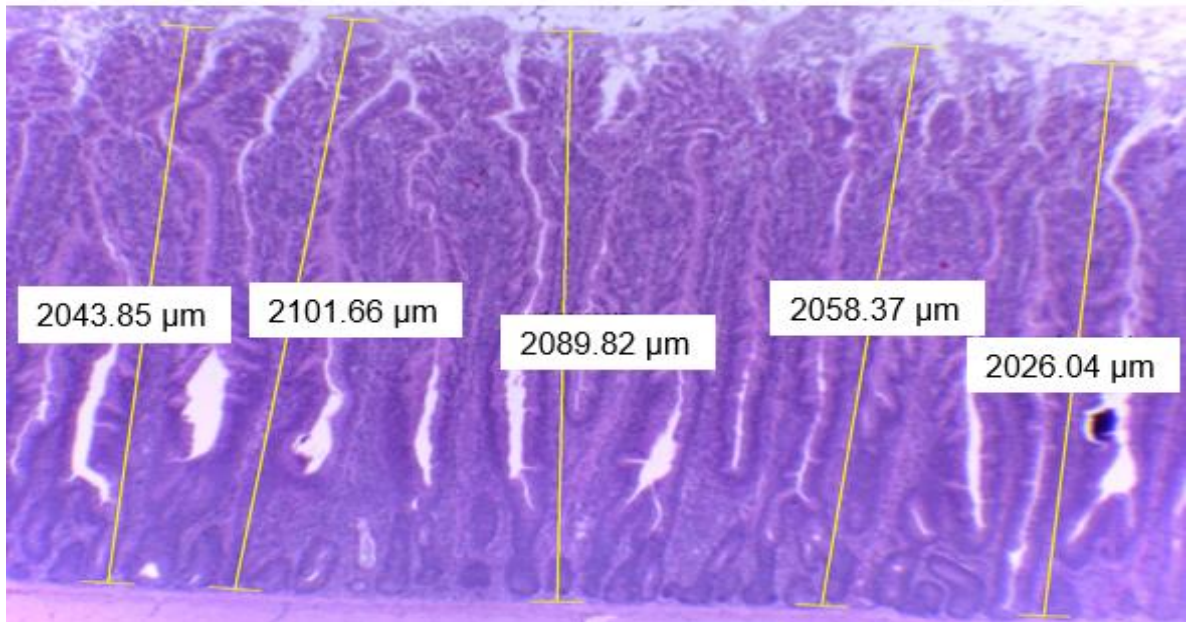
**Figura 18.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T2, 21 días de edad.



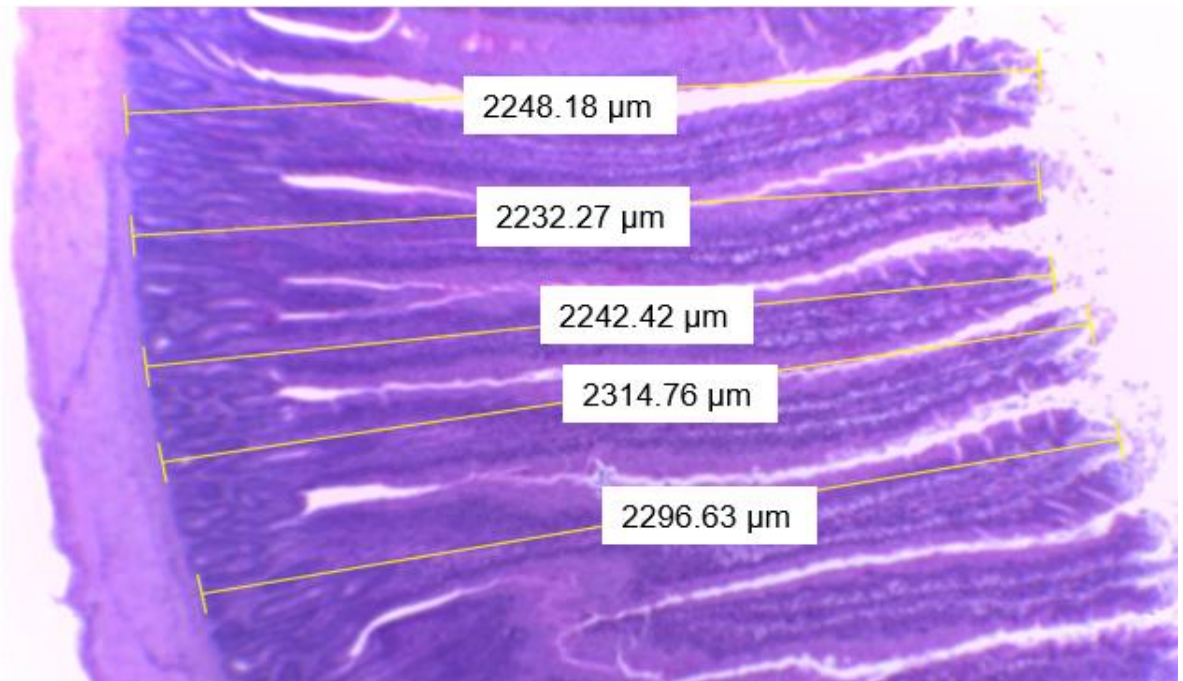
**Figura 19.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T3, 21 días de edad



