



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“Evaluación del uso de Bacillus subtilis QST 713 en la crianza de pollo de engorda Cobb 500 mixto a 43 días bajo condiciones de campo y la relación costo – beneficio”

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA Y ZOOTECNISTA

PRESENTA:
DIANA LAURA FELIPE MANZANILLA

TUTOR:
NÉSTOR LEDESMA MARTÍNEZ

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

Octubre, 2020



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.

DEDICATORIA

A todos esos seres que han alumbrado mi camino
y me han mostrado mil formas de brillar.

Mamá, eres mi gran inspiración.

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos seres vivos que han sido pilares para la ciencia y el progreso.
Agradezco infinitamente a la vida por darme la oportunidad de realizar todo aquello que
llena mi vida en diferentes sentidos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme experiencias y
conocimientos que al día de hoy siguen enriqueciendo mi vida.

A mi amada Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por expandir mi panorama y
formarme como una orgullosa MVZ.

Mamá y Lalo, por siempre apoyarme y amarme, ustedes son mis pilares.

A mis pequeños peludos que han llenado mi vida de color e inspiración.

A mis incondicionales, Mimi y Benja, los amo con todo mi corazón.

A Fer y Mar por ser una gran compañía, bondad y valentía pura; gracias por compartir
tanto amor.

A mis expertos por formar parte de esta gran aventura veterinaria y formar la bonita
familia que somos hasta el día de hoy, permanezcan siempre.

Al Dr. Néstor Ledesma por guiarme por el camino del bien en la avicultura.

Al Dr. Ulises y al Dr. Manuel Paul por apoyarme y asesorarme durante mi estancia en
Córdoba al realizar este trabajo.

A Doña Mago, Don Francisco, su familia y Don Siri por darme tanto, abrir sus
corazones y hacerme sentir en familia.

CONTENIDO

RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	31
HIPÓTESIS.....	32
OBJETIVOS.....	33
MATERIAL Y MÉTODOS.....	34
RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	44
REFERENCIAS.....	45
CUADROS.....	54
ANEXO 1: FIGURAS.....	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Microorganismos permitidos en alimentos para animales por la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos para Animales. Modificado de la publicación Jarman (2018).....	54
Cuadro 2. Comparativo de parámetros productivos utilizando antibiótico promotor de crecimiento y <i>Bacillus subtilis cepa QST 713</i> , en pollos Cobb mixtos a 43 días de edad.....	56
Cuadro 3. Coeficiente de variación por semana, uniformidad de acuerdo al manual Cobb 500.....	57
Cuadro 4. Resultados de la medición del pigmento en vivo en granja promedio al día 42, realizado con el fotocolorímetro de reflectancia Minolta CR-400.....	57
Cuadro 5. Proyección económica de la adición del <i>B. subtilis</i>	58
Cuadro 6. Balance económico de la adición de <i>B. subtilis</i>	58

ÍNDICE DE FIGURAS (ANEXO 1)

Figura 1. Recepción de pollitos, día 1.....	59
Figura 2. Instalaciones donde se realizó la presente evaluación de campo.....	59
Figura 3. Interior de las naves con el respectivo equipo indispensable.....	60
Figura 4. Vacunación de ENC e Influenza Aviar H5N2.....	61
Figura 5. Vacunación IBD en agua de bebida.....	62
Figura 6. Conteo y registro de mortalidad diaria.....	61
Figura 7. Dieta maíz – soya adicionada con <i>B. subtilis</i>	60
Figura 8. Pesaje semanal para cálculo de uniformidad de parvada, a los 5 días y 18 días de vida.....	62
Figura 9. Parvada caseta 8 al día 15 de edad.....	63
Figura 10. Parvada caseta 8 al día 37 de edad.....	63
Figura 11. Equipo de Granja Barrial al final del ciclo. De izquierda a derecha, Don Sirino, Don Francisco y Doña Mago, Beto y Mari, Gordo y Boyé.....	64
Figura 12. Comparación de parámetros productivos con los respectivos promotores de crecimiento usados.....	64
Figura 13. Final del ciclo al día 42 y embarque de las aves.....	65
Figura 14. Comparativo de la mortalidad y aves finalizadas.....	65

RESUMEN

Felipe Manzanilla Diana Laura. Evaluación del uso de *Bacillus subtilis* QST 713 en la crianza de pollo de engorda Cobb 500 mixto a 43 días bajo condiciones de campo y la relación costo - beneficio (bajo la dirección de: Dr. Néstor Ledesma Martínez).

La implementación de alternativas funcionales como lo son los probióticos en la medicina veterinaria y zootecnia continua en constante evolución, parte de ello es realizar ensayos que comprueben su eficacia y viabilidad en condiciones de campo. En el presente estudio se evaluó el desempeño productivo de una parvada de 45,012 aves de la estirpe Cobb 500 de 1 a 43 días de edad; ésta parvada se comparó con una anterior (histórico de la granja) de 44,795 aves, teniendo como diferencia en la presente parvada experimental la adición de esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 a la dieta base de maíz-soya a dosis de 100 ppm. Los resultados obtenidos en 43 días de estudio mostraron que la parvada actual obtuvo mejores resultados respecto la parvada anterior en el peso final de las aves con 0.290 Kg más, un ICA menos en 0.12 puntos; en cuanto a la ganancia diaria de peso se obtuvieron 5.91 gramos más por ave y reducción de la mortalidad acumulada de 7.20% a 4.70 % (- 2.5%); la uniformidad al día 42 fue de 78.8% (de acuerdo a la escala establecida por el manual de la estirpe Cobb 500), con pigmentación promedio de 17.81 en la escala de b*.

Palabras clave: alternativas funcionales, probióticos, *Bacillus subtilis*, pollos de engorda, parámetros productivos.

INTRODUCCIÓN

La industria avícola mexicana se ha posicionado como principal actividad pecuaria, con el 55.4% a nivel nacional; por lo que continúa desarrollando nuevas y mejores estrategias que permitan el aumento en la producción, disminuyendo costos para así poder ofrecer un beneficio económico tanto a consumidores como a avicultores, conjuntando seguridad alimentaria y ambiental, así como a la salud y el bienestar público y animal.

De acuerdo a las tendencias actuales de producción pecuaria y demandas de los consumidores; se requiere la implementación de herramientas que generen proteína animal de alto valor biológico, excelente calidad y a un costo accesible; sin comprometer la salud pública y animal.

Es así como los aditivos alimentarios toman un papel decisivo para proveer un conjunto de beneficios tanto para las aves, avicultores y finalmente, consumidores. El uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC) en la alimentación animal con fines pecuarios se ha cuestionado como producto de elección, dando pauta a que alternativas no antibióticas sean aplicadas en el proceso productivo.

Las estrategias alimentarias no antibióticas van siendo cada vez más diversas y aplicables a las necesidades del entorno pecuario, reportando resultados destacables en cuanto al uso de aditivos que promueven la salud y el bienestar intestinal como pilar para la salud general de las aves, promoviendo su crecimiento, bienestar y productividad (Dibner y Richards, 2005; Molina, 2018; Díaz-López et al., 2017).

Los aditivos funcionales son prometedores para así poder sustituir a los antibióticos a dosis subterapéuticas, usándolos sólo en condiciones necesarias de desafíos patógenos (Torres y Zarazaga, 2002).

La suplementación con probióticos como aditivo funcional a dosis adecuadas en la producción avícola claramente incide en la población de bacterias en el tracto intestinal, lo que estimula la eubiosis y la salud del intestino; esto permite una buena digestión y absorción de nutrientes con un beneficio sobre el sistema inmune de las aves bajo producción intensiva.

No obstante, respecto a su efecto como promotor de crecimiento, los resultados aún son controversiales debido a la cantidad de variantes de microorganismos usados, dosis, métodos de administración, condiciones ambientales, tipos de aves, estado de salud de los animales, dietas alimentarias y, en general, a las diferentes condiciones inherentes de cada experimento (Díaz-López et al., 2017).

Por lo que es necesario continuar con las investigaciones en estudios de campo que consideren las variantes antes mencionadas, haciendo hincapié en las estirpes de aves actuales bajo producción intensiva, para poder ofrecer mejores sustratos biológicos de acción, que a su vez permitan desarrollar las interacciones más eficientes entre el huésped y los microorganismos suplementados (Díaz-López et al., 2017).

El presente estudio va encaminado a determinar la eficacia de la adición de esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 a las dietas en pollos de engorda Cobb 500 mixto del primer día de edad y hasta los 43 días en condiciones de campo; así como algunos factores bióticos y abióticos que afectan los resultados de los experimentos que evalúan estas herramientas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En México el sector avícola continúa teniendo un comportamiento creciente en cuanto a su producción y consumo; proyectando un crecimiento del 2.8% para el sector productivo respecto al año 2018 y un aumento en el consumo aparente de carne de pollo del 1.15% per cápita (UNA, 2018).

A nivel nacional la carne de pollo tiene una participación del 38.4%, seguido del huevo con 17%, es decir, 55.4% entre los dos alimentos; teniendo la leche de vaca 17%, carne de res 15.8% y carne de cerdo 8% (Avicultura MX, 2019).

Para el 2019, la UNA prevé que se concluya con un consumo de 28.75 kilogramos per cápita (solo carne nacional), mientras que el consumo aparente llegaría los 33.15 kilogramos (UNA, 2018).

De acuerdo con datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), durante el primer semestre del año, Veracruz fue el principal productor de carne de pollo en México al producir 11.6%, secundado por Jalisco y Aguascalientes (SIAP, 2019).

Conforme a las proyecciones antes mencionadas, la industria avícola ha estado en una incesante búsqueda del aumento en la producción, disminuyendo costos para así poder ofrecer un beneficio económico tanto a consumidores como a avicultores, conjuntando seguridad alimentaria y ambiental, así como a la salud y el bienestar público y animal. (Avicultura MX, 2019).

Una de las estrategias de la avicultura es impactar directamente a la salud del aves, mediante el uso de aditivos para aumentar la efectividad de los nutrientes presentes en el alimento, su disponibilidad y óptima absorción en el tracto gastrointestinal, además, de modular la flora intestinal de los animales, promover su crecimiento, bienestar y productividad (Dibner y Richards, 2005; Molina, 2018; Díaz-López et al., 2017).

Entre los productos usados como aditivos en alimentos para animales, están los antibióticos, probióticos, oligosacáridos, enzimas, ácidos orgánicos e inorgánicos, inhibidores de hongos, absorbentes de micotoxinas, antioxidantes, vitaminas y minerales,

entre otros. El uso de aditivos se asocia con un producto final más homogéneo y de mayor calidad, permitiendo una conversión eficiente del alimento (Yirga, 2015; Díaz-López et al., 2017).

El uso antibióticos como promotores del crecimiento (APC) surge a finales de los años cuarenta; cuando se observó que su adición a dosis subterapéuticas en las aves impactaba positivamente en su desarrollo. Derivado de eso, la participación de los APC en la producción pecuaria durante largos períodos de la vida del animal, ha ido incrementando y diversificándose; dado que aumenta significativamente la salud del animal, reduciendo la mortalidad y la incidencia de enfermedades; aumentando la productividad de las granjas; produciendo una ganancia de peso estimada alrededor del 5% (Torres y Zarazaga, 2002; Diarra y Malouin, 2014).

Los antibióticos usados en la producción animal como promotores de crecimiento (APC) no requieren el uso de receta médica, ya que son considerados aditivos en el pienso (Torres y Zarazaga, 2002); por lo que ha aumentado el volumen utilizado en animales en todo el mundo, debido a la creciente demanda de alimentos de origen animal (WHO.int., 2019). Desafortunadamente, en la actualidad existen tendencias que consideran que muchos de los APC transmiten genes inductores de resistencia hacia la microbiota humana (Díaz-López et al., 2017), lo cual, con diferentes reportes e investigaciones científicas se ha llegado a la certeza que los problemas clínicos respecto a la resistencia a los antibióticos en medicina humana son primordialmente el resultado del uso de antibióticos en esa misma comunidad, en vez del uso de antibióticos en animales (Department of Health UK, 2013; WHO, 2014; Cervantes, 2015).

