



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

**“EVALUACIÓN DE EUBIÓTICOS EN POLLOS DE ENGORDA Y SU**  
**EFFECTO EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y SALUD INTESTINAL”**

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

**PRESENTA**  
**OSIRIS NAPOLEÓN PÉREZ SEGURA**

**TUTOR**  
**ARTURO CORTES CUEVAS (FMVZ-UNAM)**

**COMITÉ TUTORAL**  
**ERNESTO ÁVILA GONZÁLEZ (FMVZ-UNAM)**  
**JOSÉ ARCE MENOCA (FMVZ- UMSNH)**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX.

Agosto, 2022



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 mi abuelita Leonor Bailón Peña, por todo tu amor, cariño y apoyo que me has brindado en todos estos años.*

*A mi madre Celia Segura Bailón y a mi tía Lilia Segura Bailón, porque siempre me han impulsado a seguir adelante y cumplir con todos mis sueños. Gracias por la educación y valores impartidos para ser una mejor persona día con día. ¡Las Amo!*

*A Ana Karen Almazán Sánchez, quien ha estado a mi lado en esta etapa de mi vida, apoyándome en todas mis decisiones. Gracias por tu paciencia, ayuda, y consejos brindados para superar todos esos momentos difíciles.*

*A mi Oso, que siempre has estado a mi lado y que con tus travesuras y ocurrencias me alegras el día, dándome motivos por seguir mejorando cada día en esta hermosa profesión. ¡Gracias, mi amigo fiel!*

*A mis tíos Víctor Segura Bailón, Rutilo Segura Bailón e Ignacia Huicochea Rodríguez, por brindarme su apoyo, comprensión y consejos para seguir superándome día con día.*

*A mi primo Dante Giovanni Gutiérrez Segura, por sus consejos y apoyo brindado durante mis estudios.*

*A Martín Beltrán Lara, por el apoyo que me has dado con la finalidad de superarme y ser mejor cada día.*

*¡Gracias totales!*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme pertenecer a esta hermosa Universidad.*

*A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por la formación académica recibida, conociendo excelentes profesores y amigos.*

*Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv), por permitirme desempeñarme académica y profesionalmente en este grandioso lugar.*

*Al Dr. Ernesto Ávila González por brindarme su confianza, apoyo y consejos para la realización de esta investigación, teniendo siempre presente sus conocimientos y la calidad humana que lo caracteriza, sin ello no hubiera podido haber logrado todo lo alcanzado hasta este momento.*

*Al Dr. Jose Arce Menocal por creer y ser partícipe de este proyecto, así como por los consejos, apoyo y tiempo brindado. De antemano muchas gracias.*

*Al Dr. Arturo Cortes Cuevas por la aceptación y la confianza al ser mi tutor, además de su amistad, conocimientos y consejos brindados con la finalidad de dar lo mejor de uno.*

*Al Dr. Ezequiel Sánchez Ramírez y a la Dra. Elizabeth Posadas Hernández por todo lo brindado tanto en el ámbito profesional como en lo personal. ¡Muchas Gracias!*

*Al Dr. Jorge Miguel Iriarte y a la Dra. Alma Selene Vázquez Delgado porque en ustedes encontré una grandiosa amistad y apoyo incondicional para cada uno de mis proyectos personales y profesionales.*

*A los doctores del CEIEPAv quienes me han brindado su amistad, conocimientos, confianza y apoyo para seguir creciendo profesionalmente: Dra. Ma. Del Pilar Castañeda S., Dra. Diana Patricia R., Dr. David Ramos V., Dra. Itzetl Monsserrat Martínez C. y Dr. Tomás Jínez M.*

*Al Dr. Lorenzo Tlacumulco de la empresa VyQ de México SA de CV., por el apoyo y las facilidades prestadas para la realización de la presente investigación.*

*Al Ing. Silvestre Chárraga de la empresa DSM, por la donación del fitobiótico empleado en la presente investigación.*

*A la Dra. Gabriela Gómez Verduzco por su amistad, consejos y apoyo brindado durante toda mi carrera profesional. ¡Se le aprecia y estima mucho!*

*A la Dra. Mireya Juárez Ramírez por el apoyo en la toma, procesamiento y análisis de las muestras.*

*A la Dra. Melanie Margarito Romero por su ayuda y consejos en la realización de la investigación.*

*A mis amigos Itahy Santiago, Betzabe Ugalde, Eduardo Velázquez, Alfredo Herrera, Iván Sierra y Miguel Nidome por su apoyo, consejos y compañía en esta etapa de mi vida.*

*A los servicios sociales del CEIEPAv, quienes me ayudaron en la realización de mi investigación y sobre todo por la amistad brindada de su parte: Diana Solano, Anahí Mendoza, Mariana Aguilera, Erandi Barrera, Ivanna Martínez, Fernanda García, Monserrat Cruz, Luis Ortiz.*

## RESUMEN

OSIRIS NAPOLEÓN PÉREZ SEGURA. Evaluación de eubióticos en pollos de engorda y su efecto en el rendimiento productivo y salud intestinal. (Bajo la dirección de Dr. Arturo Cortés Cuevas, Dr. Ernesto Ávila González y Dr. José Arce Menocal)

En años recientes, ha existido una presión creciente e irreversible por parte de los consumidores a eliminar el uso de antibióticos empleados para el tratamiento y prevención de enfermedades, así como su utilización como promotores de crecimiento (APC) en la producción avícola y ganadera, debido a la cantidad de residuos que pudiera contener su carne y la posible aparición de una resistencia bacteriana. La búsqueda de alternativas naturales para sustituir a los APC se ha intensificado rápidamente a nivel mundial, por tal razón se realizó la siguiente investigación con la finalidad de evaluar la inclusión de diferentes eubióticos comerciales en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda y su efecto en el rendimiento productivo y salud intestinal. Se utilizaron 1000 pollos machos de la estirpe Ross 308 de 1 a 42 días de edad. Se empleó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos con 8 repeticiones de 25 pollos cada una. Los tratamientos fueron los siguientes: T1. Dieta basal sin APC (CON), T2. Como 1 + Enradin® (Enramicina 10 ppm) (100 g/ton) (ENR), T3. Como 1 + Probion-forte® (*Bacillus subtilis*  $1 \times 10^8$  UFC/g, *Bacillus coagulans*  $1 \times 10^8$  UFC/g y *Clostridium butyricum*  $1 \times 10^6$  UFC/g (300 g/ton) (PF), T4. Como 3 + EndoBan® (silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas) (500 g/ton) (EB+PF) y T5. Como 1 + CRINA® Poultry Plus (mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP). Los resultados obtenidos en peso vivo, ganancia de peso y conversión alimenticia indicaron diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos con eubióticos comerciales versus el tratamiento CON. En el porcentaje de rendimiento de canal caliente y fría no se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos; sin embargo, en el peso de las canales se obtuvo diferencia ( $p < 0.05$ ), con mayor peso de las canales en los tratamientos con eubióticos en comparación con el grupo CON. Los pollos suplementados con PF presentaron un mayor ( $p < 0.05$ ) enrojecimiento de la canal caliente y fría respecto al resto de los tratamientos, mientras que el amarillamiento de las canales, tanto caliente como fría fueron similares ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos. Los tratamientos suplementados con eubióticos mostraron mayor altura de las vellosidades y grosor de la mucosa en duodeno ( $p < 0.05$ ) en comparación con el tratamiento control, mientras que el grupo con EB+PF presentaron ( $p < 0.05$ ) vellosidades más largas y un grosor de la mucosa superior en yeyuno e íleon. El tratamiento con CPP presentó una profundidad de las criptas mayor ( $p < 0.05$ ) en duodeno y yeyuno, pero una relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta menor ( $p < 0.05$ ) en dichas porciones. El tratamiento con PF tuvo mayor ( $p < 0.05$ ) relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta en duodeno e íleon, mientras que el grupo con EB+PF la obtuvo en yeyuno. Los pollos suplementados con PF mostraron conteos de leucocitos, heterófilos y monocitos superiores ( $p < 0.05$ ) respecto a los demás tratamientos. En conclusión, la suplementación dietética en pollos de engorda con los diferentes eubióticos comerciales, tuvo un efecto benéfico en los parámetros productivos, rendimiento y pigmentación de la canal, así como una mejora en la salud intestinal, con resultados similares a los obtenidos con el APC enramicina. Razón por la cual, los eubióticos Probion-forte®, EndoBan® + Probion-forte® y CRINA® Poultry Plus pueden utilizarse como una alternativa a los APC en dietas para de pollos de engorda sin afectar el rendimiento productivo, pigmentación de la piel y la salud intestinal.

Palabras clave: eubióticos, probióticos, fitobióticos, rendimiento productivo, salud intestinal.

## ABSTRACT

In recent years, there has been a growing and irreversible pressure from consumers to eliminate the use of antibiotics used for the treatment and prevention of diseases, as well as their use as growth promoters (AGP) in poultry and livestock production, due to the number of residues that their meat could contain and the possible appearance of bacterial resistance. The search for natural alternatives to replace AGPs has rapidly intensified worldwide, for this reason the following research was carried out to evaluate the inclusion of different commercial eubiotics in sorghum-soybean meal diets for broilers and their effect on productive performance and intestinal health. 1000 male broilers of the Ross 308 strain from 1 to 42 days of age were used. A completely randomized design with 5 treatments with 8 repetitions of 25 broilers each was used. The treatments were the following: T1. Basal diet without AGP (CON), T2. As 1 + Enradin® (Enramycin 10 ppm) (100 g/ton) (ENR), T3. As 1 + Probion-forte® (*Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> CFU/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> CFU/g and *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> CFU/g (300 g/ton) (PF), T4. As 3 + EndoBan® (specific silicates, mixture of aromatic substances and red algae) (500 g/ton) (EB+PF) and T5. As 1 + CRINA® Poultry Plus (benzoic acid, thymol, eugenol and piperine mixture (300 g/ton) (CPP). The results obtained in live weight, weight gain and feed conversion indicated a statistical difference ( $p < 0.05$ ) between the treatments with commercial eubiotics versus the CON treatment. In the percentage of hot and cold carcass yield no differences were found ( $p > 0.05$ ) between treatments, however, in carcass weight a difference was obtained ( $p < 0.05$ ), with greater carcass weight in eubiotics treatments compared to the CON group, broilers supplemented with PF presented a greater ( $p < 0.05$ ) redness of the hot and cold carcass with respect to the rest of the treatments, while the carcass yellowing, both hot and cold, were similar ( $p > 0.05$ ) between treatments. The treatments supplemented with eubiotics showed greater villus height and thickness of the mucosa in the duodenum ( $p < 0.05$ ) compared to the control treatment, while the group with EB+PF presented ( $p < 0.05$ ) longer villi and upper mucosa thickness in the jejunum and ileum. The treatment with CPP showed greater crypt depth ( $p < 0.05$ ) in the duodenum and jejunum, but a lower villus length: crypt depth ratio ( $p < 0.05$ ) in these portions. The PF treatment had a higher ( $p < 0.05$ ) villus length: crypt depth ratio in the duodenum and ileum, while the EB+PF group obtained it in the jejunum. The broilers supplemented with PF showed higher leukocyte, heterophil and monocyte counts ( $p < 0.05$ ) compared to the other treatments. In conclusion, dietary supplementation in broilers with different commercial eubiotics had a beneficial effect on production parameters, yield and carcass pigmentation, as well as an improvement in intestinal health, with results like such as those obtained with AGP enramycin. For this reason, the eubiotics Probion-forte®, EndoBan® + Probion-forte® and CRINA® Poultry Plus can be used as an alternative to AGPs in broiler diets without affecting productive performance, skin pigmentation and gut health.

Keywords: eubiotics, probiotics, phytobiotics, productive performance, intestinal health.