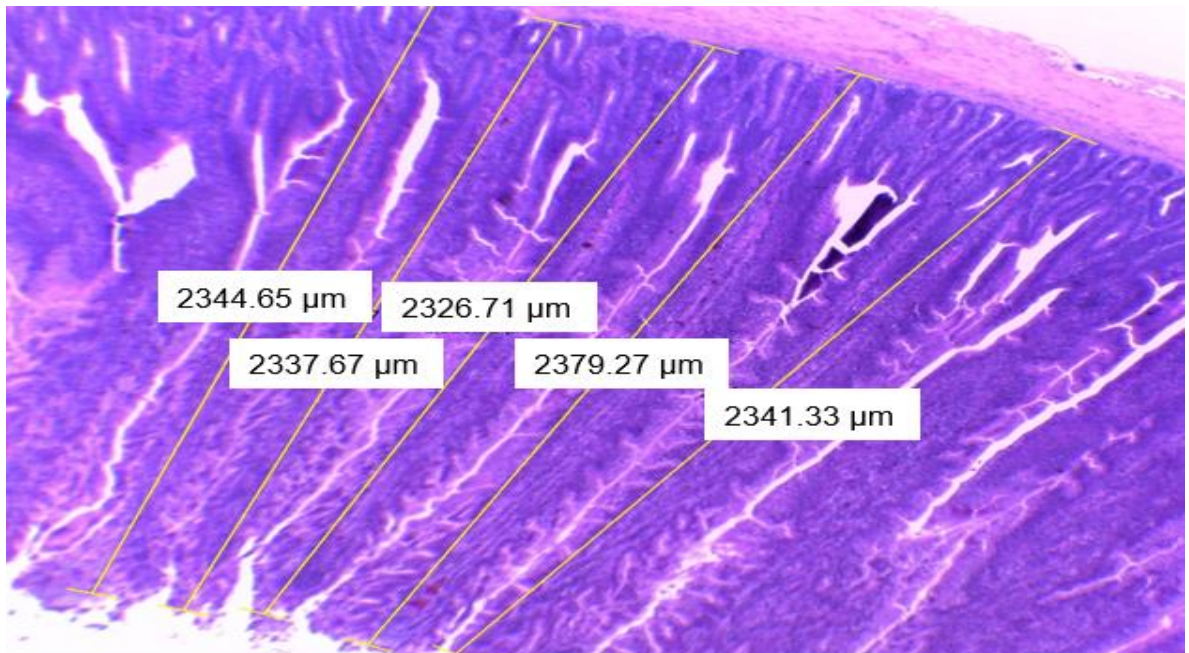
**Figura 20.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T4, 21 días de edad.