El monitoreo continuo donde se asegure que los comestibles derivados de la industria avícola y otros animales ha sido extenuante, confirmando la ausencia de residuos de fármacos (incluyendo antibióticos) o por lo menos residuos que se encuentren en concentraciones por debajo del límite máximo de residuos o MRL que se consideran inocuas para el consumo humano (Cervantes, 2015).

Cabe destacar que recientes investigaciones han concluido que las intervenciones que restringen el uso de antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos reducen las bacterias resistentes a los antibióticos en estos animales en hasta un 39%

(WHO.int., 2019). Por lo que, las tendencias actuales en la producción pecuaria con fines comerciales son el uso de promotores de salud intestinal que apunten a la sustitución de antibióticos promotores de crecimiento (APC) (Dibner y Richards, 2005). Implementando aditivos alimentarios funcionales; definiéndose como aquellos que poseen un efecto beneficioso demostrado, sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, siendo este hecho relevante para mejorar la salud y el bienestar y/o la reducción del riesgo de enfermedad (Galland, 2009) aminorando notablemente las pérdidas económicas en la producción avícola (Tactacan et al., 2013).

Así los aditivos alimentarios como los prebióticos, probióticos, oligosacáridos, enzimas y ácidos orgánicos (principalmente) se han convertido en compuestos funcionales prometedores y en una buena alternativa a la utilización de antibióticos.

En cuanto al uso de probióticos y prebióticos se ha reportado la ausencia de residuos en el huevo y en la carne del ave, no generan riesgo de resistencia farmacológica de la biota humana, contribuyen al mantenimiento de la integridad y estabilidad de la microbiota intestinal de las aves dificultando la proliferación de los microorganismos perjudiciales aunado a la modulación del sistema inmune, resultando en un aumento en la digestión y absorción de nutrientes, disminuyendo la incidencia de enfermedades infecciosas (Díaz-López et al., 2019; Molina, 2018); siendo estos evidentes beneficios para la producción.

El uso de herramientas funcionales como los probióticos que son organismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del hospedero; este efecto debe estar probado. Los microorganismos usados como probióticos en nutrición animal no deben ser patógenos para los animales y deben ser resistentes a los procesos de elaboración de alimentos y piensos (Molina, 2018).

Una de las bacterias benéficas que ha tenido resultados destacables en investigación y validación como probiótico es el *Bacillus subtilis*. Ésta posee metabolismo aeróbico, acción contra la proliferación de microorganismos patógenos, puede formar esporas en ambientes adversos mostrando resistencia al ácido y álcali y al calor; además de una alta tasa de crecimiento dentro del tracto intestinal (Arocena et al., 2017).

Debido a las características biológicas del *B. subtilis* mencionadas, se requiere de un porcentaje de inclusión muy bajo por lo que económicamente es una opción viable este tipo de herramienta como promotor de salud intestinal.

En los estudios de eficacia de *Bacillus subtilis* en cuanto a la dosis, tipo de aves utilizadas, métodos de administración, composición de las dietas de alimentación de las aves y condiciones ambientales en que se realizan los bioensayos en pollos de engorda y gallinas de postura; se demuestra que *B. subtilis* puede ser una alternativa al uso de los APC (Huyghebaert et al., 2011) para mantener la salud intestinal y con ello mantener y/o mejorar la productividad, además de reservar el uso de antibióticos como terapéuticos (Díaz-López et al., 2019).

MICROBIOTA EN LAS AVES

La microbiota del tracto gastrointestinal de las aves es una compleja y diversa relación de bacterias, hongos, protozoos y virus, que interactúan constantemente entre ellas y con el huésped (Molina, 2018); llevando a cabo procesos metabólicos como la digestión y fermentación de polímeros vegetales, síntesis de vitaminas, bioconversión de compuestos tóxicos, estimulación del sistema inmune, mantenimiento de la peristalsis intestinal, así como de la mucosa intestinal; lo que interviene directamente en la eficacia de la alimentación, digestión de nutrientes y por consiguiente en la salud, bienestar y productividad de las aves (Chaucheyras-Durand y Durand, 2010).

En las aves que empollan sus huevos la adquisición y desarrollo del bioma intestinal en las aves se origina desde la eclosión del pollito, donde el TGI es estéril (Ohimain y Ofongo, 2012); junto con los microorganismos que se encuentran en la superficie de la cáscara del huevo, influenciados por los microbios que estén presentes en el intestino de la madre, de fuentes externas presentes en el ambiente, en el alimento y el personal que manipula a los animales; determinado directamente por las condiciones de higiene durante el proceso productivo (Borja et al., 2010; Neira, 2016); sin embargo, en las producciones intensivas actuales, donde el contacto con la madre es nulo y la higiene en las instalaciones es adecuada, la colonización se ve retrasada, dejando la mucosa intestinal susceptible de ser colonizada por agentes patógenos (López, 2007).

Bacterias del género *Lactobacillus* y *Micrococcus*, clasificadas como no patógenas, forman parte del microbioma del tracto reproductor de las gallinas; en cuanto a las bacterias patógenas asociadas a tracto digestivo se ha registrado la presencia de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, *Proteus* sp, *Staphylococcus* sp, *Pasteurella* sp, *Listeria* sp y *Pseudomonas* sp. Cabe destacar que algunas de éstas bacterias pueden estar directamente en el ambiente, poblando así la superficie del huevo después de la postura. Teniendo así que el número de microorganismos presentes en la cáscara de huevo es aproximadamente 10^5 ufc/huevo (Neira, 2016).

Se sabe que el establecimiento de la microbiota se da de forma gradual, principalmente a través de los alimentos y se estabiliza entre las 2 y 4 semanas de vida (Lee et al., 2010). En cuanto al tracto gastrointestinal de las aves en producción, se tiene el registro de que está colonizado aproximadamente por 640 especies de bacterias de 140 géneros diferentes, varía en abundancia y diversidad a lo largo del tracto intestinal, y es inferior el número de microorganismos en los que el paso del alimento es más rápido (Díaz-López et al, 2017). El bioma intestinal puede estar compuestas por bacterias alóctonas o transitorias que residen temporalmente y bacterias autóctonas que colonizan de forma permanente; coexistiendo sin causar daño al hospedero (Borja et al., 2010; Cisek y Binek, 2014).

Debido a la alta intensidad del peristaltismo en el intestino delgado, la colonización en el lumen de las bacterias en esta zona es menos rápida y favorable. Se demora aproximadamente dos semanas en alcanzar estabilidad microbiana, y se constituye en su mayoría por bacterias anaerobias facultativas como *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp. y *Escherichia coli*, las cuales representan entre el 60 y el 90% de la microbiota intestinal. Otras especies que se encuentran comúnmente en el íleon y el duodeno son los anaerobios obligados como eubacterias, clostridios, propionibacterias y fusobacterias (Díaz-López, et al, 2017; Cisek y Binek, 2014; López, 2007).

Considerando la diversidad de la microbiota intestinal, se debe de estudiar en forma de comunidades que interactúan entre sí, que tienen la capacidad de estimular o inhibir el crecimiento de otras cepas de microorganismos. Una población bacteriana compuesta por organismos benéficos interactúa con el hospedero promoviendo mejores condiciones de salud (Díaz-López et al, 2017).

El desarrollo de herramientas funcionales como aditivos alimentarios para los animales de producción es imprescindible para fortalecer los microbiomas, por consiguiente la salud intestinal y así poder otorgar un mayor beneficio para las aves.

SALUD INTESTINAL

La salud intestinal en los animales es imprescindible para la expresión de un conjunto de factores que repercuten finalmente en el bienestar y salud del ave y eficiencia productiva, mediante el funcionamiento óptimo del tracto gastrointestinal (TGI) (Ducatelle et al., 2018).

Las funciones primordiales del TGI son la digestión, absorción y metabolismo de los nutrientes (Montoya, 2019). Teniendo características únicas en cada elemento que lo compone, como la mucosa intestinal; que es una organización compleja de células epiteliales, inmunológicas y microbiota, que funge como barrera física que impide la entrada de agentes y sustancias patógenas que están presentes en el alimento y lumen intestinal, pudiendo causar alteraciones en la permeabilidad y estabilidad de la misma; permitiendo la presentación de procesos inmunológicos como la inflamación; afectando finalmente a la integridad de la mucosa y sus funciones (Chávez et al., 2015).

El intestino es considerado el órgano inmune más grande del cuerpo, y la superficie en donde hay mayor contacto con el medio y presentación de antígenos después de la epidermis (Allen et al., 2013; Montoya, 2019; Cisek y Binek, 2014; Ritzi et al., 2014; Kraieski et al., 2017).

ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO

El uso de APC en la industria pecuaria aumenta significativamente la salud del individuo, reduciendo la mortalidad y la incidencia de enfermedades, aumentando la productividad de las granjas (Diarra y Malouin, 2014).

Se ha estimado que los antimicrobianos a dosis subterapéuticas como promotores del crecimiento actúan a través de mecanismos inespecíficos y no bien definidos, mejorando el peso corporal en un 5-6% y la eficiencia alimenticia en un 3-4%, con efectos más pronunciados en animales jóvenes (Butaye et al., 2003; Torres y Zarazaga, 2002). Sin embargo, la adición de estos agentes antimicrobianos puede cambiar el ambiente bacteriano al eliminar las cepas susceptibles y solo permitir que sobrevivan las bacterias resistentes a los antibióticos (es decir, aquellas con mejor adaptación, resultando en resistentes y patógenas (O'Brien, 2002). En consecuencia, se encontraron asociaciones positivas entre la presencia de ciertos genes de virulencia y los determinantes de la resistencia a los antibióticos (Aslam et al., 2012; Johnson et al., 2012).

Los antibióticos considerados de máxima prioridad entre los antimicrobianos de importancia crítica son las quinolonas, las cefalosporinas de tercera generación o posteriores, los macrólidos y cetólidos, los glicopéptidos y las polimixinas (también conocidas como colistinas). Estos antibióticos son esenciales como tratamientos de último recurso para infecciones multirresistentes en humanos (WHO.int., 2019).

Comúnmente en la avicultura los fármacos más recurrentes usados como APC son glucolípidos (bambermicina), polipéptidos (bacitracina), ionóforos (salinomicina), β -lactámicos (penicilina), estreptomicinas (virginiamicina) y tetraciclinas (clortetraciclina) (Diarra y Malouin, 2014).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO

Los mecanismos de acción de los APC son diversos; destacando que actúan modificando cuantitativamente y cualitativamente la microbiota intestinal, así como su interacción con la pared intestinal y el sistema inmune del animal (Diarra y Malouin, 2014) provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas, reduciendo así, su incidencia y severidad (Ardoino et al., 2017) seguridad alimentaria y ambiental, así como a la salud y el bienestar público y animal.

De manera subsecuente reducen la cantidad de metabolitos producidos por bacterias patógenas, asimismo aminoran el uso de nutrientes por parte de la microbiota que compite con el huésped, aumentando su absorción; mediante la mejora de la salud intestinal, modulando la respuesta inflamatoria durante el enfrentamiento inmune (Ardoino et al., 2017).

Todo ello conduce a preservar un equilibrio óptimo de los microorganismos que forman parte del bioma intestinal lo que conlleva a una mejora en la productividad y reduce la mortalidad de los animales (Torres y Zarazaga, 2002).

MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Resistencia a los antimicrobianos o farmacorresistencia, es un fenómeno evolutivo natural por el cual un microorganismo (bacteria, virus, hongo o parásito) deja de ser sensible y sobrevive al antimicrobiano al que ha sido expuesto, reduciendo las opciones terapéuticas disponibles frente a enfermedades (EMA et al., 2015; Holmes et al., 2015).