## CONTENIDO

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT	V
CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Situación mundial de la industria avícola	3
Situación nacional de la industria avícola	3
Uso de APC en la avicultura	3
Resistencia a los antimicrobianos	5
Prohibición de los APC	7
Alternativas nutrimentales al uso de antibióticos	8
Eubióticos como alternativas a los APC	8
Probióticos	9
Mecanismo de acción de los probióticos	10
Factores que afectan la efectividad de los probióticos	14
Probióticos del género Bacillus	15
Probióticos del género Clostridium	17
Fitobióticos	17
Metabolitos secundarios	18
Mecanismos de acción de los fitobióticos	20
Factores que afectan la efectividad de los fitobióticos	24
Combinación de fitobióticos con ácidos orgánicos	24
Salud intestinal	25
Biomarcadores usados como indicadores de salud intestinal	26
JUSTIFICACIÓN	28
HIPÓTESIS	29
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
MATERIAL Y MÉTODOS	31
Manejo de los animales	31
Tratamientos	31
Mediciones experimentales	32
Análisis estadístico	34
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	53
ABREVIATURAS Y SIGLAS	54
BIBLIOGRAFÍA	56
CUADROS	71
FIGURAS	85

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Microorganismos comúnmente utilizados en aves como probióticos. _____	<b>71</b>
<b>Cuadro 2.</b> Ejemplos de diferentes hierbas usadas como fitobióticos, partes que se utilizan y sus principales componentes activos. _____	<b>72</b>
<b>Cuadro 3.</b> Número de repeticiones por tratamiento, número de aves por repetición y número de aves por tratamiento. _____	<b>73</b>
<b>Cuadro 4.</b> Composición y análisis calculado de la dieta basal de iniciación para pollo de engorda (1-10 días de edad). _____	<b>74</b>
<b>Cuadro 5.</b> Composición y análisis calculado de la dieta basal de crecimiento para pollo de engorda (11-21 días de edad). _____	<b>75</b>
<b>Cuadro 6.</b> Composición y análisis calculado de la dieta basal de finalización para pollo de engorda (22-42 días de edad). _____	<b>76</b>
<b>Cuadro 7.</b> Resultados promedio de parámetros productivos en pollos de 42 días de edad alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>77</b>
<b>Cuadro 8.</b> Resultados promedio de rendimiento de la canal en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>78</b>
<b>Cuadro 9.</b> Resultados promedio obtenidos de pigmentación de la piel en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>79</b>
<b>Cuadro 10.</b> Datos promedio obtenidos de longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>80</b>
<b>Cuadro 11.</b> Resultados promedio obtenidos de longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>81</b>
<b>Cuadro 12.</b> Datos promedio obtenidos de la relación longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 y 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>82</b>
<b>Cuadro 13.</b> Resultados promedio obtenidos del grosor de la mucosa intestinal en duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 y 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>83</b>
<b>Cuadro 14.</b> Datos promedio obtenidos del análisis celular por medio de un hemograma en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos. _____	<b>84</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figuras 1 - 10.** Fotomicrografías de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas duodenales en pollos de 21 días de edad. \_\_\_\_\_ **85**
- Figuras 11 - 20.** Cortes histológicos de vellosidades y criptas intestinales de yeyuno en pollos de 21 días de experimentación alimentados con diferentes eubióticos comerciales. \_\_\_\_\_ **87**
- Figuras 21 - 30.** Imágenes de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas de íleon en pollos alimentados con distintos eubióticos comerciales al día 21 de edad. \_\_\_\_\_ **89**
- Figuras 31 - 40.** Fotomicrografías de vellosidades y criptas intestinales de duodeno en pollos alimentados con diferentes eubióticos comerciales al día 42 de experimentación. \_\_\_\_\_ **91**
- Figuras 41 - 50.** Cortes histológicos de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas intestinales de yeyuno en pollos de 42 días de edad. \_\_\_\_\_ **93**
- Figuras 51 - 60.** Imágenes de vellosidades y de criptas intestinales de íleon en pollos de 42 días de edad alimentados con distintos eubióticos comerciales. \_\_\_\_\_ **95**

## INTRODUCCIÓN

Debido al incremento anual de la población mundial, se prevé que para el 2050 haya cerca de 9,100 millones de personas, lo que significa un aumento en la producción de alimentos en un 70% para satisfacer las necesidades de alimentación de dicha población (FAO, 2009), para lo cual la industria avícola tiene el potencial y la capacidad de transformar el alimento en proteína animal para abastecer dicha demanda.

La avicultura, durante los últimos 50 años ha evolucionado en gran medida en áreas como nutrición, genética, manejo y bioseguridad, permitiendo obtener un mejor desarrollo de la expresión del potencial genético de las parvadas, sin embargo, se enfrenta constantemente el reto de mantener una productividad eficiente con la presión de disminuir el uso de antibióticos empleados para el tratamiento y prevención de enfermedades, así como su utilización como promotores de crecimiento (Sumano y Gutiérrez, 2010; Payawal, 2017).

Actualmente, existe una protesta creciente e irreversible por parte de los consumidores para eliminar esta práctica de la producción avícola y ganadera, debido a la cantidad de residuos que llegan a contener en la carne de los animales, además de alterar la microbiota intestinal y la aparición de cepas bacterianas resistente a antibióticos terapéuticos (Edens, 2003; Gutiérrez et al., 2013).

Por tal razón, diversos países han restringido y prohibido el uso indiscriminado de antibióticos promotores de crecimiento (APC) en la producción animal, siendo Suecia en 1986 el primer país que cambio sus leyes de su uso, mientras que en el 2006 la Unión Europea impuso una prohibición completa de todos los APC en la alimentación animal, así como, la prescripción médica a través de un Médico Veterinario del uso de antibióticos en forma terapéutica (Cepero, 2006; Salim et al., 2018).

En cuanto al Continente Americano, Estados Unidos ha disminuido significativamente la utilización general de antibióticos, así como su uso como promotores de crecimiento en la producción industrial de alimentos, lo que trajo consigo, que a partir del 2017 alrededor del 40% de la alimentación en sus granjas esté libre de antibióticos en el marco de los programas “Raised Without Antibiotics” y “No Antibiotics Ever” (Gadde et al., 2017a; Singer et al., 2019; Park et al., 2020).

En el caso de México, las iniciativas para la regulación en el uso racional de antibióticos en animales han sido principalmente de tipo educativo en escuelas, facultades y asociaciones. Estas acciones, han generado ciertos avances en el uso adecuado de antibióticos impulsados

principalmente por factores de competitividad en la producción pecuaria, debido a la demanda de productos más naturales por parte de los consumidores y ciertas instituciones gubernamentales, lo que nos da como obligación la búsqueda de alternativas naturales que reemplacen a los APC (INSP, 2010).

La búsqueda de productos o enfoques alternativos naturales para sustituir a los APC se ha intensificado en los últimos años con el fin de mantener y mejorar la salud intestinal, además del rendimiento productivo de las aves de corral, lo que han llevado a la obtención de las siguientes alternativas: probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, fitobióticos (fitogénicos), enzimas, péptidos antimicrobianos, anticuerpos de huevo hiperinmunes, bacteriófagos, arcilla y metales (López, 2009; Gadde et al., 2017a).

Aunque los efectos benéficos de dichas alternativas han sido demostrados, el problema general es que carecen de consistencia y los resultados varían de una granja a otra, por lo cual es necesario definir mejor su modo de acción, así como su evaluación como alternativa única o las combinaciones óptimas de diferentes alternativas junto con buenas prácticas de manejo y crianza necesarias para mejorar el rendimiento productivo, salud intestinal y bienestar animal (Gadde et al., 2017a; Montoya, 2019).

Por tal motivo el presente estudio, tuvo como objetivo evaluar el efecto de tres alternativas nutricionales al uso de APC en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda machos de un día de edad y su efecto en el rendimiento productivo y salud intestinal.

# REVISIÓN DE LITERATURA

## Situación mundial de la industria avícola

La industria avícola sigue creciendo e industrializándose a nivel mundial, debido a su gran importancia en el abastecimiento de alimentos proteicos de origen animal para la sociedad, resultado del crecimiento demográfico, el aumento del poder adquisitivo y la urbanización, tomando en cuenta los adelantos en los métodos de reproducción dando como resultado estirpes especializadas en la producción de carne de pollo con un máximo rendimiento al menor costo posible (FAO, 2021).

Después de la problemática global en 2020 debido a la pandemia por Covid-19, las perspectivas para la avicultura mundial en 2022 son positivas tras la reapertura gradual de mercados y el establecimiento de economías más sólidas. Se tiene estimado un crecimiento de la demanda de carne avícola del 2% a medida que mejoren las condiciones económicas en todo el mundo, sin embargo, se presentaran algunos desafíos importantes para su desarrollo, como son: los impactos económicos provocados por el Covid-19, la variación y el alto precio de los alimentos balanceados y aditivos, la reciente crisis de influenza aviar que afecta Europa, Asia y África, así como la limitada disponibilidad de mano de obra mundial (Mulder, 2021).

## Situación nacional de la industria avícola

La avicultura mexicana juega un papel trascendental para la economía nacional, siendo la actividad pecuaria más dinámica y uno de los sectores estratégicos para la alimentación del país, representando el 62.85% de la producción pecuaria nacional, de la cual el 34.17% se obtiene de la producción de carne de pollo. En el 2020 la producción de carne de pollo en México fue de 3.6 millones de toneladas, ubicándolo como el sexto productor a nivel mundial, mientras que la carne de pollo es la proteína más consumida a nivel nacional aportando el 38.22% de la proteína en la dieta (UNA, 2021).

## Uso de APC en la avicultura

A finales de 1940, Stokstad y Jukes descubrieron el uso de los antibióticos como promotores de crecimiento en la producción animal al adicionar micelios secos de *Streptomyces aureofaciens* que contenían residuos de clortetraciclina en la alimentación de pollos para facilitar la absorción de la vitamina B12, generando resultados importantes en ganancia de peso, una alta resistencia a infecciones y una rápida conversión alimenticia. Desde entonces se confirmó estas propiedades en

múltiples antibióticos y su uso se extendió al grado de incluirlos directamente en el alimento de otras especies animales (Brezo et al., 1999; Torres y Zarazaga, 2002; Dibner y Richards, 2005).

Los antibióticos como promotores de crecimiento pueden definirse, como sustancias no nutritivas que mejoran el crecimiento de animales sanos, administrados en dosis subterapéuticas en la dieta durante un periodo de tiempo prolongado, permitiendo el control de enfermedades infecciosas, la mejora del rendimiento productivo en un 8%, el peso corporal en un 5-6% y la eficiencia alimenticia hasta en un 3-5%, con efectos más pronunciados en animales jóvenes (Cuca et al., 1996; Butaye et al., 2003; Gadde et al., 2018).

En la industria avícola de América del Norte, comúnmente se utilizan varias clases de antibióticos como promotores de crecimiento en la producción de pollo de engorda, como son: glicolípidos (bambermicina o flavomicina), aminoglucósidos (estreptomina), polipéptidos (bacitracina, enramicina), ionóforos (salinomina), tetraciclinas (clortetraciclina),  $\beta$ -lactámicos (penicilina), estreptograminas (virginiamicina) y macrólidos (tilosina, eritromicina), entre otros (Torres et al., 2002; Sumano y Gutiérrez, 2010; Diarra y Malouin, 2014).

En la actualidad, no se han establecido con exactitud los mecanismos a través de los cuales los antibióticos ejercen sus efectos como promotores de crecimiento, aunque experimentos con pollos libres de patógenos parecen indicar que dicha acción esta mediada por su efecto antibacteriano modificando cuantitativa y cualitativamente la microbiota intestinal. Se han propuesto cuatro hipótesis para explicar su acción (Feighner y Dashkevich, 1987; Torres y Zarazaga, 2002; Gaskins et al., 2002; Niewold, 2007; Gadde et al., 2018):

- I. **Reducción del uso microbiano de nutrientes:** ciertas poblaciones bacterianas pueden verse afectadas selectivamente por la acción antibiótica de dichos APC, disminuyendo la cantidad y diversidad de la microbiota intestinal, aumentando la disponibilidad de los nutrientes para el huésped.
- II. **Disminución de la producción de metabolitos microbianos que deprimen el crecimiento:** al haber una disminución de las bacterias patógenas como *Clostridium perfringens* que tiene la capacidad de producir toxinas, se presenta indirectamente un aumento de microorganismos benéficos como *Lactobacillus spp.* y *Enterococcus spp.* utilizados como probióticos para promover el crecimiento en el animal.
- III. **Inhibición de infecciones intestinales subclínicas:** con el uso de antibióticos a dosis subterapéuticas se modifica la microbiota intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas, además del estrés inmunológico y el gasto de energía para producir una respuesta inflamatoria a nivel intestinal.

- IV. Mejora en la absorción y uso de nutrientes debido a un adelgazamiento de la pared intestinal:** se evita el engrosamiento de la pared intestinal debido a la inflamación ocasionada por los metabolitos bacterianos, permitiendo un mayor aprovechamiento de los nutrientes al haber una mucosa intestinal más delgada.

## **Resistencia a los antimicrobianos**

El uso de APC ha sido un sello distintivo en la alimentación de los animales durante los últimos 50 años; sin embargo, el empleo continuo de antibióticos en la producción de carne ha generado preocupaciones y cuestionamientos sobre estas prácticas en los consumidores e instituciones gubernamentales, debido a la cantidad de residuos que llegan a contener en la carne de los animales y principalmente, por la aparición de cepas bacterianas resistentes a antibióticos terapéuticos y a la transferencia de sus genes de la microbiota animal a la humana (Castanon, 2007; Gutiérrez et al., 2013).