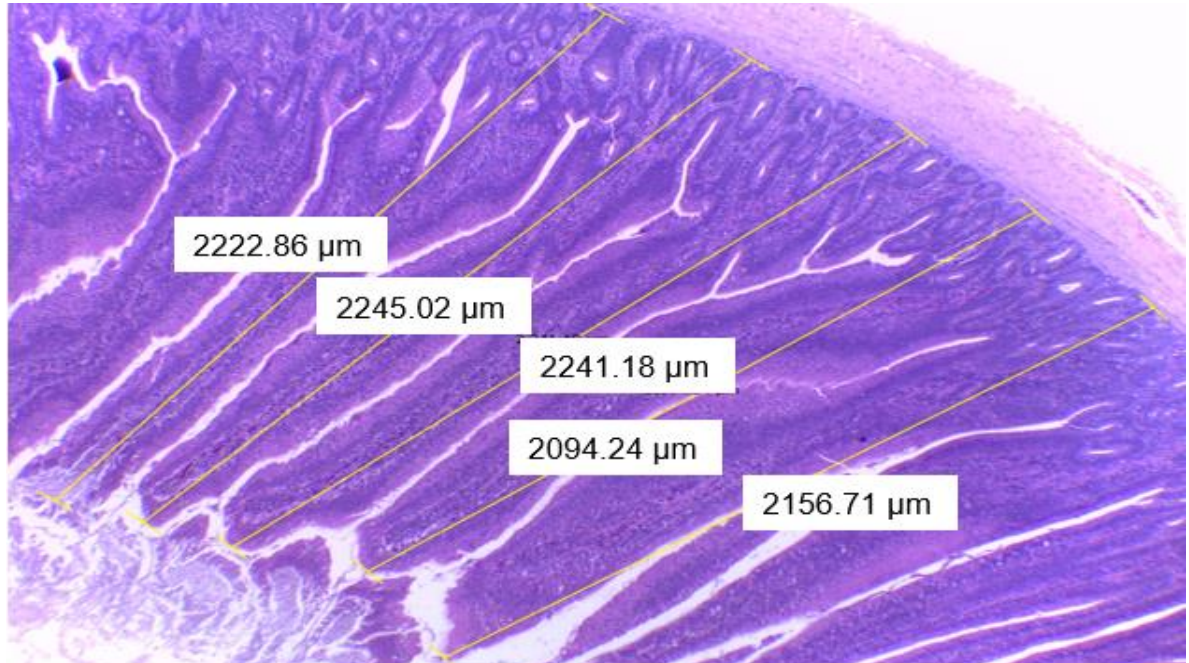
**Figura 21.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T1, 35 días de edad.



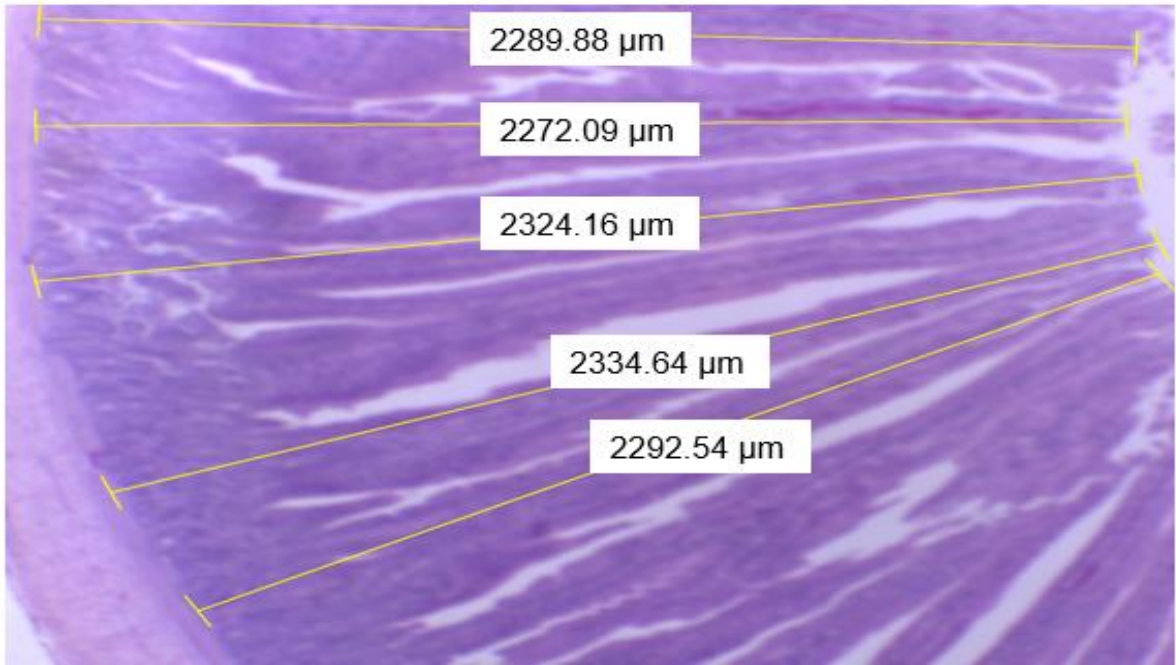
**Figura 22.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T2, 35 días de edad.