Siendo tres principales mecanismos de resistencia bacteriana (Holmes et al., 2015; Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2017; Montoya, 2019):

- Inactivación enzimática: La bacteria elabora enzimas (β -lactamasas) que inactivan la molécula de antimicrobiano a través de hidrólisis o por modificaciones no hidrolíticas como fosforilación.
- Modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria: “objetivos farmacológicos alterados”, es la reducción de afinidad del receptor bacteriano por la molécula de antimicrobiano, a través de una mutación de ADN.
- Alteraciones de la permeabilidad:
 - Membrana bacteriana: fundamentalmente en Gram-negativos, se disminuye la expresión de porinas, que permiten el flujo de llegada al antibiótico.
 - Alteración de la entrada: afecta la entrada dependiente de energía de antibióticos.

- Expulsión de antibiótico: la resistencia por eflujo es un mecanismo inespecífico constituido por proteínas asociadas a la membrana citoplasmática que actúan como bomba de expulsión de los antimicrobianos.

Consecuentemente, las bacterias predominantes son las que pueden adaptarse y sobrevivir, continuando su reproducción ante diversos factores ambientales en presencia de los fármacos antimicrobianos (Michael et al., 2014; Montoya, 2019; Ajit et al., 2016).

LEGISLACIÓN (PROHIBICIÓN DE LOS APC)

Actualmente es bien sabido que el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la producción pecuaria durante largos períodos han traído consecuencias desfavorables, como la resistencia antibiótica a una gran gama de productos. Como lo señala la WHO (*World Health Organization*), la falta de antibióticos eficaces causantes de infecciones graves debido al desarrollo de resistencia bacteriana a la mayoría o a la totalidad de los tratamientos disponibles, deja muy pocas alternativas prometedoras en fase de investigación; lo que es una amenaza para la seguridad tan grave como la que representa un brote de enfermedad repentino y letal (WHO.int., 2019).

En 1969 se publicó el informe británico Swann, donde se alertaba del posible riesgo de selección de bacterias resistentes en animales que pudieran posteriormente pasar al ser humano (Torres y Zarazaga, 2002).

Muchos países ya han adoptado medidas para reducir el uso de antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos. Por ejemplo, en 2006 la Unión Europea prohibió el uso de antibióticos para estimular el crecimiento. Los consumidores también están impulsando la demanda de carne producida sin el uso sistemático de antibióticos, por lo que algunas cadenas alimentarias importantes están adoptando la política de «ausencia de antibióticos» para sus suministros cárnicos (WHO.int., 2019).

El uso de *B. subtilis* ha reforzado y favorecido el uso de probióticos en la alimentación animal, aunado a su creciente investigación, siendo también una de las bacterias

aprobadas por el Ministerio de Agricultura para producción animal (Lei y Zhang, 2008; Tom et al., 2004; Wei, 2009).

PROBIÓTICOS

Los probióticos se definieron, en un principio, como “sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otro” (Lilly y Stillwell, 1965). Luego, en 1989, se propone modificar esta definición a “suplemento alimentario vivo que tiene un efecto benéfico para el huésped” (Fuller, 1989). Fuller en 1999, señala que “los probióticos son microorganismos vivos usados como suplementos alimentarios que confieren efectos benéficos en el animal mejorando el balance intestinal de los mismos” (Fuller, 1999). En la actualidad, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ha modificado el término a “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio en la salud del huésped” (FAO, 2001).

Así como lo señalan Torres y Zarazaga, 2002, para que se consideren promotores del crecimiento debe existir un efecto beneficioso, probado y superar al dado por el efecto placebo; los probióticos tienen que, ser microorganismos vivos que confieran las propiedades señaladas anteriormente (FAO/WHO, 2002).

Actualmente, existen cepas de microorganismos seleccionados, que estimulan la eubiosis y la estabilidad de la flora intestinal de las aves resumidas en el Cuadro 1, lo cual permite que se mantenga la integridad y funcionalidad de las mucosas digestivas, y garantiza el aprovechamiento oportuno de los nutrientes suministrados en la dieta (Díaz-López et al., 2017).

Los microorganismos deben reunir ciertas características para ser usados como probióticos en nutrición animal. No deben ser patógenos para los animales, deben ser resistentes a factores físicos y ambientales propios de los procesos de elaboración de alimentos para animales, como el calor, la desecación y radiación UV; manteniendo su viabilidad durante el procesamiento, almacenamiento y manejo (Molina, 2018), además de ser capaces de resistir el ambiente del tubo digestivo, adherirse a la pared intestinal y colonizar el tracto intestinal del animal (Díaz-López, 2017).

Estos microorganismos deben tener la capacidad de crecer rápidamente en medios de cultivo de bajo costo para que su producción y uso en nutrición sea rentable (Bajai et al., 2016).

Una clasificación de los probióticos es de acuerdo a su naturaleza de origen, siendo autóctonos o alóctonos. Las cepas de microorganismos autóctonos son los que forman parte de la flora indígena del tracto gastrointestinal de los animales, como las bacterias pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium*; éstas son comúnmente utilizadas en los suplementos como probióticos (Díaz-López et al., 2017); en cambio, los probióticos alóctonos usan microorganismos que normalmente no están presentes dentro del tubo digestivo de los animales, como es el caso de las levaduras y las bacterias del género *Bacillus* (Bajagai et al., 2016); ambas han demostrado tener la capacidad de ejercer efectos positivos en las aves (Díaz-López et al., 2017).

Es de suma importancia que al implementar el uso de probióticos en la alimentación animal, se revisen los respaldos científicos con que cuenta el producto y si la especie, edad del animal y efecto reportado, concuerdan con las necesidades de la producción pecuaria a la que se van a proporcionar (Molina, 2018).

La disponibilidad comercial actual de los probióticos para emplearlos en la alimentación animal es variada; teniendo presentaciones de una sola especie microbiana, otros multiespecie, además, a base de bacterias, hongos, microorganismos formadores y no formadores de esporas (Bajagai et al., 2016). Con el fin de lograr mayor eficiencia al colonizar el intestino (Díaz-López et al., 2017). Cada género de microorganismos puede tener diferentes especies y cepas con capacidad de producir efectos metabólicos diferentes, por lo que se recurre a utilizarlos en conjunto para lograr los mejores beneficios (Mountzouris et al., 2010).

En el cuadro 1 se presentan los microorganismos vivos permitidos en alimentos para animales en Costa Rica y en los estados miembros de la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos para Animales (Jarman, 2018).

Algunos de estos microorganismos en su metabolismo utilizan carbohidratos como fuente de energía, lo que genera ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico, butírico y láctico), los cuales han demostrado poseer propiedades benéficas para la salud del tracto intestinal (Díaz-López et al., 2017). Entre esto se puede destacar el ácido butírico, que sirve como fuente de energía para los enterocitos, estimula la proliferación celular, regula la apoptosis y contribuye a mantener la integridad de la pared intestinal (Huda-Fujan et al., 2010).

Por otra parte, están las bacterias productoras de ácido láctico; estas son las más utilizadas como probióticos, debido a su capacidad para adaptarse y proliferar en las condiciones intestinales, lo que genera múltiples efectos positivos en la salud de las aves (Hamid y Ezureen, 2011) trayendo consigo ventajas, como que pueden alargar la vida de anaquel de los productos (carne y huevo), mantener la salud intestinal y mejorar la inmunidad de los animales en producción intensiva sin los efectos residuales de los antibióticos usados como promotores de crecimiento (Abdur-Rahman y Anas, 2014; Dragana y Hughes, 2014).

Lamentablemente la mayoría de las presentaciones probióticas son vulnerables a los cambios ambientales, entre más transcurre el tiempo las bacterias benéficas viables van muriendo gradualmente, por lo tanto la cantidad real ingerida por lo animales es baja, lo que reduce significativamente el efecto del aditivo (Zhengua et al., 2017; Leser et al., 2008; Qin, 2009; Xiang y Xu, 2009).

Debido a esto, el uso de bacterias formadoras de esporas altamente resistentes a condiciones ambientales adversas como temperaturas elevadas y desecación, particularmente pertenecientes al género *Bacillus*, son cada vez más frecuentes (Reid, 2016).

GÉNERO BACILLUS

Como lo mencionan en su estudio experimental Zhengua y colaboradores, el uso de *Bacillus subtilis* en las dietas de pollos de engorda puede mejorar el rendimiento

productivo, mejorar la eficiencia alimenticia, mejorar la inmunidad de las aves y reducir las bacterias patógenas dentro del tracto intestinal (Zhengua et al., 2017).

Esto se debe a las características biológicas únicas de éste microorganismo; *B. subtilis* puede formar esporas en ambientes adversos que le da resistencia al ácido, álcali y al calor. Tiene rápida tasa de crecimiento. También las esporas pueden implantarse en el tracto intestinal después de haber atravesado algún proceso de granulación del alimento y ser expuesto al ambiente ácido dentro del estómago de los animales. Además es una bacteria aeróbica, que para sus funciones metabólicas y de reproducción ocupa el oxígeno libre dentro del tracto gastrointestinal, esto restringe marcadamente el crecimiento de la mayoría de bacterias aeróbicas patógenas, mejora el crecimiento de bacterias probióticas anaeróbicas como *Lactobacillus*, y levaduras como *Bifidobacterium* (Wang et al., 2006).

Por lo tanto, su adición restaura y mantiene el balance de la microbiota del animal, mejora la función inmune y la resistencia a enfermedades; promueve su crecimiento (Gao et al., 2012; Tannok et al., 2000; Zhou et al., 2012) y finalmente se ve reflejado en parámetros productivos.

El beneficio de los productos comerciales a base de esporas de *B. subtilis* es la germinación de las esporas en el tracto intestinal que da lugar a células vegetativas metabólicamente activas, que son las que ejercen sus efectos en el huésped (Tactacan et al., 2013).

Se ha demostrado que la adición de *B. subtilis* a las dietas puede aumentar la población de *Lactobacillus* dentro del tracto intestinal, así como que puede secretar proteasa altamente activa, lipasa y amilasa para asimilar carbohidratos vegetales complejos; incrementando la digestibilidad de los nutrientes y proveer mayor y mejor nutrición a las aves (Li et al., 2014), así como disminuir la conversión alimenticia (Zhengua et al., 2017).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

Como se ha mencionado anteriormente, la microbiota intestinal afecta directamente la eficacia de la alimentación, productividad, salud y bienestar de los animales; influenciada

por las prácticas de alimentación, de la composición de las dietas y del manejo en granja, entre otros (Chaucheyras-Durand y Durand, 2010).

Los probióticos presentan múltiples mecanismos de acción a través de los cuales coadyuvan a generar estabilidad en la flora intestinal, lo que evita la proliferación de bacterias enteropatógenas; siendo los más destacados (Bajagai et al., 2016; Markowiak y Śliżewska, 2018).:

Exclusión competitiva

Permite a los microorganismos probióticos colonizar ampliamente el intestino, lo que obliga a las bacterias patógenas a competir por un lugar de adhesión en la mucosa intestinal, hace que se disminuya la obtención de nutrientes y dificulta la proliferación de microorganismos perjudiciales. Esto varía de acuerdo al ambiente intestinal de cada animal. Como lo menciona Callaway y colaboradores, se ha observado en animales adultos con microbiota estable que la exclusión competitiva no es biológicamente significativa en contraste con animales jóvenes, cuyo ambiente intestinal aún está en desarrollo. Este hecho se explicaría, en parte, debido a que el tipo y la cantidad de probiótico suministrado pueden no ser los indicados para el animal, con el probable desarrollo de antagonismo, evidenciado por la incorrecta generación de exclusión competitiva de los patógenos en el intestino (Callaway et al., 2008; Cheng et al., 2014).