Uno de los primeros reportes de resistencia en la alimentación animal fue hecho por Starr y Reynolds en 1951, después de haber proporcionado una alimentación experimental con estreptomicina en pavos, mientras que en 1958 Barnes y en 1959 Elliott y Barnes, reportaron una asociación de la resistencia a la tetraciclina al usarla como APC en pollos de engorda (Dibner y Richards, 2005).

La OMS (2020), establece que la resistencia a los antimicrobianos o farmacorresistencia surge cuando las bacterias, virus, hongos y parásitos sufren cambios a lo largo del tiempo y dejan de responder a los medicamentos, haciendo más difícil el tratamiento de las infecciones e incrementando el riesgo de su propagación, aparición de formas graves de la enfermedad y muerte.

El desarrollo y diseminación de bacterias resistentes es una amenaza para la salud pública mundial, debido a que sus infecciones tienen peor pronóstico que las que producen las mismas bacterias cuando son sensibles a los antibióticos. En Europa se ha estimado alrededor de 25,000 muertes anuales relacionadas por infecciones de microorganismos resistentes a antibióticos (SEIMC, 2018), mientras que, en los Estados Unidos la resistencia bacteriana ha causado 2 millones de infecciones y 23,000 muertes al año y de continuar así, las estimaciones para el 2050 son que este número pudiera llegar a los 10 millones de muertes anuales a nivel mundial y costarle a la economía un aproximado de 100 billones de dólares (O'Neill, 2016; INSP, 2021).

La resistencia antimicrobiana, es un problema que involucra nuevas especies bacterianas así como nuevos mecanismos de resistencia. Algunas de las bacterias con mayores problemas de

resistencia antimicrobiana presentes son: *Enterobacteriaceas* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), bacterias Gram negativas no fermentadoras (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus spp.* (Valenzuela et al., 2003; Moreno et al., 2009).

Los mecanismos de resistencia de las bacterias descritos por algunos autores (Fernández et al., 2003; Rosenblatt, 2009; Torres, 2012; Pérez y Robles, 2013) pueden ser:

- I. **Resistencia natural o intrínseca:** todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos; siendo un mecanismo bacteriano permanente, genéticamente determinado y no presenta una correlación con la dosis de antibiótico, es decir, no se ve afectada por su abuso.

Esta característica es valiosa para conocer cual antibiótico será eficaz contra dicho microorganismo.

- II. **Resistencia adquirida:** es una característica propia de una especie bacteriana, la cual por naturaleza es sensible a un antibiótico, pero ha sido modificada genéticamente por mutaciones o por la adquisición de material genético extracromosómico (plásmidos, transposones e integrones) procedente de otras bacterias.

Es de gran importancia en la salud pública, debido, a que las bacterias pueden adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin haber estado anteriormente en contacto con ellos.

Las bacterias se tornan resistentes a los antibióticos desarrollando mecanismos específicos que impiden a los antibióticos ejercer su mecanismo de acción. Estos mecanismos de resistencia de las bacterias son fundamentalmente cuatro (Valenzuela et al., 2003; Moreno et al., 2009; Pérez y Robles, 2013; Montoya, 2019):

- I. **Síntesis de enzimas hidrolíticas:** las bacterias sintetizan enzimas ( $\beta$ -lactamasas o aminoglucosidasas) que hidrolizan o fosforilan al antimicrobiano, evitando su acción antibacteriana e imposibilita su actuar sobre el microorganismo.
- II. **Modificación del sitio de acción del antimicrobiano:** tan solo la modificación de un solo aminoácido de algunos sitios específicos de la célula bacteriana puede generar un blanco diferente y de esta manera disminuir la afinidad de unión por el antimicrobiano.

➤ **Modificación de PBP's (*penicillin – binding proteins*):** complejo enzimático que permite la síntesis del peptidoglicano en bacterias Gram positivas; si se produce

una mutación en el sitio de unión, los antibióticos no pueden actuar y por lo tanto se genera resistencia.

- Modificación ribosomal: los genes *Erm A* y *Erm B* producen una modificación mediante la metilación del sitio activo de las subunidades 30s y 50s.

**III. Disminución de la permeabilidad de la pared celular:** se presentan cambios en el diámetro y número de porinas, lo que disminuye el flujo de llegada del antibiótico al microorganismo.

**IV. Bombas de eflujo:** mecanismo inespecífico constituido por proteínas asociadas a la membrana citoplasmática que actúan como bomba de expulsión de los antimicrobianos.

Una misma bacteria puede desarrollar diversos mecanismos de resistencia ante uno o varios antibióticos, así como un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, ocasionando una grave problemática ante el estudio de la resistencia antimicrobiana (Daza, 1998).

## **Prohibición de los APC**

En 1969 se publicó en el Reino Unido un informe elaborado por un comité científico precedido por el profesor Swann, donde recomendaba abandonar la utilización de antibióticos como promotores de crecimiento de uso terapéutico en medicina humana o con antimicrobianos susceptibles a resistencias cruzadas (Torres, 2002; Dibner y Richards, 2005; Cepero, 2005).

En los años 70s, la UE adoptó medidas para prevenir el uso de antibióticos de importancia médica como promotores de crecimiento en la alimentación animal, estableciendo que solamente podrían ser utilizados aquellos antibióticos que por investigaciones previas tuvieran un efecto demostrado sobre el crecimiento animal, que fueran activos frente a bacterias Gram positivas y que no presentaran absorción intestinal (Torres y Zaragoza, 2002).

En el 2006, entró en vigor en la UE la nueva regulación (EC 1831/2003) de su legislación, la cual establece la total prohibición de los APC en la alimentación animal (Gutiérrez et al., 2013), mientras que en China su uso en piensos ha sido igualmente prohibido desde el 1<sup>st</sup> de julio del 2020 (Shang et al., 2020; Zhang et al., 2021), por tal motivo, la eliminación gradual o total de los APC en la producción animal parece ser la solución más sensata y realista ante las duras críticas y presiones legales sobre la resistencia bacteriana. No obstante, podría suceder que al eliminar los APC se produjera un aumento del uso de antibióticos con fines profilácticos o terapéuticos debido a la aparición de patógenos entéricos, como son las especies de *Eimeria spp.* que causan coccidiosis y las cepas de *Clostridium perfringens* inductoras de necrosis entérica (Torres y Zaragoza, 2002;



Park et al., 2020), así como un aumento en la conversión alimenticia y la tasa de mortalidad, ocasionando grandes pérdidas económicas (Montoya, 2019).

En la actualidad, esto ha llevado a la necesidad creciente de encontrar alternativas naturales con efectos benéficos similares a los APC, con el objetivo de mantener un tasa de mortalidad baja, un buen nivel de rendimiento animal, así como promover el cuidado del medio ambiente y la salud del consumidor. Entre estos, los más utilizados son los probióticos, prebióticos, enzimas, ácidos orgánicos, péptidos antimicrobianos, inmunoestimulantes (IgY de yema de huevo hiperinmune), bacteriocinas, bacteriófagos, aditivos fitogénicos, fitoncidas, nanopartículas, arcillas y metales, entre otros (López, 2009; Gadde et al., 2017a; Mehdi et al., 2018).

### **Alternativas nutrimentales al uso de antibióticos**

Debido al aumento de la preocupación sobre la seguridad alimentaria y la introducción de leyes y reglamentos para controlar el uso de antibióticos en la alimentación animal en diversos países, han llevado en los últimos años a los investigadores a buscar alternativas a los APC (Zhang et al., 2021). Esencialmente, hay dos formas con las que se puede reducir la dependencia del uso de antibióticos en animales; una opción es la implantación de nuevas estrategias de manejo encaminadas a disminuir la incidencia de enfermedades en los animales, mientras que otra alternativa sería la utilización de sustancias que funcionen a través de mecanismos de acción similares a los de los APC, es decir, deberán aumentar la disponibilidad de nutrientes para promover el crecimiento animal y mejorar la conversión alimenticia (Carro y Ranilla, 2002; Hughes y Heritage, 2004).

### **Eubióticos como alternativas a los APC**

En el mercado se pueden encontrar una gran variedad de aditivos nuevos y tradicionales para piensos que tienen la capacidad de influir y modificar la composición y concentración de la microbiota intestinal, como los ácidos orgánicos, probióticos, prebióticos, compuestos de aceites esenciales y compuestos de Zn y Cu. En los últimos años, estos aditivos han sido descritos por el termino general “Eubióticos”, cuyo significado proviene de la palabra griega “Eubiosis”, que se refiere al equilibrio óptimo de la microbiota en el tracto gastrointestinal (TGI). Su uso tiene como objetivo principal el mantenimiento de una microbiota gastrointestinal benéfica, lo que resulta en una mejora de la salud intestinal y por ende una absorción de nutrientes y un rendimiento eficaz en los animales (DSM, 2019; Panth, 2019).

## Probióticos

El concepto de “probióticos” se desarrolló por primera vez por Elie Metchnikoff en 1907, quien mencionó que las poblaciones de las zonas rurales de Bulgaria tenían una esperanza de vida superior a la media, lo que correlacionó con el consumo de grandes cantidades de yogurt búlgaro, en los cuales sugirió que existía un tipo selecto de microorganismos (*Lactobacillus bulgaricus*) que alteraban la fermentación bacteriana en sus intestinos (Ter, 2017; Jeni et al., 2021).

Los probióticos también llamados microbios de alimentación directa (DFM por sus siglas en inglés) son monocultivos o cepas mixtas de microorganismos, que cuando se administran en cantidades adecuadas ( $1 \times 10^9$  UFC/día (dosis mínima)) en el alimento confieren un beneficio para la salud del huésped mejorando su equilibrio microbiano intestinal; (Fuller, 1989; FAO/OMS, 2001; Hill et al., 2014) teniendo un actuar competitivo, ya sea de forma directa (por crecimiento poblacional) o indirecta (por producción de inhibidores) sobre bacterias patógenas en el TGI, especialmente Gram negativas (Sumano y Gutiérrez, 2010).

Por varios años, se han llevado a cabo pruebas *in vitro* y ensayos de campo para detectar posibles cepas con capacidades probióticas en hongos, protozoos y bacterias; sin embargo, pocos han alcanzado su disponibilidad a nivel industrial (Vasiljevic y Shah, 2008), por tal razón, para que un microorganismo sea considerado como probiótico debe cumplir con determinadas características, como son (Gutiérrez et al., 2013; Tripathi y Giri, 2014):

- Seguro para el animal (no debe ser tóxico o patógeno).
- Seguro para el medio ambiente.
- Debe resistir a las secreciones del jugo gástrico y bilis; es decir, debe llegar intacto al intestino delgado.
- Tolerar altas concentraciones de ácidos grasos volátiles en ciegos e intestino grueso.
- Resistencia a los antibióticos más empleados en la alimentación animal.
- Tener elevada capacidad de multiplicación y colonización en el intestino.
- Tener alta capacidad germinativa (presentación en esporas).
- Capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.
- Estimular la respuesta inmune sin efectos proinflamatorios.
- Mantenerse estables y viables durante los procesos tecnológicos, es decir, soportar el manejo necesario para ser incorporados en una matriz alimentaria.
- Resistir a la granulación y expansión (presentación en esporas o encapsulamiento).
- Mantenerse estables y viables durante su almacenamiento.

Se atribuyen propiedades probióticas a muchas especies microbianas, siendo las cepas bacterianas las más utilizadas y en menor cantidad hongos y levaduras (**Cuadro 1**). Las cepas bacterianas pertenecientes a los géneros *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* y *Enterococcus spp.*, así como levaduras del género *Saccharomyces spp.*, son utilizadas con mayor frecuencia como DFM en la alimentación de las aves (Salim et al., 2013).

### **Mecanismo de acción de los probióticos**

En la avicultura, los probióticos han demostrado ser una alternativa potencial como opción para el reemplazo de los APC, sin embargo, los mecanismos de acción responsables de sus funciones no han sido documentados por completo, postulando diversos mecanismos que explican muchos de sus efectos benéficos (Khalighi et al., 2016).

### **Mejora de la integridad de la barrera gastrointestinal**

- **Secreción de mucina:** la capa de moco que recubre el epitelio del TGI secretada por las células Goblet o caliciformes es la primera línea de defensa innata del huésped contra las lesiones físicas y químicas causadas por la ingestión de alimentos, microorganismos o productos de estos, teniendo como componente principal mucinas secretoras (MUC2) y en menor cantidad mucinas unidas a la membrana epitelial (MUC1, MUC3, MUC17), péptidos de factor de trébol (TFF), moléculas similares a la resistina  $\beta$  (RELM $\beta$ ) y proteínas de unión Fc-gamma (FCGBP) (Kim y Ho, 2010).