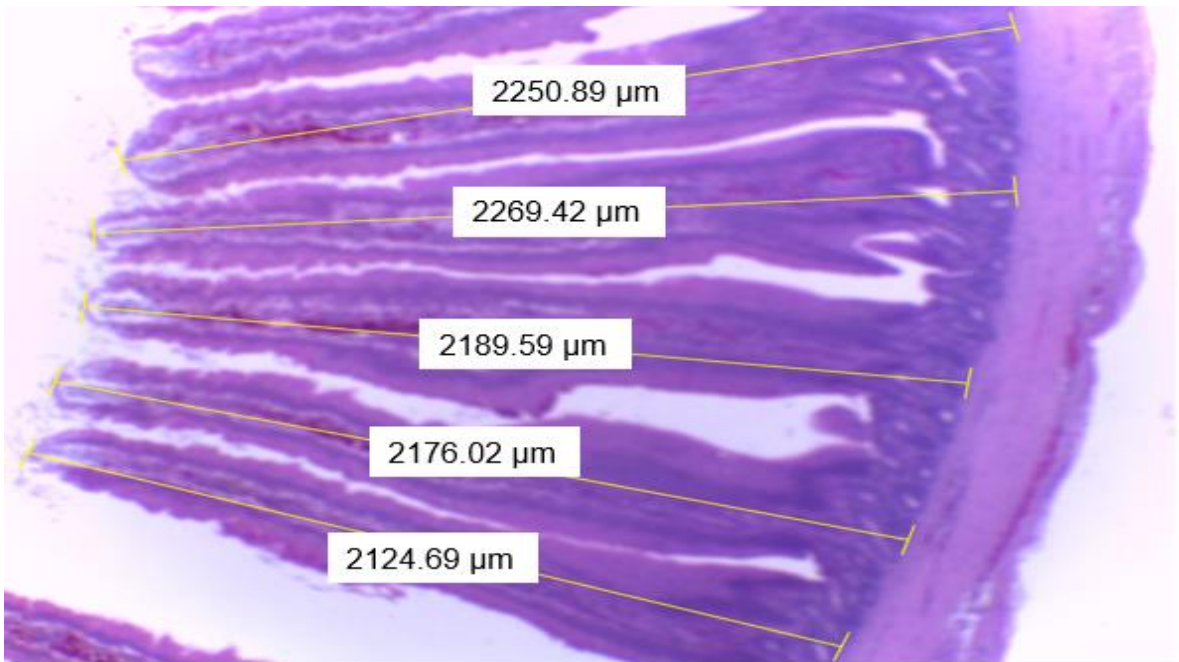
**Figura 23.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T3, 35 días de edad.