Estimulación del sistema inmune e inmunomodulación

Dentro de los efectos ejercidos en el sistema inmune innato, se puede observar la capacidad que poseen los probióticos de aumentar la actividad de las células NK, o *Natural killer*, que se destacan por su efecto citotóxico y por producir citocinas que actúan como inmunomoduladores y agentes proinflamatorios (Matsuzaki y Chin, 2000). Otro mecanismo antiinflamatorio es producto de los metabolitos de los probióticos que tienen la capacidad de interactuar con receptores de señalización como el NF-kb (factor nuclear kappa B), lo cual evita la producción de agentes inflamatorio que afecten la integridad de la mucosa intestinal (Lescheid, 2014). Por otra parte se han demostrado los efectos quimiotácticos,

mediados por citocinas, metaloproteinasas y prostaglandinas, que estimulan la respuesta inmune celular, lo que aumenta la producción de inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgY) y la migración de linfocitos T (Bai et al., 2013).

En otros estudios se ha observado que la adición de probióticos genera estímulo en el desarrollo de órganos linfoides como el timo (Alkhalif et al., 2010) y la bolsa de Fabricio (Teo y Tan, 2007). Esto puede verse modificado por el efecto de las condiciones de estrés y desafío de campo al que fueron sometidos los animales.

Rhee y colaboradores han demostrado que la administración oral de probióticos tienen efecto positivo en el desarrollo del tejido linfoide asociado al intestino o GALT (*gut-associated lymphoid tissue*) en gazapos y que, *B. subtilis* juega un papel clave en comparación con otras bacterias comensales en el desarrollo del GALT, reflejando su papel en la defensa de las superficies mucosas contra los patógenos entéricos (Rhee et al., 2004).

Integridad de la mucosa intestinal

La capa de mucina, es el constituyente principal del intestino con funciones de lubricación y protección. Esta actúa como filtro seleccionador de nutrientes e impide el paso de moléculas y agentes nocivos. También se ha descrito que factores como la fibra en la dieta, la ingesta de treonina y mediadores inflamatorios asociados a la suplementación con microorganismos probióticos, puede contribuir a aumentar la secreción de mucina (Aliakbarpour et al., 2012), debido a que generan estímulo en los genes encargados de desarrollar sus componentes, lo cual contribuye a mantener la integridad de la mucosa intestinal (Caballero-Franco et al., 2007).

La integridad de la barrera intestinal es por medio de las *uniones celulares estrechas*, que consisten en complejos de proteínas compuestos principalmente por claudinas y ocludinas, y que cumplen la función de regular el transporte entre células vecinas. Este proceso interviene en la permeabilidad paracelular de la mucosa. Song y colaboradores (Song et al., 2014), demostraron que la

administración oral de una mezcla probiótica incrementa la concentración de ocludina, lo que conduce a mejorar la integridad de la barrera intestinal.

Disminución del pH intestinal

Las bacterias ácido-lácticas utilizadas como probióticos poseen un metabolismo anaerobio, en el que se fermenta glucosa y se produce ácido láctico, disminuyen el pH intestinal, lo cual dificulta la reproducción y colonización de bacterias patógenas y ayuda a prevenir la generación de lesiones en la superficie de absorción del intestino (Cao et al., 2013).

Acción antioxidante

También se ha reportado que contribuyen a evitar lesiones generadas por sustancias denominadas como *especies reactivas de oxígeno*. Estas sustancias tóxicas de desecho se producen de forma endógena por el metabolismo oxidativo durante la producción de energía. Sin embargo, fuentes exógenas como la contaminación ambiental, el exceso de hierro en la dieta o las infecciones bacterianas llevan a que estas aumenten, lo que genera efectos perjudiciales sobre las células, que comienzan con la inflamación patológica de tejidos y desencadenan necrosis celular (Kullisaar et al., 2012).

Para contrarrestar el efecto de estos tóxicos, el organismo utiliza antioxidantes, como enzimas antioxidantes o las vitaminas C y E. En estudios recientes la microbiota intestinal ha jugado un papel importante en esto, debido a que algunas bacterias, como *Lactobacillus delbruckii*, poseen la capacidad de producir glutatión, que es uno de los principales antioxidantes no enzimáticos involucrados en la defensa contra los radicales libres. Por lo tanto una correcta población de microorganismos entéricos puede contribuir a incrementar las concentraciones de estos antioxidantes no enzimáticos, lo que protege la integridad de los tejidos del intestino (Coskun et al., 2010).

Producción de antimicrobianos

Es considerado uno de los principales mecanismos que inhiben a los microorganismos patógenos dentro del tracto intestinal de las aves. *Bacillus* spp. es conocido por producir gran variedad de antimicrobianos que incluyen bacteriocinas como inhibidores de sustancias (ej. Subtilina, Coagulina), también otros antimicrobianos basados en péptidos y policétidos (ej. Surfactina, Bacilisina, Dificidina y Macrolactina) (Algburi et al., 2016; Cheng et al., 2014).

Todos los mecanismos descritos anteriormente son de gran importancia debido a que promueven la eubiosis y equilibrio de la flora intestinal y mejoran la salud de las aves, ya que ayudan a proteger la pared intestinal; ésta actúa como barrera natural contra bacterias patógenas y sustancias tóxicas presentes en el intestino. La integridad de las criptas y las vellosidades intestinales permiten una correcta absorción de nutrientes suministrados en el alimento (Mountzouris et al., 2010).

EFECTO DE LOS PROBIÓTICOS EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO

Estudios realizados para determinar el efecto de los probióticos en la mucosa intestinal han evidenciado un incremento en el tamaño de las vellosidades del intestino. Pelicano y colaboradores (Pelicano et al., 2004), hallaron que las microvellosidades del yeyuno de aves suplementadas con probióticos hasta el día 21 de edad fueron significativamente ($p < 0.01$) más largas ($230 \mu\text{m}$) comparadas con las que no recibieron suplementación ($200 \mu\text{m}$). Así mismo en otro experimento en el que se suplementaron aves hasta los 42 días de edad, con una mezcla de siete tipos de microorganismos probióticos, se observó efecto significativo ($p < 0,05$) en el aumento del tamaño de las vellosidades del íleon, y pasaron de medir $458,3 \pm 37,45 \mu\text{m}$ a $675,0 \pm 25,0 \mu\text{m}$ (Beski y Al-Sardary, 2015).

Los resultados obtenidos van directamente relacionados a la concentración usada de *Bacillus subtilis* en la dieta, teniendo que, a 200 mg/Kg muestra mejores resultados

reflejados en parámetros productivos como consumo diario de alimento y ganancia diaria de peso comparado a 100, 150, 250 mg/Kg y dieta control. (Zhengua et al., 2017).

Se demostró que la administración de *Eubacterium* spp. logró mejorar la longitud y el espesor de las vellosidades intestinales, además de aumentar el tamaño del yeyuno, lo cual produce una mayor ganancia de peso (Awad et al., 2006).

La adición de *B. subtilis* aumentó el metabolismo aparente de la proteína cruda ($P > 0.05$), grasa cruda ($p > 0.05$) materia seca ($P > 0.05$), materia orgánica, calcio y fósforo ($P < 0.05$) (Zhengua et al., 2017).

Los resultados hallados permiten inferir que los aditivos probióticos no solo poseen la capacidad de aumentar la superficie de absorción y digetibilidad de los nutrientes, sino que también tienen la capacidad de proteger al huésped, lo que mejora consigo el rendimiento productivo de las aves (Díaz-López et al., 2017).

De forma contradictoria, en otros experimentos no se encontraron resultados significativamente diferentes en pollos alimentados con dietas adicionadas con APC y probióticos contra el grupo control (Díaz-López 2017).

La variabilidad de los resultados experimentales para determinar el efecto de los diferentes probióticos sobre los parámetros productivos se puede explicar, en parte, por los diferentes microorganismos utilizados, como probióticos, métodos de cría, condiciones sanitarias y ambientales de los bioensayos (Díaz-López et al., 2017).

EFFECTO DE LOS PROBIÓTICOS EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES

Otra propiedad de las bacterias probióticas ácido-lácticas es la capacidad de producir bacteriocinas, que la inhiben el crecimiento bacteriano patógeno (Darabi et al., 2014). Una de las más comunes es la nisina, ésta ha demostrado efectos positivos en la eliminación de microorganismos patógenos importantes para la avicultura como la *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, por

mencionar algunos (Díaz-López et al., 2017); disminuyendo la concentración de estas enterobacterias en el intestino, lo que evita que generen efectos adversos sobre las aves (Cao GT et al., 2013).

Como lo indican Zhenhua y colaboradores, la adición de *B. subtilis* en las dietas disminuyó el conteo bacteriano de *Escherichia coli* y *Salmonella* en ciegos. La adición de este probiótico a concentración de $(1 \times 10^6 \text{ cfu/g})$ en las dietas también ha demostrado la mitigación de los efectos negativos de la enteritis necrótica (EN) y coccidiosis en todos los parámetros productivos y las lesiones a nivel tisular causadas por esta enfermedad (Tactacan et al., 2013).

Los probióticos han demostrado ser una alternativa viable para controlar desafíos subclínicos que afectan parámetros productivos y clínicos que se ven reflejados en el incremento de la mortalidad en las aves; sin depender de los antibióticos durante el ciclo productivo (Tactacan et al., 2013).

En el desafío con enfermedades virales la contribución de la suplementación probiótica se soporta en la capacidad de estimular al sistema inmune. Este efecto fue observado por Kumar y colaboradores, en cuyo experimento los títulos de anticuerpos contra el virus de la Enfermedad de la Bolsa de Fabricio aumentaron significativamente ($p < 0,05$) (Kumar et al., 2013).

En cuanto a los metabolitos producidos por microorganismos, como en el caso de el deoxinivalenol, producidos por hongos del género *Fusarium*, comúnmente encontrados en el alimento se ha demostrado un efecto que contrarresta las lesiones provocadas por la inhibición de síntesis proteínica y de lesión de tejidos que afecta a vellosidades intestinales y absorción de nutrientes, mejorando la longitud y espesor de las vellosidades intestinales y tamaño del yeyuno (Awad et al., 2006).

Se debe tener en cuenta que la diversidad de los resultados se explica por la variación en la microbiota de los diferentes estudios, además de diferentes dosis, edad de las aves y la porción del intestino sobre la cual se realizó el análisis histológico (Díaz-López et al., 2017).

EFECTO DE LOS PROBIÓTICOS EN LA CALIDAD DE LA CARNE

Se ha demostrado la posibilidad de mejorar las características organolépticas de la carne, ya sea fresca o congelada, como la textura, la jugosidad y apariencia, mediante la inclusión de probióticos en la alimentación de las aves (Molina, 2018).

También tienen efectos sobre las grasas, ya que disminuyen la concentración de fosfolípidos de la carne, el colesterol en la yema de los huevos y reducción de la grasa abdominal de las aves (Král et al., 2013); este efecto se asocia a que algunas bacterias probióticas asimilan el colesterol utilizándolo para su propio metabolismo. Además, algunas cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* son capaces de desconjugar los ácidos biliares, lo que impide su absorción intestinal, por lo que son eliminados en las heces; esto hace que el hígado tenga que volver a sintetizar las sales biliares a partir del colesterol sanguíneo (Gilliland y Walker, 1990).

La calidad microbiológica de la carne es otra característica que puede ser mejorada mediante la adición de probióticos, puesto que reduce el riesgo de infecciones alimentarias por canales contaminadas con enterobacterias, principalmente (Lilly et al., 2011).

JUSTIFICACIÓN

Es bien sabido que los aditivos funcionales no antibióticos promotores del crecimiento, pueden impactar positivamente con mecanismos de acción dirigidos a mejorar la salud intestinal, reflejándose en parámetros productivos de las aves; obteniendo beneficios para el animal, el productor y el consumidor.