Los probióticos incrementan un 60% la secreción de moco debido a que tienen la capacidad de promover y aumentar la expresión de MUC2 (principalmente), MUC1 y MUC3, así como el aumento en el número de células Goblet maduras como resultado de los metabolitos producidos durante la fermentación bacteriana (Otte y Podolsky, 2004; Caballero et al., 2007; Chichlowski et al., 2007a).

- **Estabilización de uniones estrechas (TJ):** son las encargadas de regular el transporte paracelular de iones, nutrientes y agua. Las TJ están conformadas por múltiples proteínas con el objetivo de crear un sello permeable selectivo entre cada una de las células epiteliales adyacentes, además, de delimitar los dominios de la membrana apical y basolateral. Actualmente se han identificado cuatro proteínas transmembranales integrales: ocludina, claudina, molécula de adhesión de la unión (JAM) y tricelulina, las cuales a su vez interactúan con proteínas del armazón citosólico (zónula occludens-1,2,3 (ZO-1,2,3)) y por último se anclan al citoesqueleto de actina (Lee, 2015).

Los probióticos disminuyen la permeabilidad intestinal al mejorar y preservar la integridad de la barrera intestinal, debido a que aumentan y estabilizan la expresión de las proteínas de unión estrecha (occludina, JAM, ZO-1 y actina) (Otte y Podolsky, 2004; Ewaschuk et al., 2008; Gadde et al., 2017b).

- **Disminución de la secreción de cloro y agua:** ciertos tipos de probióticos (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus acidophilus*) permiten disminuir la secreción de cloro y agua inducida por bacterias patógenas como *Escherichia coli* enteroinvasiva (Resta y Barrett, 2003).

### **Mejora de la morfología intestinal**

Los probióticos tienen la capacidad de activar la mitosis celular de las células epiteliales intestinales, lo que provoca un incremento en la longitud de las vellosidades intestinales y una mayor profundidad de las criptas (Samanya y Yumauchi, 2002). El aumento en la altura de las vellosidades intestinales permite tener una mayor superficie de contacto y por consiguiente una mejora en la absorción de los nutrientes. Mientras que, al tener criptas más profundas se promueve una mayor tasa de proliferación celular permitiendo una rápida renovación y reparación de las vellosidades intestinales que se pudieran estar perdiendo por inflamación o desprendimiento en respuesta a una infección por microorganismos patógenos (Park et al., 2016, Gadde et al., 2017a).

### **Exclusión competitiva**

Las bacterias probióticas tienen un efecto directo sobre los microorganismos patógenos, a través de la competencia por los nutrientes y por los receptores de adhesión al epitelio del TGI, ocasionando que no puedan obtener la energía necesaria para su crecimiento, además, de bloquear el sitio físico de unión para su colonización y proliferación (Patterson y Burkholder, 2003; Brown, 2011; Abatenh et al., 2018).

Ciertas bacterias probióticas forman un biofilm sobre la capa de mucosa con el fin de evitar la adhesión de las bacterias patógenas (Gutiérrez et al., 2013).

- **Absorción de patógenos:** es un mecanismo propio de las levaduras, el cual les permite absorber bacterias Gram negativas a su superficie y eliminarlas a través del complejo levadura-bacteria por medio de peristaltismo (Cepero, 2006).

## Producción de compuestos antimicrobianos

Los probióticos ayudan a mantener un microambiente favorable para las bacterias benéficas en el TGI a través de la producción de ácido láctico, ácidos grasos de cadena corta (AGCC), ácidos orgánicos, bacteriocinas y agentes oxidantes como el peróxido de hidrogeno, entre otras sustancias, lo que permite inhibir la invasión bacteriana y de esta manera bloquear la adhesión y traslocación de microorganismos patógenos, como: *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomona spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Lactococcus lactis*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Vibrio cholerae* (Ng et al., 2009; Reyes y Rodríguez, 2012; Gutiérrez et al., 2013; Dhama et al., 2014).

- **Producción de ácido láctico:** las bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* y *Streptococcus spp.*) tienen la capacidad de producir ácido láctico, lo que permite (Chichlowski et al., 2007b; Ng et al., 2009; Brown, 2011; Gutierrez et al., 2013):
  - La alteración en la permeabilidad de las membranas celulares de las bacterias patógenas, provocando una despolarización del potencial de membrana y en última instancia, la muerte bacteriana.
  - Junto con la producción de ácidos orgánicos y AGCC resultados de su metabolismo y de la fermentación bacteriana respectivamente, permiten la disminución de los niveles de pH intestinal y oxígeno, creando un ambiente desfavorable para los microorganismos patógenos.
- **Producción de metabolitos antimicrobianos:** algunas bacterias tienen la capacidad de producir bacteriocinas o péptidos antimicrobianos, como: acidofilina, lactocidina, acidolina (*Lactobacillus acidophilus*), lactolina (*Lactobacillus plantarum*), nicina, diplococina (*Streptococcus spp.*), subtilina y coagulina (*Bacillus spp.*), las cuales forman parte de su respuesta inmune innata, teniendo la característica de presentar un amplio espectro antimicrobiano permitiéndoles la destrucción de bacterias patógenas (Vila et al., 2010; Elshagabee et al., 2017).

## Actividad antioxidante

Los probióticos tienen la capacidad de producir e incrementar los niveles sanguíneos de agentes antioxidantes, como son: glutatión-S-transferasa (GST), glutatión reductasa (GR), glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), con la finalidad de neutralizar moléculas tóxicas y endotoxinas tanto a nivel intestinal como sistémico, además de disminuir la

actividad ureasa e indirectamente los niveles de amoníaco en el intestino, así como, incrementar la producción de genisteína y agliconas bioactivas con actividad hepatoprotectora y antihipertensivo respectivamente (Reyes y Rodríguez, 2012; Gadde et al., 2017a).

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bifidobacterium spp.* y *Lactobacillus spp.* eliminan el radical  $\alpha$  del  $\alpha$ -difenuil- $\beta$ -picrilhidrazilo, ocasionando la inhibición de la peroxidación de lípidos y la disminución del daño oxidativo del ácido desoxirribonucleico (ADN) en las células epiteliales intestinales (Brown, 2011).

### **Interferencia de Quorum Sensing**

Las bacterias tienen la capacidad de comunicarse entre sí mediante moléculas de señalización química llamadas autoinductores (N-acilhomoserina lactona (AHL) para Gram negativas y péptidos autoinductores o bioactivos para Gram positivas); a este fenómeno se le conoce como Quorum Sensing, el cual permite a las bacterias medir la densidad de población, la concentración de los nutrientes en el medio y las características del nicho ecológico, con la finalidad de poder controlar la expresión génica de la población, debido a una respuesta a los cambios en el número de células y en las condiciones del ambiente, permitiendo de esta manera promover su adaptación y supervivencia (Vila et al., 2010; Montoya, 2019).

Algunos probióticos como *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* y *Bacillus spp.* pueden destruir los autoinductores e indirectamente inhibir el quorum sensing bacteriano, mediante la producción y secreción de enzimas o antagonistas de los autoinductores, esto con el objetivo de volver “mudas” y “sordas” a las bacterias patógenas sensibles a este mecanismo de comunicación y así poder regular la aparición y expresión de su patogenicidad (Vila et al., 2010).

### **Modulación de la respuesta inmune y antiinflamatoria**

Los probióticos han demostrado tener efectos benéficos sobre el sistema inmunológico de las aves al interactuar con las células inmunes y epiteliales, con la finalidad de controlar la inflamación a través de los siguientes mecanismos:

- I. **Células epiteliales:** al presentarse una lesión intestinal, los probióticos disminuyen la apoptosis inducida por citocinas e incrementan la recuperación del epitelio mediante la activación de la Akt/proteína quinasa B (PKB) (antiapoptótica) y la inhibición por parte del TNF- $\alpha$ , IL-1 e IFN- $\gamma$  de la activación de la p38/proteína quinasa (MAPK) (proapoptótica) (Yan y Polk, 2002).

- II. **Células dendríticas y macrófagos:** los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) derivados de cepas bacterianas probióticas interactúan con los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) de las células dendríticas y macrófagos del epitelio o lámina propia, lo que desencadena vías de señalización hacia un patrón tolerogénico no inflamatorio o inmunomodulador, mejorando la fagocitosis y la proliferación de células inmunes (macrófagos y monocitos) (Ng et al., 2009; Montoya, 2019).
- III. **Receptores tipo Toll (TLR):** tienen la capacidad de aumentar la señalización de los receptores TLR-2 y TLR-4, permitiendo la activación de los linfocitos T y la liberación de citocinas protectoras para mejorar la regeneración de células epiteliales e inhibir la apoptosis celular (Ng et al., 2009; Park et al., 2016).
- IV. **Células asesinas naturales (NK):** elevan significativamente las actividades de las células NK (Ng et al., 2009; Reyes y Rodríguez, 2012).
- V. **Linfocitos B:** modulan la respuesta inmune a través de los linfocitos B y la producción de anticuerpos, incrementando principalmente la secreción de IgA secretora (SIgA) y en menor cantidad IgG (IgY) e IgM en los linfocitos B circulantes (Ng et al., 2009; Montoya, 2019).
- VI. **Linfocitos T:** aumentan las poblaciones de células T reguladoras (Th2) capaces de producir citocinas antiinflamatorias, además, disminuyen los linfocitos T autorreactivos (Th1) productores de citocinas proinflamatorias (Montoya, 2019).
- VII. **Respuesta antiinflamatoria:** los microorganismos patógenos inducen respuestas proinflamatorias en las células epiteliales al activar el factor de transcripción NF- $\kappa$ B, ocasionando indirectamente la producción de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-8, IL-12, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ ). Mientras tanto, las bacterias probióticas pueden atenuar las respuestas proinflamatorias al secretar el factor contrarregulador I $\kappa$ B junto con citocinas antiinflamatorias (IL-2, IL-4 e IL-10) (Ng et al., 2009; Reyes y Rodríguez, 2012).

## **Factores que afectan la efectividad de los probióticos**

No todos los microorganismos probióticos tienen a inducir la misma respuesta e intensidad de sus mecanismos de acción para la protección del huésped contra las bacterias patógenas presentes en el TGI, por lo cual, existen varios factores que afectan dichos mecanismos, como son (Gaggia et al., 2010; Salim et al., 2013; Ajuwon, 2016):

- Método de preparación de los probióticos.
- Especies de microorganismos bacterianos utilizados como probiótico.
- Uso de probióticos de un único género o múltiples géneros bacterianos.
- Capacidad del microorganismo probiótico para sobrevivir al ambiente del TGI.

- Vía de administración del probiótico.
- Dosis y tiempo de administración del probiótico.
- Estado de salud de los animales.
- Edad de los animales.
- Correcto almacenamiento de los probióticos.
- Uso de antibióticos.

Al usar diversos probióticos, todos estos factores pudieran ocasionar una variación en los resultados, por lo cual, es necesario tener una mejor comprensión de las interacciones huésped-probiótico con el objetivo de establecer criterios más específicos sobre su efecto benéfico en la producción animal (Ajuwon, 2016).

### **Probióticos del género *Bacillus***

Los miembros del género *Bacillus* son bacterias Gram positivas aeróbicas o facultativamente aeróbicas, ampliamente distribuidas en la naturaleza, particularmente en el suelo (Sánchez et al., 2009). Actualmente, estas especies bacterianas son atractivas y prometedoras para su uso como probióticos en la alimentación animal, debido a su capacidad para producir endosporas, su estabilidad térmica y su resistencia a pH bajos, permitiéndoles una mejor viabilidad durante su preparación, transporte y almacenamiento, además de una mayor supervivencia durante su tránsito por la barrera gástrica, lo que permite llegar al intestino delgado para ejercer sus propiedades probióticas (Cartman et al., 2008; Sánchez et al., 2009; Mingmongkolchai y Panbangred, 2018).

De las aproximadamente 100 especies bacterianas contenidas en el género *Bacillus* que se han examinado detalladamente para su uso como probióticos en humanos y animales son: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus toyoi (cereus)*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus natto (subtilis)*, *Bacillus clausii*, *Bacillus pumilus* y *Bacillus cereus* (Sánchez et al., 2009; Gadde et al., 2017a; Mingmongkolchai y Panbangred, 2018).