**Figura 24.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T4, 35 días de edad.

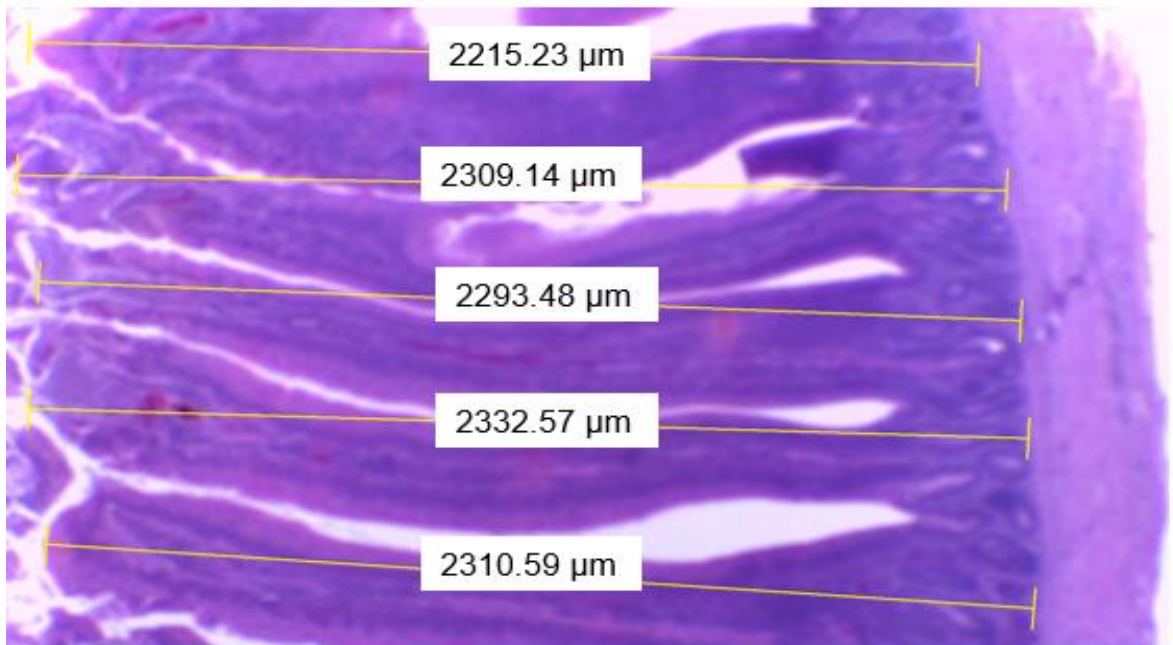


**Figura 25.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T1, 49 días de edad.

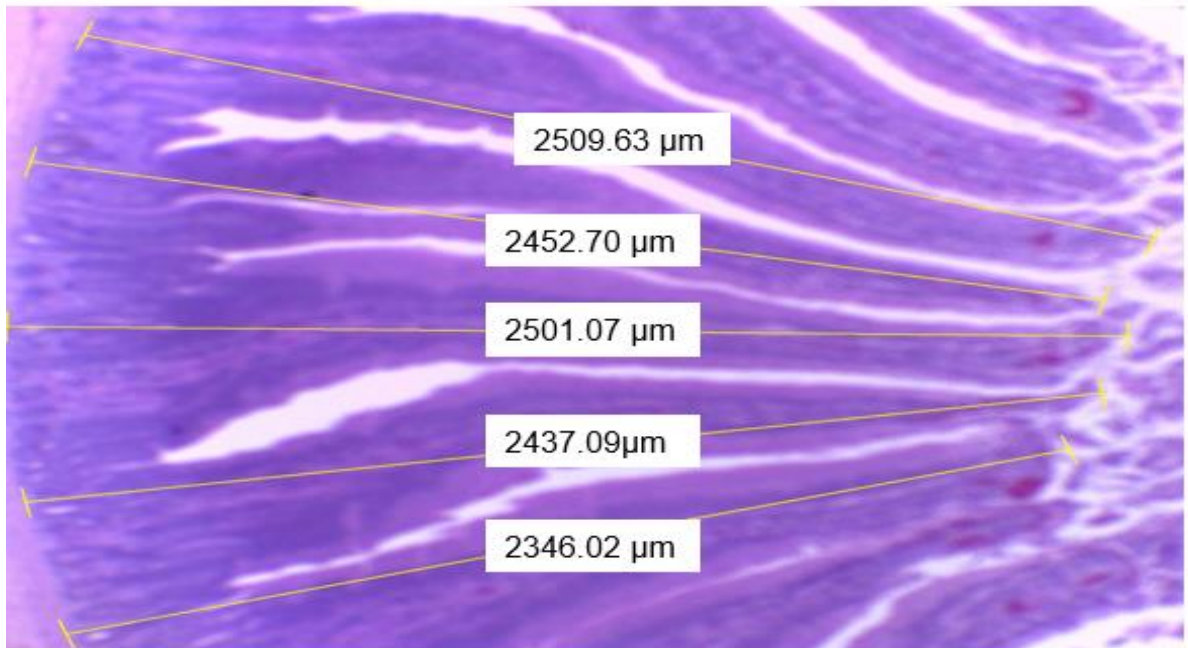


**Figura 26.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T2, 49 días de edad.





**Figura 27.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T3, 49 días de edad.



**Figura 28.** Fotomicrografía de vellosidades intestinales de duodeno T4, 49 días de edad.