Los probióticos como herramientas alternativas que modifican positivamente la salud intestinal han sido estudiados ampliamente en bioensayos, con condiciones controladas de experimentación, lo cual deja un área de oportunidad ante los desafíos de campo, con situaciones únicas en cada región; convirtiéndose en una investigación interesante contemplando el balance financiero a la implementación de esta herramienta funcional.

Por lo que el presente estudio va encaminado a determinar la eficacia de la adición de esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 a las dietas en pollos de engorda Cobb 500 mixto del primer día de edad y hasta los 43 días con el desafío de campo; así como algunos factores bióticos y abióticos que afectan los resultados de los experimentos que evalúan estas herramientas.

HIPÓTESIS

El uso de *Bacillus subtilis* QST 713 bajo condiciones de campo, mantiene los parámetros productivos en pollo de engorda Cobb a 43 días de edad, conservando la integridad de la mucosa intestinal; siendo competitivo económicamente con las opciones implementadas como aditivos promotores de crecimiento.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar bajo condiciones de campo, si la inclusión de *Bacillus subtilis* QST 713 (*Baymix*® *Grobig BS*) en la dieta maíz - soya de pollo de engorda mixto Cobb 500 a 43 días de edad mantiene o mejora los parámetros productivos, comparados con el histórico de la granja, con relación al balance económico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el desempeño productivo de pollos de engorda Cobb 500 en sistema mixto, mediante parámetros productivos a 43 días de edad, alimentados con dietas base maíz - soya adicionada con *B. subtilis* QST 713; siendo:
 - Peso Vivo
 - Ganancia Diaria de Peso
 - Consumo de Alimento
 - Índice de Conversión Alimenticia
 - Índice de Productividad
 - Porcentaje de Mortalidad
 - Porcentaje de Viabilidad
 - Coeficiente de Variación

- Realizar el análisis costo-beneficio de la dieta maíz - soya adicionada con *Bacillus subtilis* QST 713, comparada con APC implementados en los ciclos anteriores.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIALES DE LA PRUEBA

Lugar de estudio

El estudio de campo se llevó a cabo en el municipio de Córdoba, ubicado en el estado de Veracruz; la región posee un clima cálido con una temperatura promedio de 20°C, oscilando entre los 38° y 12°C; su precipitación pluvial media anual es de 1800 mm, presente en verano y principios de otoño, un clima fresco en invierno, ubicado a la altitud de 1030 msnm.

Manejo de animales y alojamiento

Se emplearon 45,012 pollitos de engorda mixtos recién nacidos, de la estirpe Cobb 500 provenientes de una incubadora comercial en Córdoba, Veracruz, en la Figura 1 se aprecia la recepción de las aves.

Las casetas fueron de ambiente natural, rodeadas por vegetación perteneciente a la región; contando con un total de seis casetas de diferentes medidas; diseñadas con techo de lámina sin aislamiento térmico, paredes y pisos con cobertura de cemento, con cortinas de nylon y ventanas cubiertas con malla pajarera (Figura 2). El equipo en iniciación constó de comederos tipo minitolva y comederos de plato, bebederos tipo vitrolero y tipo automático de campana; para crecimiento y finalización se usaron comederos de tipo tolva y bebederos automáticos de campana (Figura 3).

La humedad relativa se mantuvo de 60 a 65% mediante el uso de ventilación natural. El programa de iluminación fue de 24 horas continuas.

En la primera semana del experimento, la temperatura se mantuvo de 32 - 33°C, para ir disminuyendo gradualmente hasta llegar a 22°C, con 2°C por semana hasta el final del experimento.

Durante el experimento el agua fue otorgada *ad libitum*. Se observó el comportamiento de la parvada durante el ciclo productivo.

El calendario de vacunación se llevó a cabo de acuerdo a los requerimiento del estatus sanitario de la zona y planeación de la empresa (Figura 4 y 5).

Trabajo experimental

Se llevaron registros diarios de la mortalidad (Figura 6) y consumo de alimento para el cálculo del porcentaje de mortalidad, viabilidad y consumo acumulado (g), así como el índice de conversión alimenticia (ICA) (g), la ganancia diaria de peso (GDP en g) (en la Figura 8 se aprecia el proceso de pesaje semanal), índice de productividad (IP) e índice de eficiencia (IE) .

Se llevó a cabo el cálculo de uniformidad mediante el coeficiente de variación de los pesos semanales.

Se realizó la medición del pigmento al día 42 de edad con el uso del colorímetro de reflectancia marca MINOLTA CR-400, así como la evaluación de calidad de la cama, presencia de lesiones en patas y limpieza de la pechuga.

Dieta experimental y programa alimentario

La dieta base estuvo compuesta de maíz - soya (Figura 7) adicionada con esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 (*Baymix*® *Grobig BS*) a dosis de 100 ppm. La alimentación y presentación del alimento de las aves será de acuerdo al programa de modulación de alimento de la empresa con agua a libre acceso.

La alimentación de las aves se llevó a cabo en tres fases (iniciación, crecimiento y finalización). El total de la granja se sometió a la misma dieta y el análisis se llevó a cabo contra el historial productivo de la parvada anterior (histórico de la granja).

Parámetros a evaluar

- Variables productivas

La evaluación de este experimento de campo se llevó a cabo durante 43 días, con registros de mortalidad y consumo de alimento diariamente, así como el cálculo de los parámetros productivos como Ganancia Diaria de Peso, Índice de Conversión Alimenticia, Índice de productividad y Coeficiente de Variación.

Para la evaluación del pigmento en canal se realizó una única medición del al día 42 de edad con el uso del colorímetro de reflectancia marca MINOLTA CR-400, midiendo el valor de amarilleamiento (b) en el sistema CieLab.

- Relación Costo - Beneficio

Los parámetros productivos, los costos de inclusión del *Bacillus subtilis* QST 713 a la dieta, así como el precio del pollo vivo a mercado en la región, serán los principales datos para poder establecer la relación costo-beneficio de la presente evaluación en pollo de engorda a 43 días.

RESULTADOS

- Variables productivas

Fueron iniciados 45,012 pollos de engorda Cobb mixtos y alimentados durante 43 días con una dieta base de maíz – soya adicionada con *Bacillus subtilis* cepa QST 713 (*Baymix® Grobig BS*) a dosis de 100 ppm en las tres fases de alimentación (Figura 11, equipo Barrial al final del ciclo).

Los resultados promedio obtenidos y calculados durante los 43 días de experimentación se encuentran resumidos en el Cuadro 2 y en la Figura 13, pudiendo ser evidente el beneficio obtenido en el grupo experimental adicionado con *B. subtilis*, en comparación con el registro histórico de la granja (Figura 9 y 10), obteniendo un peso vivo final por ave de 2.70 Kg, 0.290 Kg mayor; con ganancia diaria de peso de 62.83 gramos por día, aumentando 5.91 g.

Al final del ciclo se registró un consumo acumulado de alimento de 4.73 Kg por ave, siendo mayor 0.16 Kg respectivamente, con un índice de conversión alimenticia de 1.72:1, 0.12 puntos más eficiente numéricamente que el ciclo 78.

El total de aves finalizadas fue de 42,898 con un el porcentaje de mortalidad total de 4.7%, 2.5% menor en el grupo experimental (Figura 11, en el embarque de las aves y Figura 14, comparativo de la mortalidad y aves finales). La uniformidad en la parvada fue variando semanalmente, como se muestra en el Cuadro 3, teniendo en la semana uno el 49.5% y finalizando el ciclo al día 42 con 78.8% de uniformidad.

En el Cuadro 4 se encuentran los datos de la pigmentación promedio medida en las aves en granja mediante el uso de un fotolorímetro de reflectancia al día 42 en 270 aves al azar (30 aves por caseta), teniendo que para el valor de b* (amarillamiento) en machos fue de 16.11 y en hembras de 19.52, promediando 17.81.

- Relación costo-beneficio

De acuerdo con los resultados obtenidos en la evaluación experimental, podemos establecer un cálculo de proyecciones económicas con la adición de *B. subtilis* en pollo de engorda, contemplando los costo de la dieta base compuesta de maíz – soya, costo de

la adición de las esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 (*Baymix*® *Grobig BS*) a dosis de 100 ppm y precio del pollo vivo en la región, ilustrando esto en el Cuadro 5, teniendo que el implementar esta herramienta funcional representa la inversión de \$0.080 pesos por ave al finalizar el ciclo.

En el Cuadro 6 se encuentran los resultados del cálculo de la relación costo – beneficio (c-b), la cual se realizó de acuerdo a los siguientes parámetros productivos:

- Peso promedio por ave (Kg)
- Consumo Acumulado por ave (Kg)
- Índice de Conversión Alimenticia
- Ganancia diaria de peso (g)
- Mortalidad (%)

Con respecto al peso promedio, fue mayor 0.290 Kg por cada ave al final del ciclo, teniendo 12,440.42 Kg ($0.290 \text{ Kg} \times 42,898 \text{ aves} = 12,440.42 \text{ Kg}$) más de peso vivo por el total de la parvada. Estableciendo la relación c – b de 1:6.96, es decir, que por cada \$1.00 invertido se redituan \$6.96 asociados a el peso final obtenido en comparación con el histórico, mediante la siguiente operación:

$$\text{Rel. c – b del peso promedio} = 0.290 \text{ g} \times \$24.00 = \$6.96$$

Considerando que el consumo acumulado por ave fue mayor en 0.160 Kg, teniendo un consumo acumulado final por paravada de 6,863.68 Kg ($0.160 \text{ Kg} \times 42,898 \text{ aves} = 6,863.68 \text{ Kg}$) más en el grupo experimental representó el siguiente costo:

$$\text{Rel. c – b del CA} = 0.160 \text{ Kg} \times \$7.44 = - \$1.1904$$

Para la relación c – b del índice de conversión alimenticia (ICA) se contempló el costo de \$7.44 pesos por Kg de alimento, considerando que fue 0.12 puntos menor en el grupo experimental, dio el resultado de \$12.79 pesos contra \$13.68 del histórico por cada Kg , lo que indica que la eficiencia para producir un kilogramo de carne por ave fue de 1.72:1 en comparación a 1.84:1.

$$\text{Rel. c – b del ICA} = 0.12 \times \$7.44 = \$0.8928$$

En cuanto a la mortalidad registrada se traduce en un beneficio evidente al disminuir en un 2.5 %, dando un total de 1,159 aves más, reflejándose en 3,187.25 Kg ($2.75 \text{ kg} \times 1,159 \text{ aves}$) en peso vivo al final del ciclo, lo que se traduce en:

Rel. c – b de la mortalidad = 1 ave x 2.75 Kg x \$24.00 = \$66.00 por ave

\$ 66.00 x 1,159 aves = \$76,494.00 pesos.

INGRESOS EXTRA CON RESPECTO AL HISTÓRICO

- Mortalidad:
3,187.25 Kg x \$24.00 = \$76,494.00
- Ganancia de peso:
12,440.42 Kg x \$24.00 = \$298,570.08

EGRESOS EXTRA CON RESPECTO AL HISTÓRICO

- Consumo de alimento extra:
6,863.68 Kg x \$7.44 = \$51,065.78
- Adición del *B. subtilis* a la dieta de la parvada por todo el ciclo:
202.90 Ton x \$17.00 = \$3,449.30

BALANCE FINAL

- Ingresos:
\$ 76,494.00
+
\$ 298,570.08

\$ 375,064.08
- Egresos:
\$ 51,065.78
+
\$ 3,449.30

\$ 54,515.08
- Ganancia final:
- \$ 375,064.08
\$ 54,515.08

\$ 320,549.00

- Relación final costo – beneficio:
 $\$ 320,549.00 / \$ 54,515.08 = 5.88$ veces
Relación c – b = 1 : 5.88

Teniendo un beneficio económico total final de \$5.88 pesos por cada \$1.00 peso invertido por ave al incluir el *B. subtilis* QST 713 en la dieta a 100 ppm, durante todo el ciclo en pollos de engorda Cobb 500 mixtos.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se constataron los resultados de sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento por aditivos funcionales como los probióticos. El *B. subtilis* tuvo un desempeño interesante, el cual se discutirá a continuación.