Las esporas de *Bacillus spp.* son ingeridas de forma inactiva y una vez presentes en el TGI comienza su germinación; su interacción con el pH intestinal y el ingreso de agua ocasionan la ruptura de sus capas de proteína dando inicio con la replicación y crecimiento de sus células vegetativas dentro del intestino delgado (Cartman et al., 2008). Las esporas tienen la característica de ser más hidrofóbicas en comparación con las células vegetativas, además, presentan en su superficie un exosporio que les permite tener mayor capacidad de adhesión a las células epiteliales intestinales (Harimawan et al., 2013).



La unión de las esporas bacterianas a las células epiteliales intestinales permite la colonización del intestino delgado, la secreción de sustancias antimicrobianas, la interacción y estimulación del sistema linfático asociado al intestino (GALT) y su movilización hacia las placas de Peyer (PP) a través de las células M (Duc et al., 2003).

#### ❖ ***Bacillus subtilis***

En los últimos años, investigaciones científicas han logrado avances significativos sobre el espectro de acción que hace de esta bacteria el probiótico más atractivo para su utilización en humanos y animales (Suva et al., 2016). Tiene la característica única y distintiva de producir una endospora cuando carece de nutrientes y en la presencia de algunos aminoácidos como L-alanina, L-valina y L-asparagina esta endospora ofrece propiedades únicas de resistencia, pudiendo sobrevivir a temperaturas y pH extremos, así como a la desecación y exposición a solventes y otros químicos nocivos, lo que permite ser almacenada sin refrigeración durante largos periodos de tiempo (Duc et al., 2003; Suva et al., 2016; Cao et al., 2020).

#### ❖ ***Bacillus coagulans***

Es una bacteria facultativa productora de ácido láctico, coagulina, esporas y catalasas positivas, las cuales tienen una actividad antimicrobiana, lo que permite la disminución del crecimiento de bacterias patógenas. Al ser *Bacillus coagulans* una especie bacteriana productora de ácido láctico a través de la descomposición de glucosa, sacarosa, maltosa y manitol, es nombrada y comercializada erróneamente como *Lactobacillus sporogenes* o “bacteria del ácido láctico formadora de esporas” (Khalighi et al., 2016; Cao et al., 2020).

Los principales factores que promueven su crecimiento son la biotina y la tiamina, así como una temperatura óptima de 35-50°C y un pH cercano de 6, su pared celular es única, ya que su ácido teicoico tiene un contenido de lípidos más alto (12.6%) en comparación con las bacterias Gram positivas (1 a 2%) y además de carecer de sustituyentes de aminoácidos (Cao et al., 2020).

Estudios han demostrado que *Bacillus coagulans* puede mejorar la conversión alimenticia, morfología intestinal y fortalecer las respuestas inmunológicas, sin embargo, aunque tiene un efecto positivo en la salud intestinal, escasamente se ha informado si puede proteger a las aves del daño de la mucosa intestinal por medio de la modulación del desarrollo del epitelio intestinal (Shuang et al., 2022).

## **Probióticos del género *Clostridium***

Las cepas de clostridios son patógenos bien conocidos, algunas forman parte de la microbiota intestinal de los animales y otras recientemente se han considerado y usado como probióticos en países asiáticos, tal es el caso de *Clostridium butyricum*, una cepa bacteriana Gram positiva aislada del suelo y de los intestinos de animales y seres humanos sanos; tiene la capacidad de producir e incrementar las concentraciones de ácido butírico en el intestino cecal de las aves, siendo este de suma importancia por sus propiedades nutricionales para las células epiteliales y sus efectos inhibitorios contra patógenos intestinales (Yang et al., 2012; Zhang et al., 2016; Syejstil et al., 2019).

*Clostridium butyricum* se caracteriza por producir endosporas, lo que le permite sobrevivir al pH bajo y a las concentraciones elevadas de bilis presentes en el intestino delgado en comparación con las bacterias del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, además, de resistir altas temperaturas, lo que lo convierte en un buen aditivo para piensos (Yang et al., 2012; Zhang et al., 2016).

Estudios previos demostraron que tiene la capacidad de promover una microbiota intestinal equilibrada, una mejora en la integridad intestinal, en la calidad de la carne y en sus perfiles de ácidos grasos, además, de estimular el sistema inmune de las aves (Yang et al., 2012; Zhang et al., 2016).

## **Fitobióticos**

Las plantas han sido utilizadas durante miles de años en muchas partes del mundo por sus propiedades nutritivas y medicinales. Su utilización comenzó por una recogida indiferente de plantas, pasando a una recolección selectiva y específica de planta por planta, hasta llegar a la domesticación y extenso cultivo de las más útiles para esta actividad (Ávila et al., 2011). Su composición está integrada por compuestos vegetales primarios y secundarios; los compuestos primarios son aquellos nutrientes que se encuentran en mayor proporción, como son las proteínas, carbohidratos y lípidos, mientras que los compuestos secundarios comprenden los aceites esenciales, taninos, saponinas, colorantes y compuestos fenólicos (Grashorn, 2010; Diaz et al., 2015).

Actualmente, la práctica de utilizar la medicina tradicional a base de plantas o hierbas en los humanos y animales ha aumentado considerablemente. En la avicultura debido a la presión creciente por la demanda de productos avícolas libres de APC, fue necesario implementar la búsqueda urgente de ayuda terapéutica y la realización de una producción sostenible basadas

principalmente en hierbas, debido a sus ventajas como: bajo costo, fácil adquisición y libres de resistencia antimicrobiana (Dhama et al., 2015).

Los aditivos fitogénicos para piensos, también denominados fitobióticos o botánicos, son compuestos bioactivos naturales que se derivan de plantas para su incorporación en el alimento ya sea en forma sólida (polvo, granulado) o líquida con la finalidad de mejorar la productividad de los animales (Windisch et al., 2008). Los fitobióticos sólidos suelen incorporarse en premezclas o piensos completos, mientras que los líquidos son adecuados para su utilización en el agua de bebida, como suplemento de sustitutos de leche y en la aplicación por aspersión en alimentos procesados hidrotérmicamente (dietas granuladas o extruidas) (Steiner y Shah, 2015).

En los últimos años, una amplia variedad de plantas han sido utilizadas en la industria avícola para su posible aplicación como alternativas a los APC y, de acuerdo con su origen (parte de la planta) (**Cuadro 2**) pueden clasificarse como (Windisch et al., 2008; Van Der Klis y Vinyeta-Punti, 2014):

- **Hierbas:** plantas de hojas verdes con flores, no leñosas y no persistentes (se utilizan hojas y flores).
- **Especias:** partes de plantas que no son hojas, con sabor u olor intensos que se secan o muelen (semillas, frutos secos, corteza, raíces y botones florales).
- **Aceites esenciales:** sustancias lipófilas volátiles derivadas de plantas, son obtenidas por extracción en frío o por destilación con vapor o alcohol.
- **Oleorresinas:** extractos derivados de solventes no acuosos.

## **Metabolitos secundarios**

Los efectos benéficos tanto terapéuticos como medicinales de los extractos de plantas se deben a su composición de fitoquímicos activos o bioactivos específicos que contengan. Estos componentes biológicamente activos son en su mayoría metabolitos secundarios, como: compuestos fenólicos (taninos), glucósidos (saponinas), terpenoides (aceites esenciales) y alcaloides (alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, lactonas, etc.) (Cheng et al., 2014).

El contenido y concentración de fitoquímicos activos en las plantas puede variar ampliamente, dependiendo de la parte de la planta utilizada (semillas, hojas, raíces o cortezas), temporada de cosecha, origen geográfico, factores ambientales, técnica de procesamiento usada (expresión en frío, destilación al vapor, extracción con disolventes no acuosos, entre otros) y condiciones de almacenamiento (Windisch et al., 2008; Gadde et al., 2017a).

### ❖ **Compuestos fenólicos (Taninos)**

Son compuestos que contienen un anillo benceno con uno (fenol) o más (polifenol) grupos hidroxilo como ésteres y ésteres metílicos. Actualmente, se identifican en la naturaleza alrededor de 8000 estructuras de compuestos fenólicos, pero los más comunes son los flavonoides, taninos, ácidos fenólicos, avenantramidas, alquilresorcinoles, proantocianidinas oligoméricas y lignanos. Su característica principal es que tienen una gran capacidad antioxidante, además, proporcionan efectos benéficos en las respuestas inmunes, antiinflamatorias, antimicrobianas y en la salud intestinal (Mahfuz et al., 2021).

### ❖ **Glucósidos (Saponinas)**

Son glucósidos esteroides que se encuentran ampliamente distribuidos en plantas consumibles por animales y humanos, se han clasificado como agentes antinutricionales y tóxicos cuando se presentan en niveles altos en las dietas, pero cuando se encuentran en un nivel óptimo en la dieta tienen un potencial sorprendente como aditivo dietético, favoreciendo una mayor tasa de crecimiento, una mejor eficiencia alimenticia y una disminución en los niveles de colesterol sérico y en las emisiones de amoniaco por parte de las excretas de los animales (Miah et al., 2004; Wina, 2018).

### ❖ **Terpenoides (Aceites esenciales)**

Son aceites o esencias volátiles presentes en plantas aromáticas caracterizados por sus olores distintivos y su resistencia a la hidrólisis. Pueden aislarse de diversas partes de las plantas (flores, capullos, semillas, hojas, ramas, corteza, frutos y raíces) por medio de destilación al vapor y prensado; sus componentes principales son los terpenoides (linalol, geraniol, borneol, mentol, tujanol, citronilol y  $\alpha$ -terpineol), fenoles (timol, carvacrol, eugenol, gaiacol) y aldehídos aromáticos (cinamaldehído, cuminal y felandral), además, de contener en menor proporción alcoholes y ésteres; son sintetizados por las plantas para protegerse de plagas y microorganismos, atraer insectos polinizadores y para procesos de señalización (Christaki et al., 2012; Leyva et al., 2017).

Los aceites esenciales presentan efectos citotóxicos en las células vivas, lo que es de gran importancia en el control de microorganismos patógenos y parásitos en humanos o animales, así como en la conservación de productos agrícolas y marinos; de igual forma, exhiben actividades hipolipídicas, antioxidantes, estimulantes de la digestión y antitoxigénicas (Christaki et al., 2012).

## Mecanismos de acción de los fitobióticos

### Actividad antimicrobiana

Las hierbas y especias ejercen acciones antimicrobianas (bactericida o bacteriostática) contra patógenos importantes, incluidos protozoos y hongos. Los aceites esenciales con mayor capacidad antimicrobiana contienen un elevado porcentaje de compuestos fenólicos como carvacrol, eugenol, timol, fenilpropano, geraniol y citronela. De igual manera, se ha reportado una elevada actividad antimicrobiana por parte de sustancias no fenólicas como limoneno y compuestos de *Sanguinaria canadensis* (Windisch et al., 2008; Van Der Klis y Vinyeta-punti, 2014; Mohammadi y Ho, 2017).

El modo de acción antimicrobiano varía según la ubicación de sus grupos hidroxilos del fenólico terpenoides y la presencia de electrones deslocalizados (Mohammadi y Ho, 2017).

- **Aceites esenciales:** tienen un peso molecular pequeño (contra bacterias Gram negativas) y un potencial hidrofóbico (contra bacterias Gram positivas) para penetrar la membrana celular bacteriana, desintegrar sus estructuras y de esta manera aumentar su permeabilidad, lo que da como resultado una síntesis de ATP deteriorada, la pérdida de iones y contenido celular y por último la muerte celular (Windisch et al., 2008; Gopi et al., 2013; Van Der Klis y Vinyeta-punti, 2014).

En la mayoría de las investigaciones realizadas para determinar el mecanismo de acción de los aceites esenciales, coinciden, que son más activos contra bacterias Gram positivas en comparación con las Gram negativas; esto se debe a que estas últimas, poseen una membrana externa que rodea la pared celular, lo cual restringe la difusión de los compuestos hidrófobos a través de su recubrimiento de lipopolisacáridos (Burt, 2004).

- **Taninos:** ocasionan la privación del hierro, unión de hidrógenos e interacciones con proteínas vitales como las enzimas (Hashemi y Davoodi, 2010; Cheng et al., 2014).
- **Alcaloides:** son intercaladores de ADN e inhibidores de su síntesis a través de la inhibición de la topoisomerasa (Hashemi y Davoodi, 2010; Cheng et al., 2014).
- **Saponinas:** forman complejos con esteroides de la membrana plasmática de los microorganismos generando daños en dicha membrana y por consiguiente el colapso de las células (Hashemi y Davoodi, 2010; Cheng et al., 2014).