- Variables productivas

La presente evaluación experimental con la adición de *Bacillus subtilis* cepa QST 713 tuvo un desempeño productivo destacable, correspondiente a lo documentado por Zhengua y colaboradores teniendo un aumento en el peso asociado a la mejora del balance en la microbiota intestinal y por consiguiente salud del individuo (Díaz-López et al, 2017; Ducatelle et al., 2018; Bajagai et al., 2016), considerando que la inclusión fue menor en este caso (100 ppm), con respecto a las validaciones anteriormente registradas por diversos investigadores, influyendo directamente las *unidades formadoras de colonia* (cfu) por gramo de producto comercial, teniendo 10^{10} cfu de esporas de *B. subtilis* QST 713 por cada gramo de producto comercial, siendo una opción altamente viable monetariamente.

Considerando todas las características y propiedades biológicas como su alta capacidad de germinación en ambientes adversos como lo es tracto digestivo, resistencia al ácido y álcali, así como termoestabilidad, garantizan la correcta colonización intestinal en una edad temprana propiciando así, la exclusión competitiva, eubiosis intestinal y salud en general de los individuos (Ducatelle et al., 2018; Callaway et al., 2008; Arocena et al., 2017).

El aumento del peso vivo final en 0.290 Kg mayor y la ganancia diaria por arriba de los 60 gramos se pudiera relacionar con la eubiosis intestinal, la integridad de la mucosa (Song et al., 2014) obteniendo una mejor absorción y digestión de los nutrientes presentes en la dieta (Zhengua et al., 2017).

En cuanto al índice de conversión alimenticia a pesar de ser más eficiente numéricamente durante la validación (1:72), también se registró un aumento en el consumo de alimento acumulado por ave, esto justificado por la mejora en la conversión, resultado coincidente

con Dersjant-Li et al. (2015), quienes observaron la correlación directa entre el aumento del consumo de alimento como en la disminución del índice de conversión alimenticia.

La mortalidad juega un papel decisivo en cuanto a la elección de algún aditivo, considerando que se logró disminuir un 2.5% en la población experimental nos da un referente significativo a favor de los probióticos, como lo es el *B. subtilis*, derivado de su mejora en la inmunidad de ave, así como respuesta orgánica ante las condiciones intestinales que se llegaron a presentar durante el ciclo de producción (Cao et al., 2013).

Con respecto a la uniformidad de la parvada, el mantener una uniformidad aceptable durante el ciclo productivo cobra ventaja con mayor incapié al final del ciclo, en donde se obtuvo un 78.8%, es de suma importancia para el mercado introductor contar con productos finales uniformes en la medida de lo posible.

Finalmente, en la medición de la pigmentación no se obtuvo el resultado deseado (17.81 promedio al día 42) con respecto a lo esperado por el mercado de la zona, ya que el valor mínimo aceptable para la zona de Córdoba, Ver. es de 24 puntos en el indicador “b” de amarilleamiento, lo cual es opuesto a lo reportado por Montoya (2019) en donde la adición de aditivos funcionales como los *Bacillus* sp. mantuvo los niveles de pigmentación. Este parámetro es de suma importancia para el consumidor, donde relacionan directamente el grado de pigmentación con la situación sanitaria del ave y calidad de la canal (Bovšková et al., 2014).

Para el análisis y discusión complementario de los presentes resultados se deben de considerar los factores bióticos y abióticos que influyeron directa e indirectamente en este ensayo de campo, tales como el clima de temporada, propicio para un mejor confort térmico de los animales; los programas de medicación establecidos por la empresa como lo fueron la adición de coccidiostato durante 3 días y la implementación de ácidos orgánicos, por mencionar algunos.

- Relación Costo - Beneficio

Es preciso señalar que el presente análisis económico fue realizado conforme a los datos regionales en donde se llevó a cabo dicha validación de campo y que, de acuerdo con los resultados obtenidos en la evaluación experimental y los cálculos económicos

correspondientes, haciendo incapié al peso promedio por ave mayor en 0.290 Kg y disminución en la mortalidad en el grupo experimental al final del ciclo con 4.7%, se obtiene un resultado sobresaliente económicamente, el cual es decisivo para la implementación de alternativas funcionales como lo son los probióticos, siendo que su inversión es de \$0.080 pesos por ave.

El consumo de alimento fue mayor, representando \$1.1904 pesos más por ave, multiplicado por el número total de aves, representa el total de \$51,065.7792 pesos, los cuales se reditan con la mejora en los parámetros productivos en general, como el número de aves producidas hasta el final del ciclo, representando \$66.00 por ave con el precio de venta en la localidad de Córdoba, Veracruz y por el total de aves \$76,494.00 pesos.

Con respecto a la relación c – b final de 1:5.88 se puede inferir que es viable económicamente la inversión de este tipo de herramientas alternativas a los antibióticos convencionales usados como promotores de crecimiento.

CONCLUSIONES

- 1) Bajo las condiciones de campo con la adición de esporas de *Bacillus subtilis* QST 713 en dietas maíz – soya mejoró la ganancia diaria de peso, el índice de conversión alimenticia, peso final por ave y la mortalidad respecto a la parvada anterior.
- 2) La adición a 100 ppm de esporas del *B. subtilis* con 10^{10} cfu produjo resultados deseables, siendo competitivos contra la adición de otros aditivos promotores de crecimiento.
- 3) Los resultados del presente estudio, proporcionan un panorama en donde se pueden obtener resultados competitivos adicionando alternativas funcionales con respecto a las opciones antibióticas utilizadas convencionalmente.
- 4) Es indispensable el replicar este tipo de evaluaciones de campo considerando las condiciones independientes de cada producción para corroborar la eficacia de esta alternativa promotora de crecimiento no antibiótica para poder reafirmar la viabilidad en su inclusión en las producciones actuales.

REFERENCIAS

- Abdur-Rahman AF, Anas A. (2014). *Effect of dietary Bacillus subtilis on heat-stressed broilers performance, intestinal morphology and microflora composition*. Anim Feed Sci Technol. 198: 279-85.
- Algburi A, Volski A, Cugini C, Walsh EM, Chistyakov VA, Mazanko MS, Bren AB, Dicks LMT, Chikindas ML. (2016). *Safety properties and probiotic potential of Bacillus subtilis KATMIRA 1993 and Bacillus amyloliquefaciens B 1895*. Advance in Microbiology, no. May: 432 – 52.
- Aliakbarpour HR, Chamani M, Rahimi G, Sadeghi AA, Qujeq D. (2012). *The Bacillus subtilis and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers*. Asian-Australas. J. Anim Sci. 25 (9): 1285-93. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12110>.
- Alkhalf A, Alhaj M, Al-Homidan, I. (2010). *Influence of probiotic supplementation on immune response of broiler chicks*. Egyptian Poultry Science. 30 (1): 271-80.
- Ardonio SM, Toso RE, Toribio MS, Álvarez HL, Mariani EL, Cachau PD, Mancilla VD, Oriani DS. (2017). *Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo*. Ciencia Veterinaria, Vol. 19, No. 1. 1853-8495. pp.50-66. doi: <http://dx.doi.org/10.19137/cienvet-20171914>.
- Avicultura MX. (2019). *El consumo de pollo creció casi 180% en dos décadas*. [online] Available at: <https://www.avicultura.mx/destacado/El-consumo-de-pollo-en-Mexico-crecio-casi-180%C2%AC-en-dos-decadas> [Accesed 23 Ago. 2019].
- Avicultura MX. (2019). *Veracruz el más productor de pollo en el primer semestre del año*. [online] Available at: <https://www.avicultura.mx/destacado/Veracruz-el-mas-productor-de-pollo-en-el-primer-semestre-del-ano> [Accesed 23 Ago. 2019].

Awad WA, Böhm J, Razzazi-Fazeli E, Ghareeb K, Zentek J. (2006). *Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens*. *Poult Sci.* 85 (6): 974-9. doi: <https://doi.org/10.1093/ps/85.6.974>.

Bai SP, Wu AM, Ding XM, Lei Y, Bai J, Zhang KY, Chio JS. (2013). *Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens*. *Poult Sci.* 2013; 92 (3): 663-70. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02813>

Bajagai, Y.S., A.V.Klieve, P.J.Dart, and W.L. Bryden. (2016). *Probiotics in animal nutrition: Production, impact and regulation paper 179*. FAO Animal Production and Health, Rome, ITA.

Beski SSM, Al-Sardary SYT. (2015). *Effects of dietary supplementation of probiotic and symbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity*. *Int J Poult Sci.* 14 (1): 31-6. doi: <https://doi.org/10.33.82/ps.2013-03455>.

Borja Vilá Enrique, García Esteve, Brufau Joaquim. (2010). *Probiotic Micro-Organisms: 100 Years of Innovation and Efficacy; Modes of Action*. *World's Poultry Science Journal* 65 (3): 369-80. Doi: <http://doi.org/10.1017/S0043933910000474>.

Butaye P., Devriese L. A., Haesebrouck F. (2003). *Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well-known antibiotics on gram-positive bacteria*. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 175–188 10.1128/CMR.16.2.175-188.2003.

Bovšková Helena, Kamila Míková y Zdenka Panovská. (2014), “*Evaluation of egg yolk colour*”. *Czech Journal of Food Sciences* 32 (3): 213 – 17.

Caballero-Franco C, Keller K, De Simone C, Chadee K. (2007). *The VSL #3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells*. *Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 292 (1): G315-22. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00265.2006>.

Callaway TR, Edrington TS, Anderson RC, Harvey RB, Genovese KJ, Kennedy CN, Venn DW, Nisbet DJ. (2008). *Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease*. Anim Health Res Rev. 9 (2): 217-25. doi: <https://doi.org/10.1017/S1466252308001540>

Cervantes Héctor M. (2015). *Impacto de los APC en la resistencia de antibióticos*. Phibro Animal Health Corp., EUA, presentada durante la XL Convención Anual ANECA.

Chaucheyras-Durand, F., and H.M. Durand. (2010). *Probiotics in animal nutrition and health*. Benef. Microbes 11:3-9. doi:10.3920/BM2008

Chávez LA, López A, Parra JE. (2015). *Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas*. BIOGEM, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Arch Zootec. 65 (249): 51-58.8

Cheng G, Haihong H, Shuyu X, Xu W, Menghong D, Lingli H y Zonghui Y. (2014). *Antibiotics alternatives: The substitution of antibiotics in animal husbandry?*. Frontiers in Microbiology 5 (MAY): 1 – 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00217>.

Coskun S, Aslim B, Yuksekdag ZN. (2010). *Effect of two strains of Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus on nitric oxide generation and antioxidant status of rat small intestine*. Med Chem Res. (19): 1082-91. doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2004000300008>.

Darabi P, Goudarzvand M, Natanzi MM, Khodaii Z. (2014). *Antibacterial activity of probiotic bacteria isolated from broiler feces and commercial strains*. Int J Enteric Pathog. 2 (3):e18877.doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00503>.

Department of Health, Richmond House UK. (2013). *Five Year Antimicrobial Resistance Strategy 2013 to 2018*. First Published: September 2013, 79 Whitehall, London SW1A 2NS. www.gov.uk/dh

Dersjant-Li, Y., Van De Belt, K., Van Der Klis, J. D., Kettunen, H., Rinttilä, T. y Awati, A., (2015). *Effect of multi-enzymes in combination with a direct-feed microbial on*

performance and welfare parameters in broilers under commercial production settings. Journal of Applied Poultry Research 24 (1): 80 – 90. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv003>.

Diarra MS, Malouin F. (2014). *Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives.* Front Microbiol. (5):282. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00282>.

Díaz-López, E. A., Ángel-Isaza, Ángel, D. (2017). Probióticos en la avicultura: una revisión. Rev. Med. Vet (35):175-89. doi:<http://dx.doi.org/10.19052/mv.4400>

Dragana S, Hughes RJ. (2014). *Microbiota of chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease.* Appl Microb Biotechnol. 201 (98): 4301-10.

EMA, CVMP, AWP. (2015). *Guideline on the Assessment of the Risk to Public Health from Antimicrobial Resistance Due to the Use of an Antimicrobial Veterinary Medicinal Product in Food-Producing Animals.* 44 (February): 1-18.

Fuller R. (1989) *Probiotics in man and animals.* J Appl Bacteriol.; 66 (5):365-78. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>

Fuller R. (1999). *Probiotics for farm animals.* Probiotics: A Critical Review. G. W., Tannok, ed. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK. 15-22.

Gaggia F, Mattarelli P, Biavati B. (2010). *Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production.* Int J. Food Microbiol. 141(Suppl 1): S15-28. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>.

Galland L. (2009). *Functional foods.* Elsevier Ltd. Guide to nutritional supplements, 1st Edition (pp. 219). Oxford, UK. Elsevier Ltd.

Gao ZH, Zhang XH, He H. (2012). *Endophytic bacterium from mangrove affect performance, nutrient apparent metabolic rates and serum biochemical indexes in yellow feathered broilers.* Chin J Anim Nutri. 2: 78-9.

Gilliland SE, Walker DK. (1990). *Factors to consider when selecting a culture of Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans*. J Dairy Sci. 73 (4): 905-11. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78747-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78747-4).

Hamid THTA, Ezureen E. (2011). *Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian non-broiler chicken (Gallus gallus) intestine with potential probiotic for broiler feeding*. IIUM Engineering Journal. 12 (4): 133-9.

Homes, Alison H, Luke SP, Moore, Arnfinn Sundsfjord, Martin S, Sadie R, Abhilasha K, Philippe JG, Laura JV. (2015). *Understanding the Mechanisms and Drivers of Antimicrobial Resistance*. *The Lancet* 387 (10014): 176-87. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0).

Huda-Fujan N, Abdulamir AS, Fatimah AB, Anas OM, Shuhaimi M, Yazid AM, Loong YY. (2010). *The impact of the level of the intestinal short chain fatty acids in inflammatory bowel disease patients versus healthy subjects*. Open Biochem. J. 13 (4): 53-8. doi: <https://doi.org/10.2174/1874091X01004010053>

Jarman, J. (2018). *Fermentation products*. In: AAFCO, editor, AAFCO 2018 Official publication. AAFCO, Atlanta, GA, USA. p. 384 - 388.

Kabir SML. (2004). *The role of probiotics in the poultry industry*. Int J Mol Sci. 96 (2): 230-43. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms10083531>.

Kalantzopoulos G. (1997). *Fermented products with probiotic qualities*. *Anaerobe*; 3 (2-3): 185-90. doi: <https://doi.org/10.1006/anae.1997.0099>

Král M, Angelovičová M, Alfaig E, Walczykcka M. (2013). *Meat quality of broiler chickens fed diets with Bacillus subtilis and malic acid additives*. Scientific Papers. Animal Science and Biotechnologies. 46 (2): 375-8.

Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M. (2012). *Probiotics and oxidative stress*. En: Lushchak VI, editor. *Oxidative stress. Environmental induction and dietary antioxidants*. Estonia. InTech. doi: <https://doi.org/10.5772/33924>.

Kumar L, Singh PK, Kumar M, Kumar Ch. (2013). *Effect of dietary supplementation of combination of probiotics on the growth performance and immune response of broiler chickens*. Anim Nutri Feed Techn. 13 (1): 15-25.

Lei L, Zhang RJ. (2008). *The research progress of chicken intestinal normal flora*. Chin J Micro. 20 (3): 229-301.

Lescheid DW. (2014). *Probiotics as regulators of inflammation: a review*. FFHD. 4 (7): 299-311.

Leser TD, Knarreborg A, Worm J. (2008). *Germination and outgrowth of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis spores in the gastrointestinal tract of pigs*. J Appl Micro. 104 (4): 1025-33.

Li WF, Bai J, Li YL, Qin Y, Yu DY. (2014). *Effects of Bacillus subtilis on meat quality, nutrient digestibility and serum biochemical index of broilers*. Chin J Vet Sci. 34 (10): 1682-5.

Lilly DM, Stillwell RH. *Growth promoting factor produced by microorganisms*. Science. 1965; 147 (3659):747-8. doi:<https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747>

Lilly KGS, Shires LK, West BN, Beaman KR, Loop SA, Turk PJ. (2011). *Strategies to improve performance and reduce preslaughter Salmonella in organic broilers*. The J Appl Poult Res. 20 (3): 313-32. doi:<https://doi.org/10.3382/japr.2010-00245>.

Magee, J.T., E.L. Pritchard, K.A. Fitzgerald, F.D.J. Dunstan and A.J. Howard. (1999). *Antibiotic prescribing and antibiotic resistance in community practice: retrospective study*. 1996-8. British Medical Journal. 319: 1239-1240.

Markowiak, P., and K. Śliżewska. (2018). *The role of probiotics, prebiotics and symbiotics in animal nutrition*. Gut Pathog. 10:21. doi:10.1186/s13099-018-0250-0

Matsuzaki T, Chin J. (2000). *Modulating immune responses with probiotic*. Immunol Cell Biol. 78 (1): 67-73. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2000.00887.x>

Molina, A. (2018). *Probióticos y su mecanismo de acción en alimentación animal*. [en línea] Scielo. Disponible desde: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212019000200601&lang=es [consultado el 2 de diciembre de 2019].

Mountzouris KC, Tsitrsikos P, Palamidi I, Arvaniti A, Mohnl M, Schatzmayr G, Fegeros K. (2010). *Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition*. Poult Sci; 89 (1): 58-67. doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00308>

Neira Solís C. (2016). *Microbiota en huevos y derivados: identificación y desarrollo*. [Trabajo de fin de Máster]. Universidad de Oviedo. MBta.

O'Brien T. F. (2002). *Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere Else, in The Need to Improve Antimicrobial Use in Agriculture: Ecological and Human Health Consequences*. eds Barza M. D., Sherwood L. G., editors. (Chicago, IL: The Chicago University Press;), S78–S84.

Ohimain Elijah I., Ofongo Ruth TS. (2012). *The Effect of Probiotic and Prebiotic Feed Supplementation on Chicken Health and Gut Microflora: A Review*. International Journal of Animal and Veterinary Advances 4 (2): 135 - 43.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria* [internet]. (2001) [consultado 10 de Enero de 2020]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>

Pelicano ERL, De Souza PA, De Souza HBA, Leonel FR, Zeola NMBL, Boiago MM. (2001). *Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters*. Rev Bras Cienc Avi. 6 (3): 177-82. doi: <https://doi.org/10.3923/ijps.2015.31.36>.

Qin Y. (2009). *Effect of Bacillus subtilis on growth performance of broilers and its approach to mechanism* [Master Degree Thesis Dissertation]. Zhejiang University.

Rhee KJ, Sethupathi P, Driks A, Lanning DK, Knight KL. (2004). *Role of commensal bacteria in development of gut-associated lymphoid tissues and preimmune antibody repertoire*. J. Immunol. 172: 1118-1124.

SIAP, SAER. (2019). *Expectativas agroalimentarias 2019*. [online] Available at: <https://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/Brochure%20Expectativas%202019.pdf> [Accesed 24 Ago. 2019].

Solis de los Santos F., Farnell MB, Tellez G, Balog JM, Anthony NB, Torres-Rodríguez, Higgins A, Hargis BMS, Donoghue AM (2005). *Effect of Prebiotic on Gut Development and Ascites Incidence of Broilers Reared in a Hypoxic Environment*. Poult Sci 84 (7): 1092 - 1100.

Song J, Xiao K, Ke LY, Jiao LF, Hu CH, Diao QY, Shi B, Zou XT. (2014). *Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress*. Poult Sci. 93 (3): 581-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.04.005>.

Tactacan GB, Schmidt JK, Miille MJ, Jiménez DR. (2013). *A Bacillus subtilis (QST 713) spore-based probiotic for necrotic enteritis control in broiler chickens*. J. Appl. Poult. Res. 22: 825-831. doi: <http://dx.doi.org/10.3382/japr.2013-00730>.

Tannok GW, Munro K, Harmsen HJ. (2000). *Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing Lactobacillus rhamnosus DR20*. Appl Envir Micro. 66: 2578-88.

Teo AY, Tan HM. (2007). *Evaluation of the performance and intestinal gut microflora of broilers fed on corn-soy diets supplemented with Bacillus subtilis PB6 (CloS-TAT)*. J. Appl Poult Res. 16 (3): 296-303. doi: <https://doi.org/10.1093/japr/16.3.296>.

Tom V, Geert H, Evie D. (2004). *Temporal stability and analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers*. FEMS Micro Ecolo. 48 (3): 437-46.

Torres C, Zarazaga M. (2002). *Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino?*. [online] Scielo.isciii.es. Available at: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-91112002000200002&lang=es [Accessed 2 Dec. 2019].

Unión Nacional de Avicultores. (2018). *Situación de la avicultura mexicana*. [online] Available at: <https://www.una.org.mx/index.php/panorama/situacion-de-la-avicultura-mexicana> [Accessed 21 Jul. 2019].

Vinderola CG, Medici M, Perdigón G. (2004). *Relationship between interaction sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell call protein profiles in indigenous and exogenous bacteria*. J Appl Microbio. 96 (2): 230-43. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2004.02158.x>

Wang XX, Yi ZH, Ji C, Ma QG, Chen XD. (2006). *Effects of fructo oligosaccharide and Bacillus subtilis on intestinal microflora fecal emission of ammonia and sulfured hydrogen and nutrient availability in broilers*. Acta Veterinaria Zootech Sin. 37 (4): 337-41.

Wei YH. (2009). *The effect of adhesion with probiotic on E-coliO78 in chicken digestive tract* [Master Degree Thesis Dissertation]. Northeast Agricultural University.

Who.int. (2019). *Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la propagación de la resistencia a los antimicrobianos*. [online] Available at: <https://www.who.int/es/news-room/detail/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance> [Accessed 2 Dec. 2019].

World Health Organization. (2014). *Antimicrobial Resistance: Global report on surveillance*. Geneva, Bb. 500.

Xiang F, Xu CH. (2009). *Development of lactic acid bacillus in animal husbandry*. J Anim Sci Vet Med. 1(42): 44.

Yirga, H. (2015). *The use of probiotics in animal nutrition*. J. Probiotics Health 3:132. doi:10.4172/2329-8901.1000132

Zhengua G, Hao W, Lin S, Xiaohui Z, Ran S, Fuquan Y. (2017). *Study of Bacillus subtilis on growth performance, nutrition metabolism and intestinal microflora of 1 to 42 d broiler chickens*. Animal Nutrition. (3) 109-113. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2017.02.002>.

Zhou LQ, Lan YY, Xu CS, Qi FH, Li WZ. (2012). *Effect of Bacillus subtilis on growth performance and nutrient metabolic rate in yellow broilers*. Chin Anim Hus Vet. 39 (2):71-4.

CUADROS

Cuadro 1. Microorganismos permitidos en alimentos para animales por la Asociación Americana de Oficiales de Control de Alimentos para Animales. Modificado de la publicación Jarman (2018).