Otras implicaciones de la acción antimicrobiana de los alimentos fitogénicos son (Aksit et al., 2006; Windisch et al., 2008; Szabó et al., 2010; Van Der Klis y Vinyeta-punti, 2014):

- Estimular la secreción de moco en el intestino delgado, ocasionando una disminución en la adhesión de microorganismos patógenos (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Eimeria spp.*) al epitelio intestinal, estabilizando de esta forma la microbiota intestinal.
- Disminuir la carga microbiana de bacterias viables totales, así como de patógenos específicos (*Salmonella spp.*) en las canales.
- Inhibir la detección de quorum sensing de las bacterias patógenas intestinales, lo que permite una disminución de su patogenicidad.

Los aceites de rosa, geranio, lavanda y romero han mostrado tener un efecto potencial en la inhibición de la detección de quorum sensing, mientras que, los aceites de eucalipto y cítricos tienen una actividad moderada.

### **Actividad antioxidante**

Es una de las propiedades biológicas de mayor interés de los fitobióticos, debido a que pueden preservar los alimentos de los efectos tóxicos de los oxidantes y de esta forma ayudar a prevenir algunas enfermedades, como disfunción cerebral, cáncer, enfermedades cardiovasculares y deterioro del sistema inmunológico, gracias a su capacidad para eliminar o disminuir los radicales libres mediante la neutralización de superóxido, peróxido de hidrogeno y óxido nítrico o al aumentar la producción CAT, SOD y GPx; y de esta manera proteger las mitocondrias celulares contra daños prematuros (Miguel, 2010; Dhama et al., 2015).

Las plantas que han sido identificadas como excelentes antioxidantes son: romero (*Rosmarinus officinalis*), hojas de olivo (*Olea europea*) tomillo (*Thymus vulgaris*), mejorana (*Origanum mejorana*), salvia (*Salvia officinalis*), orégano (*Origanum vulgare*), pimienta (*Piper nigrum*), pimienta roja (*Capsicum annuum*) y chile (*Capsicum frutescense*) (Windisch et al., 2008; Dhama et al., 2015).

La acción antioxidante de los fitobióticos se debe principalmente a su contenido de terpenos fenólicos, que tienen la capacidad de donar hidrógeno a los radicales libres que se producen durante la oxidación de lípidos y provocar la pérdida del electrón desapareado dentro de la estructura aromática y así, poder reducir la formación de radicales hidroxilo (Gopi et al., 2013; Mohammadi y Ho, 2017).

Algunos beneficios que se han demostrado al usar los fitobióticos como antioxidantes son (Windisch et al., 2008; Van Der Klis y Vinyeta-Punti, 2014):

- Bajo contenido de malondialdehído (MDA) en la mucosa duodenal reduciendo de esta manera la oxidación de ácidos grasos.

- Reemplazo parcial del acetato de  $\alpha$ -tocoferol o el hidroxitolueno butilado para la protección contra el daño oxidativo de los lípidos en las dietas de los animales.
- Mejora en la calidad de la carne.

### **Actividad antiinflamatoria**

La inflamación es una respuesta protectora normal provocada por una lesión tisular o infección para combatir los microorganismos invasores en el cuerpo y eliminar las células huésped muertas o dañadas (Miguel, 2010). Los aceites esenciales además de eliminar los radicales libres, tienen la capacidad de crear una sobreexpresión de enzimas antioxidantes SOD y GPx, lo que permite bloquear las proteínas quinasas activadas por el estrés y la apoptosis celular, así como, la protección contra la proliferación celular atípica, disminuyendo de esta manera los procesos inflamatorios (Van Der Klis y Vinyeta-Punti, 2014).

Algunas plantas utilizadas como agentes antiinflamatorios en los últimos años ya sea de manera individual o en formulaciones mixtas son: manzanilla (*Chamaemelum nobile*), mejorana (*Origanum mejorana*), orégano (*Origanum vulgare*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), romero (*Rosmarinus officinalis*), lavanda (*Lavandula officinalis*), pino (*Pinus spp.*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y mirra (*Commiphora myrrha*) (Miguel, 2010; Mohammadi y Ho, 2017).

### **Actividad inmunomoduladora**

Los fitogénicos tienen la capacidad de ejercer efectos inmunomoduladores o potencializadores del sistema inmunológico, como (Dhama et al., 2015; Lillehoj et al., 2018; Montoya, 2019):

- Incrementar la proliferación de células inmunitarias (linfocitos, macrófagos (secreción de un alto contenido de óxido nítrico) y células NK).
- Modular la secreción de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ ).
- Aumentar los títulos de inmunoglobulinas.
- Incrementar la actividad fagocítica.

Algunos ejemplos de plantas con propiedades inmunoestimuladoras son: el diente de león (*Taraxacum officinale*), el cártamo (*Carthamus tinctorius*), la canela (*Cinnamomum zeylanicum*), la mostaza (*Sinapis alba*), la pimienta negra (*Piper nigrum*) y la curcuma (*Curcuma longa*) (Lillehoj et al., 2018).

## **Influencia en la palatabilidad y en la función intestinal**

Las plantas son reconocidas por su acción estimulante digestiva y por presentar una actividad benéfica en el pienso, funcionando como potenciadores del sabor y la palatabilidad, estimuladores de la ingesta de alimento y de las secreciones digestivas, además, de mostrar efectos laxantes y espasmolíticos, que pueden prevenir las flatulencias y mejorar el rendimiento de la producción (Windisch et al., 2008; Mohammadi y Ho, 2017).

Diversos estudios han demostrado que la acción estimulante digestiva de los fitobióticos esta mediada por dos mecanismos principales (Platel y Srinivasan, 2004; Van Der Klis y Vinyeta-Punti, 2014; Mohammadi y Ho, 2017):

- Estimulación del hígado para inducir una mayor secreción de bilis rica en ácidos biliares (vitales para la digestión y absorción de grasas).
- Estimulación significativa en la síntesis de lipasa, amilasa y proteasa pancreática.

Algunas hierbas y especias conocidas por presentar este efecto estimulante del apetito y de la digestión son: ginseng indio (*Withania somnifera*), albaca morada (*Ocimum sanctum*), sábila (*Aloe vera*), tomillo (*Thymus vulgaris*), curcuma (*Curcuma longa*), orégano (*Origanum vulgare*), ajo (*Allium sativum*), rábano picante (*A Armoracia rustica*), jengibre (*Zingiber officinale*), anís (*Pimpinella anisum L.*), fenogreco (*Trigonella foenum-graecum*), comino (*Cuminum cyminum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), cardamomo (*Elettaria cardamomum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), laurel (*Laurus nobilis*), menta (*Mentha piperita*), cilantro (*Coriandrum sativum*), mostaza (*Sinapis alba*), pimienta negra (*Piper nigrum*), entre otras (Van Der Klis y Vinyeta-Punti, 2014; Dhama et al., 2015).

## **Influencia en la morfología intestinal**

Los fitobióticos tienen efectos positivos sobre la morfología intestinal presentando los siguientes beneficios (Steiner y Shah, 2015; Gadde et al., 2017a):

- Incremento en la altura de las vellosidades intestinales, lo que ocasiona un aumento en la superficie de digestión y absorción de nutrientes.
- Las enzimas segregadas en la punta de las vellosidades intestinales presentan una mayor actividad permitiendo una mejora en la digestibilidad.
- Mayor número de células caliciformes, lo que contribuye a un aumento en el grosor de la mucosa.
- Aumento de la resistencia eléctrica transepitelial de la mucosa.



## **Factores que afectan la efectividad de los fitobióticos**

El problema del uso de fitobióticos como una alternativa a los APC es que contienen una gran cantidad y variación de componentes presentes en una misma planta, esto ha obligado a incluir dosis elevadas entre 10 y 100 veces la dosis normal de un APC, además, de la combinación con otros compuestos secundarios del mismo extracto y con aditivos que pueden complementar sus mecanismos de acción como los ácidos orgánicos. (Cepero, 2006).

Algunos factores que afectan la eficacia de los fitobióticos son (Hashemi y Davoodi, 2010; Cheng et al., 2014):

- Tipo y parte de la planta a usar, así como, sus propiedades físicas.
- Variación genética de la planta.
- Edad y tiempo de cosecha de la planta.
- Dosis y vía de administración utilizadas.
- Método de extracción de los componentes secundarios de la planta.
- Condiciones de almacenamiento.
- Compatibilidad con otros aditivos utilizados en el mismo producto.
- Estado nutricional de los animales.
- Composición de la dieta.

Los aditivos alimentarios fitogénicos o fitobióticos comprenden componentes únicos o combinados teniendo el potencial de mejorar el rendimiento productivo de los animales y, por lo tanto, ser considerados como una alternativa a los APC (Steiner y Shah, 2015).

## **Combinación de fitobióticos con ácidos orgánicos**

De los aceites esenciales, el timol, eugenol y la piperina, presentes en el tomillo, clavo y pimienta negra, han sido usados desde la antigüedad por sus efectos antimicrobianos y como moduladores de la digestión al estimular la secreción de enzimas digestivas (Martínez et al., 2009).

En el caso de los ácidos orgánicos, el ácido benzoico se encuentra en la naturaleza de ciertos frutos y bayas, sintetizado como un mecanismo de defensa para la acidificación del medio y por su efecto antimicrobiano. El ácido benzoico es empleado en la alimentación animal como conservante, lo que permite el aprovechamiento de sus propiedades antibacterianas y antifúngicas, considerándose como el más efectivo frente a bacterias (*Enterobacterias*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*), hongos y levaduras (Martínez et al., 2009).

En los últimos años se ha demostrado que, mediante la combinación de los principios activos de los aceites esenciales, timol, eugenol y piperina con ácidos orgánicos, como el ácido benzoico, permite potencializar sus efectos y actuar con mayor eficiencia, además, de ajustar mejor su dosificación, disminuir su costo y evitar efectos adversos por una sobredosis. Su correcta combinación, ha demostrado un aumento importante de la actividad antimicrobiana y la secreción de enzimas digestivas (Martínez et al., 2009; Meuter y Martínez, 2011):

- **Actividad antimicrobiana:** el eugenol y timol interactúan en las membranas bacterianas haciéndolas más permeables, lo que facilita que el ácido benzoico penetre su pared celular y se acumule en su interior, provocando una disminución de su pH interior y la liberación de protones; como consecuencia, los microorganismos usarán sus reservas energéticas para expulsar dichos protones, ocasionando problemas metabólicos importantes que impiden su multiplicación bacteriana y hasta su muerte.
- **Secreción de enzimas digestivas:** la piperina estimula los receptores de las paredes celulares en el páncreas, aumentando la secreción de las principales enzimas digestivas, amilasa, lipasa y tripsina.

## Salud intestinal

En la actualidad, uno de los principales intereses en producción animal es la relación entre nutrición y salud intestinal, reconociendo que tanto su mantenimiento y mejora es más complejo que la simple modulación de la microbiota intestinal. Se debe tener en cuenta que el TGI alberga más de 640 especies diferentes de bacterias, contiene más de 20 hormonas diferentes, comprende un sistema de órganos que regula la digestión, absorción y uso de nutrientes (siendo el principal responsable del correcto aprovechamiento del alimento y por ende del crecimiento animal), además, de ser el sitio de mayor exposición potencial de patógenos, por lo tanto, un TGI sano y con buen funcionamiento es un punto importante para lograr el máximo desempeño productivo de las aves (Choct, 2009; Sugiharto, 2016; Oviedo, 2019).

Para describir con precisión a que se refiere salud intestinal sería muy complejo, ya que comprende el desarrollo completo, macroscópico, microscópico e ininterrumpido del conducto digestivo, así como el equilibrio óptimo entre la microbiota intestinal y el sistema inmunológico (Boleli et al., 2008; Faus, 2008; Choct, 2009).

Debido a la intensa selección genética en la avicultura por más de 50 años, se han generado aves que se caracterizan por una ingesta de alimento extremadamente alta, lo que puede provocar que en ciertas ocasiones estas cantidades excesivas, así como, ciertos ingredientes del alimento

ejerzan una presión considerable sobre el TGI, a tal razón de dañar su estado de salud y provocar una pérdida parcial de sus funciones (Ducatelle et al., 2018).

Cualquier daño que ocurra en la integridad epitelial del TGI provocaría un impacto negativo en el ave, pudiendo ocasionar un intestino permeable, cambios en la composición de su microbiota y en su morfología de la pared intestinal e inflamación, desviando de esta manera la energía destinada a la producción de carne a la función de defensa, presentándose una mala conversión alimenticia, pigmentación, disminución en la producción y en la eficiencia del procesado, además, de una preocupación por la seguridad alimentaria, afectando el rendimiento y rentabilidad de las aves (Pérez, 2018; De Meyer et al., 2019).

### **Biomarcadores usados como indicadores de salud intestinal**

En la actualidad, existe la necesidad de realizar un seguimiento del estado de salud del TGI en las aves por medio de biomarcadores confiables, específicos y sensibles, permitiendo obtener estudios sobre la patogénesis de alguna enfermedad y el monitoreo de la situación de campo que pudiera existir en nuestras granjas, esto con la finalidad de crear estrategias para la prevención de enfermedades y disminuir la necesidad de usar antibióticos terapéuticos (Sandoval et al., 2002; Ducatelle et al., 2018). Dichos biomarcadores se pueden definir, como: indicadores medibles de sustancias o compuestos biológicos que se asocian con condiciones de salud intestinal normales o anormales (Rosales y Tellez, 2019).

Algunos biomarcadores utilizados en la avicultura para la evaluación de la salud intestinal son (Sandoval et al., 2002; Ducatelle et al., 2018; Rosales y Tellez, 2019):

- Longitud de las vellosidades intestinales.
- Profundidad de criptas intestinales.
- Relación longitud de las vellosidades:profundidad de criptas.
- Medición del grosor total de la mucosa intestinal.
- Identificación y cuantificación de la microbiota intestinal a través del raspado de la mucosa intestinal, contenido cecal o en las excretas.
- Medición de IgA secretora (SIgA).
- Medición de butirato en ciego.
- Hemograma o conteo de células sanguíneas.
- Cuantificación de linfocitos T en la mucosa de la lámina propia.
- Medición de IFN-  $\gamma$ .
- Medición de D-lactato en sangre.

- Medición de isotiocianato-dextrano de fluoresceína (FITC-d;3-5kDa).
- Evaluación de la actividad SOD.
- Evaluación de la capacidad antioxidante total.
- Medición de Citrulina MUC2.
- Cuantificación de proteínas de fase aguda.
- Cuantificación de lipopolisacáridos.

Para tener un panorama más acertado y confiable a la hora de evaluar la salud intestinal de las aves, es necesario el uso de múltiples biomarcadores, ya que es poco probable que el uso de uno solo sea suficiente para dicho seguimiento (Ducatelle et al., 2018).

## JUSTIFICACIÓN

En la industria avícola en los últimos 40 años, ha sido común incluir antibióticos al alimento de las aves, con la finalidad de promover el crecimiento y prevenir la proliferación de microorganismos patógenos a nivel intestinal; sin embargo, debido a la tendencia mundial de restringir el uso de APC se ha generado un gran interés en utilizar algunas alternativas naturales. Debido a las limitaciones que tiene el uso de antibióticos, ha sido necesario buscar productos más seguros e inocuos.

En la actualidad ha surgido una amplia variedad de productos alternativos para sustituir a los APC con el fin de limitar el número de microorganismos patógenos intestinales, mejorar la capacidad de absorción del intestino y por ende mejorar los parámetros productivos, así como el bienestar animal.

Con estos antecedentes se realizó la presente investigación donde se evaluó la adición de diferentes eubióticos comerciales, compuestos principalmente de silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, bacterias probióticas como *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Clostridium butyricum* y aceites esenciales (timol, eugenol, piperina) con un ácido orgánico (ácido benzoico) en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda y su efecto en el rendimiento productivo y salud intestinal.

## **HIPÓTESIS**

La inclusión de eubióticos (dos compuestos probióticos y un fitobiótico) en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda machos presentan resultados similares en el rendimiento productivo, salud intestinal, rendimiento de la canal y pigmentación de la piel en pollos Ross 308 respecto al APC enramicina.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la inclusión de diferentes eubióticos comerciales (Probion-forte©, EndoBan® + Probion-forte© y CRINA® Poultry Plus) en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda y su efecto en el rendimiento productivo, integridad intestinal, índice heterófilo-linfocito, rendimiento de la canal y pigmentación de la piel, como alternativas al uso de antibióticos promotores de crecimiento como la enramicina.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar los parámetros productivos (peso corporal, consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad), rendimiento de la canal y pigmentación de la piel en pollos de engorda alimentados con dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con los diferentes eubióticos y el APC enramicina.
- Medir la longitud de las vellosidades intestinales, profundidad de la cripta, relación longitud de la vellosidad:profundidad de cripta y grosor total de la mucosa intestinal en pollos de engorda alimentados con dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con eubióticos y el APC enramicina.
- Evaluar el índice heterófilo-linfocito en sangre mediante la realización de un hemograma en pollos de engorda alimentados con dietas sorgo-pasta de soya adicionadas con eubióticos y enramicina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), ubicado en la calle Manuel M. López s/n, en la Colonia Zapotitlán, Delegación Tláhuac, Ciudad de México, a una altura de 2250 msnm, 19°17' latitud norte y el meridiano 99° 02' 30" longitud oeste (INEGI, 1992).

### Manejo de los animales

Para este estudio, se emplearon 1000 pollos de engorda machos de 1 día de edad de la estirpe Ross 308 provenientes de una incubadora comercial, fueron alojados en una caseta de ambiente natural en corrales de piso con una dimensión de 3 m<sup>2</sup> con cama de viruta de madera, con una densidad de población de 10 aves/m<sup>2</sup> durante 42 días.

### Tratamientos

Las aves se distribuyeron en un diseño completamente al azar en 5 tratamientos con 8 réplicas de 25 aves cada una, las cuales fueron conformados de la siguiente manera:

- **Tratamiento 1.-** Dieta basal sin antibiótico promotor de crecimiento (control negativo) **(CON)**.
- **Tratamiento 2.-** Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (control positivo) **(ENR)**.
- **Tratamiento 3.-** Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) **(PF)**.
- **Tratamiento 4.-** Como 1+ EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) **(EB+PF)**.
- **Tratamiento 5.-** Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) **(CPP)**.

En el **Cuadro 3**, se pueden observar a detalle los tratamientos con el número de repeticiones, número de aves por repetición y número de aves por tratamiento.

Las dietas experimentales, fueron formuladas conforme a lo señalado en el manual de la estirpe Ross 308 (Aviagen, 2019), el programa nutricional constó de 3 fases de alimentación; iniciación (1-10 días de edad) **Cuadro 4**, crecimiento (11-21 días de edad) **Cuadro 5** y finalización (22-42 días



de edad) **Cuadro 6.** El alimento fue fabricado en la planta de alimentos del CEIEPAv., en presentación harina.

El agua y el alimento se suministraron ad libitum durante todo el ciclo productivo. Se utilizaron comederos tipo minitolva y bebederos tipo vitrolero para la fase de iniciación y comederos manuales de tolva y bebederos de campana para la fase de crecimiento y finalización.

A los 10 días de edad las aves fueron vacunadas contra la Enfermedad de Newcastle vía ocular y contra la Enfermedad de Newcastle + Influenza Aviar por vía subcutánea (tercio medio dorsal del cuello 0.5 ml/ave).

## **Mediciones experimentales**

### **Parámetros productivos**

Se llevaron registros semanales durante los 42 días de prueba, de peso corporal, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad.

### **Rendimiento y pigmentación de la canal**

A los 42 días de crianza, se tomaron aleatoriamente 25 aves por tratamiento, las cuales fueron procesadas bajo condiciones comerciales en el módulo de procesamiento avícola del CEIEPAv.

Las aves fueron identificadas, pesadas y recibieron ayuno previo de 8 horas, para después ser sometidas al protocolo de la sala de sacrificio; primero se colgaron en los ganchos de la cadena transportadora, se insensibilizaron por medio de un aturdidor comercial bajo los parámetros de 25 V, 0.25 A y 460 Hz de corriente directa del tipo pulsátil. Posteriormente se realizó un corte unilateral en el cuello para ser desangradas. Luego pasaron al tanque de escaldado con agua a 53°C durante un minuto y por último fueron desplumadas mecánicamente. La evisceración, se realizó manualmente haciendo un primer corte circular de la cloaca y un segundo corte perpendicular a dicho corte para facilitar la extracción de las vísceras (molleja, intestinos, hígado, pulmones, corazón, bazo y buche). Enseguida se obtuvieron los pesos de la canal caliente eviscerada (sin cabeza y sin patas), posterior a ello las canales fueron introducidas en un tanque de chiller de agua durante 45 minutos y finalmente fueron pesadas; con dichos pesos se calculó el rendimiento en canal caliente y canal fría respectivamente (García, 2012).

De las mismas 25 aves utilizadas para evaluar el rendimiento de la canal por tratamiento, se determinó la pigmentación en vivo al finalizar la semana 6 del experimento, así como, la

pigmentación cutánea en canal caliente y canal fría, utilizando el colorímetro de reflectancia (Minolta CR-400), midiendo los valores  $a^*$  (enrojecimiento) y  $b^*$  (amarillamiento).

### **Integridad de las vellosidades intestinales**

A los 21 y 42 días de edad se sacrificaron humanitariamente en base a la NOM-033-SAG/ZOO-2014, 8 pollos por tratamiento para realizar la medición de las vellosidades intestinales y profundidad de las criptas de cada uno de los segmentos del intestino delgado, se colectaron muestras de aproximadamente 2 cm del duodeno (tercio medio del asa duodenal), yeyuno (5 cm antes del divertículo de Meckel) e íleon (2 cm antes de los sacos ciegos), utilizando agua para el retiro del contenido intestinal y de esta forma limpiar los fragmentos de intestino.

La técnica de fijación usada fue por perfusión intraluminal e inmersión en formalina al 10% amortiguada a pH de 7.2, posteriormente fueron procesadas por las técnicas de rutina; inclusión en parafina y tinción de rutina con hematoxilina y eosina (Hall, 1995; Allen, 1995).

Los cortes histológicos fueron evaluados a un aumento total de 40X, con un microscopio fotónico (Motic BA310®) adaptado a una cámara para microscopía digital y conectado a un equipo de cómputo, mediante el software LAS EZ de Leica.

Las vellosidades intestinales así como la profundidad de la cripta se midieron en orientación longitudinal desde la base a la punta de cada una de ellas, obteniendo valores en micrómetros ( $\mu\text{m}$ ). Se analizaron de 5-6 campos microscópicos por cada corte histológico para obtener el número de vellosidades presentes en dicho campo microscópico de cada una de las partes del intestino delgado (duodeno, yeyuno e íleon).

La relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta se calculó dividiendo la altura de la vellosidad entre la profundidad de la cripta; mientras que el grosor total de la mucosa se calculó como la longitud total de la mucosa (altura de la vellosidad + profundidad de la cripta).

### **Hemograma**

A los 42 días de edad se colectaron de la vena radial 5 muestras de sangre (3 ml) por tratamiento (25 muestras totales) y se conservaron en tubos con anticoagulante EDTA. Se realizó el conteo leucocitario diferencial en frotis sanguíneos teñidos con Wright. Las cuentas totales se determinaron indirectamente por el cálculo de los porcentajes de la célula y de cuentas totales utilizando una cámara de Neubauer, la cual se observó al microscopio.

## **Análisis estadístico**

Previo al análisis estadístico, se verificó que los resultados obtenidos de las variables consideradas en el estudio cumplieron los supuestos de normalidad de los residuos o prueba de Shapiro-Wilk, así como de la homogeneidad de varianzas o prueba de Levene, fijando un nivel de significancia de 5% para ambas pruebas.

A los datos de las variables en estudio, se les realizó un análisis de varianza conforme a un diseño completamente al azar.

El diseño experimental fue:

$$Y_{ik} = \mu + \alpha_i + e_{ik}$$

Donde:

**i**= Tratamientos (1, 2, 3, 4 y 5).

**k**= Réplicas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8).

**Y<sub>ik</sub>**= Variable de respuesta (peso corporal, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de mortalidad, rendimiento de la canal, pigmentación en pollo vivo, canal caliente y fría, longitud de las vellosidades intestinales, profundidad de las criptas, grosor de la mucosa intestinal y hemograma).

**μ**= Media de la población.

**α<sub>i</sub>**= Efecto del i-ésimo tratamiento.

**e<sub>ik</sub>**= Error experimental aleatorio

Al presentar diferencia estadística entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), los datos de las variables en estudio se sometieron a un análisis de comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de ( $P < 0.05$ ).