Microorganismos

Hongo filamentoso	Bacterias Gram +, no formadora de esporas
<i>Aspergillus Niger</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>
Levadura	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
Bacterias Gram +, formadora de esporas	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>
<i>Bacillus lentus</i>	<i>Enterococcus cremoris</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Enterococcus diacetylactis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
Bacterias Gram -, no formadoras de esporas	<i>Enterococcus intermedius</i>
<i>Bacteriodes amylophilus</i>	<i>Enterococcus lactis</i>
<i>Bacteriodes capillosus</i>	<i>Enterococcus thermophilus</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Bacteriodes suis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
<i>Megasphaera elsdenii</i> (solo ganado)	<i>Lactobacillus buchneri</i> (solo en ganado)
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>

Lactobacillus cellobiosus

Lactobacillus curvatus

Lactobacillus delbruekii

Lactobacillus farciminis (solo en cerdos)

Lactobacillus fermentum

Lactobacillus helveticus

Lactobacillus lactis

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus reuteri

Leuconostoc mesenteroides

Pediococcus acidilacticii

Pediococcus cerevisiae (*damnosus*)

Pediococcus pentosaceus

Propionibacterium acidipropionici (solo ganado)

Propionibacterium freudenreichii

Propionibacterium shermanii

Cuadro 2. Comparativo de parámetros productivos utilizando antibiótico promotor de crecimiento y *Bacillus subtilis* cepa QST 713, en pollos Cobb mixtos a 43 días de edad.

PRUEBA EXPERIMENTAL B. SUBTILIS

COMPARATIVO DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS CICLO 78 Y 80			
Parámetro	Resultado		Diferencia
<i>Ciclo</i>	Histórico 1 (78)	Prueba	-
		Experimental B.S. (80)	
<i>Sexo</i>	H/M	H/M	-
<i>No. aves iniciadas</i>	44,975	45,012	+ 37
<i>No. bajas</i>	3,236	2,114	- 1,122
<i>No. aves finalizados</i>	41,739	42,898	+ 1,159
<i>Total de alimento consumido (Kg)</i>	191,170.00	202,907.50	+ 11,737.50
<i>Promotor de Crecimiento/Salud Intestinal</i>	BMD 250 g/Ton	B. subtilis 100 g/Ton	-
<i>Edad (días)</i>	43.29	43	-
<i>Peso promedio (Kg)</i>	2.46	2.75	+ 0.290
<i>Consumo acumulado por ave (Kg)</i>	4.57	4.73	+ 0.160
<i>Índice de conversión alimenticia</i>	1.84	1.72	- 0.12
<i>Ganancia diaria de peso (g)</i>	56.92	62.83	+ 5.91
<i>Mortalidad (%)</i>	7.20	4.70	- 2.5
<i>Índice de productividad</i>	285.07	346.11	+ 61.04
<i>Biomasa final (Kg/m²)</i>	25.07	28.62	+ 3.55
<i>Densidad de Población (Aves iniciales/m²)</i>	10.93	10.94	+ 0.01

Cuadro 3. Coeficiente de variación por semana, uniformidad de acuerdo al manual Cobb 500.

<i>Semana</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estandar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Uniformidad (%)</i>
S1	168.79	26.26	15.56	49.5
S2	518.90	41.86	8.07	78.8
S3	939.51	90.48	9.63	68.3
S4	1,493.82	149.74	9.98	68.3
S5	2,150.73	230.81	9.32	73.3
S6	2,749.53	347.63	7.91	78.8

Cuadro 4. Resultados de la medición del pigmento en vivo en granja promedio al día 42, realizado con el fotocolorímetro de reflectancia Minolta CR-400.

<i>Caseta</i>	<i>Sexo</i>	<i>Promedio Pigmento</i>	<i>D.E.</i>
5	H	17.93	4.16
5	M	15.95	3.83
6	M	16.09	4.01
7 C	H	-	-
7 C	M	16.07	3.82
7 L	H	-	-
7 L	M	14.49	3.6
8	H	20.18	3.14
8	M	17.99	3.31
9	H	20.46	2.79
9	M	17.46	3.11

Cuadro 5. Proyección económica de la adición del *B. subtilis*.

Indicador	Resultado
<i>Indicación de uso</i>	Durante todo el ciclo (0 - 43 días)
<i>Dosis recomendada</i>	100 gramos / tonelada de alimento
<i>Costo MXN / Kg de alimento (m – s)</i>	\$ 7.44
<i>Costo MXN / Kg B. subtilis</i>	\$ 170.00
<i>Costo MXN / Ton de alimento tratada</i>	\$ 17.00
<i>Consumo / ave a 43 días</i>	4.73 Kg
<i>Costo MXN inversión B. subtilis / ave</i>	$(\$ 17.00 / 1,000) \times 4.73 \text{ Kg} = \$ 0.080$
<i>Precio pollo en pie MXN / Kg</i>	\$ 24.00

Cuadro 6. Balance económico de la adición de *B. subtilis*.

Parámetro	Hist. de la granja	Experimental con B. subtilis	Diferencia	C – B	Balance MXN/ave
<i>Peso promedio / ave</i>	2.46 kg	2.75 kg	+ 0.290 kg	1 : 6.96	+ 6.96
<i>Consumo acumulado por ave</i>	4.57 kg	4.73 kg	+ 0.160 kg	1 : - 1.1904	- 1.1904
<i>Índice de conversión alimenticia</i>	1.84	1.72	- 0.12	1 : 0.8928	+ 0.8928
<i>Ganancia diaria de peso</i>	56.92 g	62.83 g	+ 5.91 g	1 : 1.14	+ 1.14
<i>Mortalidad</i>	7.20 %	4.70 %	- 2.5 %	1 : 66	+ 66.00

**ANEXO 1:
FIGURAS**



Figura 1. Recepción de pollitos, día 1.



Figura 2. Instalaciones donde se realizó la presente evaluación de campo.



Figura 3. Interior de las naves con el respectivo equipo indispensable.



Figura 4. Vacunación de ENC e Influenza Aviar H5.



Figura 5. Vacunación IBD en agua de bebida.



Figura 6. Conteo y registro de mortalidad diaria.



Figura 7. Dieta maíz – soya adicionada con *B. subtilis*.



Figura 8. Pesaje semanal para cálculo de uniformidad de parvada, a los 5 días y 18 días de vida.



Figura 9. Parvada caseta 8 al día 15 de edad.



Figura 10. Parvada caseta 8 al día 37 de edad.



Figura 11. Equipo de Granja Barrial al final del ciclo. De izquierda a derecha, Don Sirino, Don Francisco y Doña Mago, Beto y Mari, Gordo y Boyé.

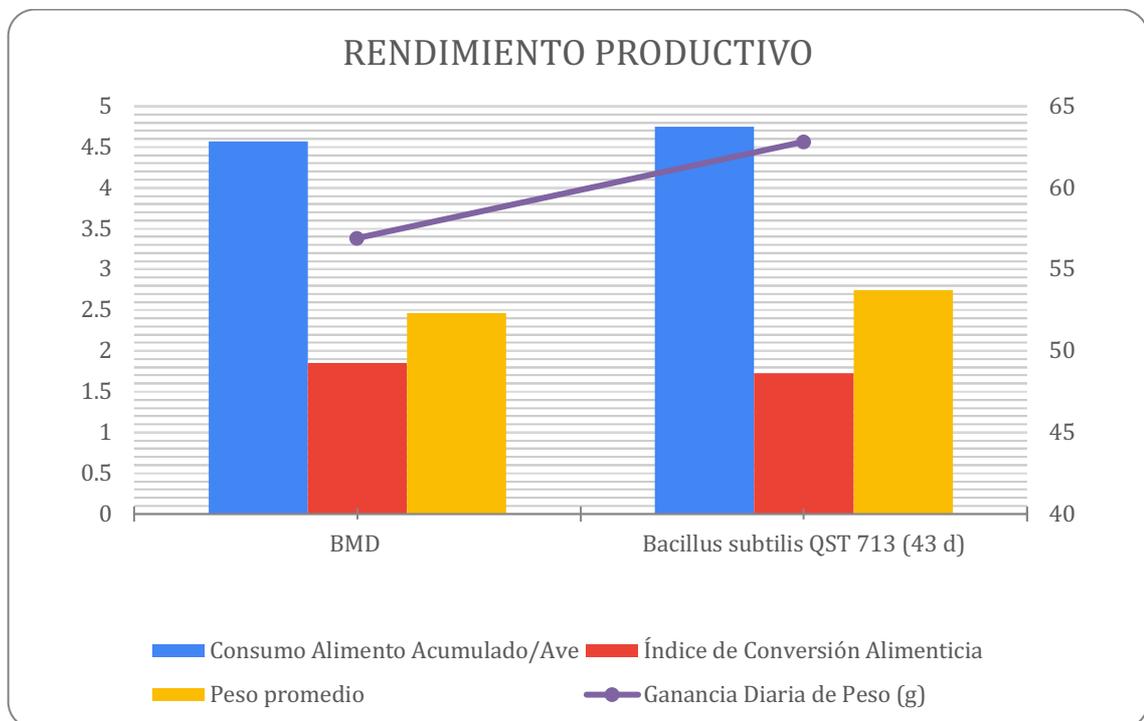


Figura 12. Comparación de parámetros productivos con los respectivos promotores de crecimiento usados.



Figura 13. Final del ciclo al día 42 y embarque de las aves.

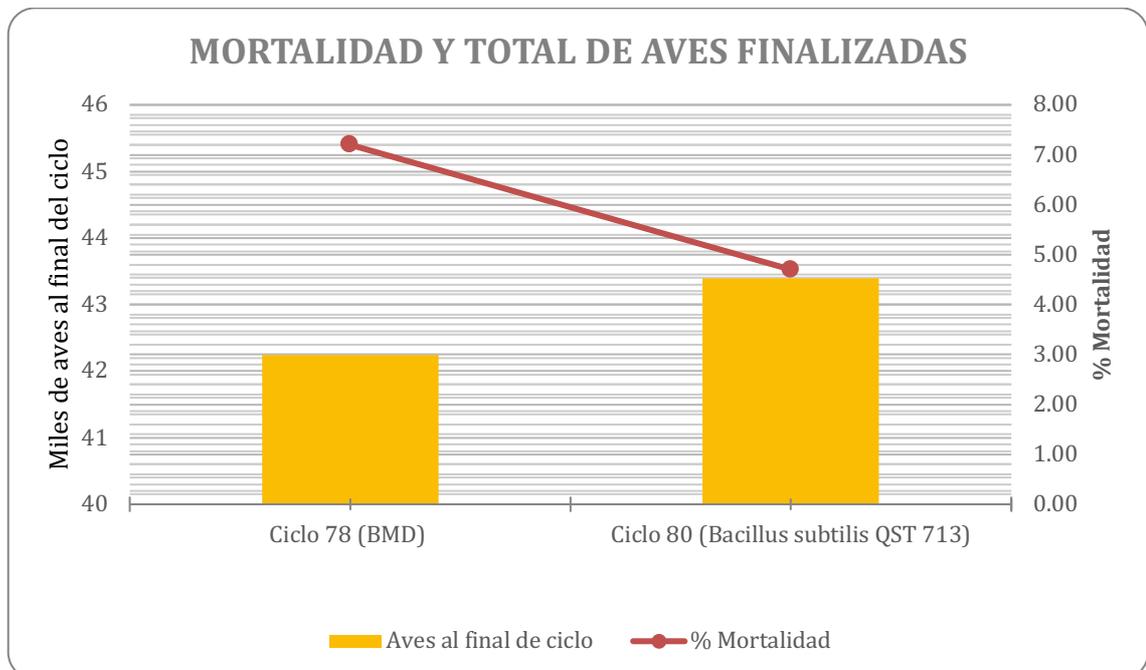


Figura 14. Comparativo de la mortalidad y aves finalizadas.