Los resultados de todas las variables evaluadas se analizaron con el paquete estadístico Statistical package for social sciences (SPSS), versión 10.0 para Windows

## RESULTADOS

### Parámetros productivos

Los resultados promedio obtenidos en 42 días de experimentación para ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad se pueden apreciar en el **Cuadro 7**. Se puede observar que en ganancia de peso existió diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con mayor ganancia de peso en los tratamientos ENR (2331.4 g), PF (2326.4 g), CPP (2312.6 g) y EB+PF (2308.0 g) respectivamente, en comparación con el tratamiento 1 (2230.4 g). Para la variable conversión alimenticia, se observó una disminución ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos con Enradin® (1.65), Probion-forte© (1.65), EndoBan® + Probion-forte© (1.66) y CRINA® Poultry Plus (1.66); teniendo un mayor índice de conversión el tratamiento control (1.69). Finalmente, en las variables consumo de alimento y porcentaje de mortalidad no existió diferencia ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos.

### Rendimiento y pigmentación de la canal

En el **Cuadro 8**, se muestran los datos promedio de peso vivo, peso de la canal caliente, peso de la canal fría y porcentajes de rendimiento de canal caliente y fría en pollos de 42 días de edad. No se encontraron diferencias ( $p > 0.05$ ) en el porcentaje de rendimiento de la canal caliente y canal fría entre los tratamientos; sin embargo, se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos al evaluar los pesos al sacrificio, canal caliente y canal fría. Para la variable peso vivo, se observó un mayor peso ( $p < 0.05$ ) en los tratamientos ENR (2619.0 g), EB+PF (2613.5 g) y PF (2612.5 g) en comparación con los tratamientos CPP (2594.0 g) y CON (2448.2 g). En cuanto a los pesos de la canal caliente (PCC) y fría (PCF) se puede observar que los tratamientos PF (PCC=1888.5 g; PCF=1918.0 g), ENR (PCC=1885.8 g; PCF= 1915.2 g), EB+PF (PCC= 1886.7 g; PCF= 1910.5 g) y CPP (PCC= 1860.9 g; PCF= 1883.8 g) obtuvieron mayores pesos ( $p < 0.05$ ) en comparación con el tratamiento sin promotor de crecimiento; donde se obtuvo el menor peso tanto en peso de la canal caliente como en canal fría (PCC= 1746.1 g; PCF= 1773.2 g).

Los resultados promedio para los valores de enrojecimiento y amarillamiento de la piel en vivo, canal caliente y canal fría se pueden ver en el **Cuadro 9**. Se puede observar que en los datos del enrojecimiento de la piel en vivo no existió diferencia ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos. Sin embargo, en el enrojecimiento de la piel en canal caliente existió diferencia ( $< 0.05$ ) entre tratamientos, con un mayor enrojecimiento en el tratamiento PF (3.71), seguido por los tratamientos ENR (2.67), EB+PF (1.95) y CON (1.93); y con menores valores de enrojecimiento de la piel en el tratamiento CPP (1.76). Para el enrojecimiento de la piel en canal fría, de igual forma se obtuvo diferencia ( $p < 0.05$ )

entre tratamientos, con mayor enrojecimiento en el tratamiento PF (4.63) seguidos por los tratamientos ENR (3.70) y EB+PF (3.05); con menores valores de enrojecimiento de la piel en los tratamientos CON (2.68) y CPP (2.18). Para el caso del amarillamiento de la piel en vivo, en canal caliente y canal fría los datos obtenidos no indicaron diferencia significativa ( $p>0.05$ ) entre los tratamientos.

## **Integridad de las vellosidades intestinales**

### **➤ Día 21 de edad**

Los resultados promedio para la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas en pollo de 21 días de edad, se pueden observar en el **Cuadro 10**. Para la porción intestinal duodeno, no hubo diferencia ( $p>0.05$ ) en la longitud de vellosidades entre tratamientos; sin embargo, para la profundidad de cripta existió diferencia ( $p<0.05$ ) entre tratamientos, con mayor profundidad de cripta en el tratamiento EB+PF (333  $\mu\text{m}$ ) seguido por los tratamientos CPP (316  $\mu\text{m}$ ) y PF (306  $\mu\text{m}$ ); y con menor profundidad en los tratamientos de ENR (285  $\mu\text{m}$ ) y CON (256  $\mu\text{m}$ ) **Figuras 1-10**. Para la porción yeyuno, no se encontró diferencia ( $p>0.05$ ) entre tratamientos para la longitud de las vellosidades; no así, para la profundidad de cripta donde se observó diferencia ( $p<0.05$ ), con mayor profundidad en los tratamientos EB+PF (225  $\mu\text{m}$ ), PF (223  $\mu\text{m}$ ) y CPP (219  $\mu\text{m}$ ) en comparación con los tratamientos ENR (195  $\mu\text{m}$ ) y CON (184  $\mu\text{m}$ ) **Figuras 11-20**. En la porción intestinal íleon, los resultados de la longitud de vellosidad indicaron diferencia ( $p<0.05$ ) entre tratamientos, con menor longitud en el tratamiento CON (633  $\mu\text{m}$ ), seguido por el tratamiento ENR (675  $\mu\text{m}$ ); mientras que, los tratamientos CPP (755  $\mu\text{m}$ ), EB+PF (741  $\mu\text{m}$ ) y PF (728  $\mu\text{m}$ ) obtuvieron una mayor longitud de las vellosidades. Los resultados de la profundidad de cripta en íleon mostraron cambios significativos ( $p<0.05$ ), con menor profundidad de cripta en el tratamiento control (191  $\mu\text{m}$ ) seguido por los tratamientos con Enradin® (226  $\mu\text{m}$ ), EndoBan® + Probiom-forte® (238  $\mu\text{m}$ ) y CRINA® Poultry Plus (252  $\mu\text{m}$ ); con una mayor profundidad de cripta en el tratamiento con Probiom-forte® (265  $\mu\text{m}$ ) **Figuras 21-30**.

### **➤ Día 42 de edad**

Los datos promedio para la longitud de vellosidades y profundidad de criptas en pollo de 42 días de edad, se pueden observar en el **Cuadro 11**. Para el caso de duodeno, la longitud de las vellosidades mostraron diferencias ( $p<0.05$ ) entre tratamientos, con menor longitud de las vellosidades en el tratamiento CON (2028  $\mu\text{m}$ ), en relación con los tratamientos ENR (2203  $\mu\text{m}$ ), CPP (2221  $\mu\text{m}$ ), EB+PF (2227  $\mu\text{m}$ ) y PF (2354  $\mu\text{m}$ ) respectivamente. Para la profundidad de cripta, se encontró diferencia ( $p<0.05$ ) entre tratamientos, con mayor profundidad de cripta en el

tratamiento CPP (377  $\mu\text{m}$ ) seguido por los tratamientos EB+PF (335  $\mu\text{m}$ ) y PF (306  $\mu\text{m}$ ); y con menor profundidad de cripta en los tratamientos CON (293  $\mu\text{m}$ ) y ENR (287  $\mu\text{m}$ ) **Figuras 31-40**. Para la porción intestinal yeyuno, existió diferencia ( $p < 0.05$ ) en la longitud de vellosidades entre tratamientos, con menor longitud de vellosidades el tratamiento testigo (1091  $\mu\text{m}$ ), seguido por los tratamientos con Enradin® (1160  $\mu\text{m}$ ), CRINA® Poultry Plus (1191  $\mu\text{m}$ ) y Probion-forte© (1210  $\mu\text{m}$ ); con una mayor longitud de vellosidades en el tratamiento con EndoBan® + Probion-forte© (1263  $\mu\text{m}$ ). Para la variable profundidad de cripta, de igual manera, se observó diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con mayor profundidad en el tratamiento CPP (268  $\mu\text{m}$ ), seguido de los tratamientos CON (239  $\mu\text{m}$ ), PF (245  $\mu\text{m}$ ) y EB+PF (245  $\mu\text{m}$ ) respectivamente. Sin embargo, el tratamiento con ENR (226  $\mu\text{m}$ ) obtuvo la menor profundidad de cripta **Figuras 41-50**. En la porción íleon, los resultados de la longitud de vellosidad indicaron diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con una menor longitud en el tratamiento CON (809  $\mu\text{m}$ ), seguido por los tratamientos ENR (858  $\mu\text{m}$ ), CPP (865  $\mu\text{m}$ ) y PF (870  $\mu\text{m}$ ) respectivamente. No obstante, el tratamiento EB+PF (909  $\mu\text{m}$ ) tuvo la mayor longitud de las vellosidades. Los resultados de la profundidad de cripta mostraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, con menor profundidad de cripta en el tratamiento PF (190  $\mu\text{m}$ ), seguido por los tratamientos CON (200  $\mu\text{m}$ ), EB+PF (204  $\mu\text{m}$ ) y CPP (210  $\mu\text{m}$ ) respectivamente; con una mayor profundidad de cripta en el tratamiento ENR (230  $\mu\text{m}$ ) **Figuras 51-60**.

#### ➤ **Relación longitud de la vellosidad:profundidad de cripta**

Los resultados promedios de la relación longitud de vellosidades y profundidad de cripta en pollo de 21 y 42 días de edad se pueden observar en el **Cuadro 12**. Los valores de la relación longitud de la vellosidad y profundidad de la cripta en pollos de 21 días, mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, para la porción duodeno, existió una mayor relación longitud de vellosidades:profundidad de cripta en el tratamiento CON (7.22), seguido por el tratamiento ENR (6.53); y con menor relación longitud de vellosidades:profundidad de cripta en los tratamientos PF (6.16), CPP (5.75) y EB+PF (5.53) respectivamente. Para la relación longitud de vellosidades:profundidad de cripta para la porción intestinal del yeyuno, se obtuvo diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con mayor relación en el tratamiento CON (4.96), seguido por los tratamientos ENR (4.61) y CPP (4.42) respectivamente. Sin embargo, los tratamientos EB+PF (4.27) y PF (4.23) obtuvieron una menor relación longitud de vellosidades:profundidad de cripta. Para la porción intestinal íleon, existió diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos en la relación longitud de vellosidades:profundidad de cripta, con una menor relación en el tratamiento PF (2.78), seguido por los tratamientos ENR (3.06), CPP (3.06) y EB+PF (3.15); y con una mayor relación en el tratamiento CON (3.36).

Los resultados promedios de los efectos de la relación longitud de la vellosidad y profundidad de la cripta en pollos de 42 días, mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, para la porción intestinal duodeno, con una mayor relación en los tratamientos PF (7.97) y ENR (7.79), seguidos por los tratamientos CON (7.10) y EB+PF (6.89); y con una menor relación en el tratamiento CPP (6.03). Para la relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta para la porción yeyuno se obtuvo diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con mayor relación en el tratamiento EB+PF (5.40) seguido por los tratamientos ENR (5.19) y PF (5.14); y con una menor relación en los tratamientos CPP (4.69) y CON (4.68). Para la porción intestinal íleon se encontró diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con una menor relación en el tratamiento ENR (3.82), seguido por los tratamientos CON (4.09), CPP (4.25) y EB+PF (4.56) respectivamente; y con una mayor relación en el tratamiento PF (4.85).

### ➤ **Grosor de la mucosa intestinal**

Los datos promedios del grosor total de la mucosa intestinal en pollo de 21 y 42 días de edad se pueden observar en el **Cuadro 13**. Los valores del grosor de la mucosa en pollos de 21 días no mostraron diferencia ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos, para la porción del duodeno; en cambio, para la porción intestinal del yeyuno si existió diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, mostrando un mayor grosor de la mucosa intestinal en el tratamiento EndoBan® + Probion-forte© (1177  $\mu\text{m}$ ) y CRINA® Poultry Plus (1171  $\mu\text{m}$ ), seguido por los tratamientos Probion-forte© (1157  $\mu\text{m}$ ) y Enradin® (1109  $\mu\text{m}$ ); y con menor grosor de la mucosa el tratamiento control (1085  $\mu\text{m}$ ). Para la porción íleon se encontró diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con un menor grosor de la mucosa intestinal en los tratamientos CON (824  $\mu\text{m}$ ) y ENR (901  $\mu\text{m}$ ); mientras que, los tratamientos CPP (1007  $\mu\text{m}$ ), PF (993  $\mu\text{m}$ ) y EB+PF (979  $\mu\text{m}$ ) presentaron un mayor grosor de la mucosa ileal respectivamente.

Los resultados promedios del grosor de la mucosa intestinal en pollos de 42 días mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, para la porción intestinal duodeno, con un mayor grosor de la mucosa intestinal en los tratamientos con EndoBan® + Probion-forte© (2562  $\mu\text{m}$ ), Probion-forte© (2560  $\mu\text{m}$ ), CRINA® Poultry Plus (2535  $\mu\text{m}$ ) y Enradin® (2490  $\mu\text{m}$ ) respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo (2321  $\mu\text{m}$ ). Para el grosor de la mucosa en la porción yeyuno se obtuvo diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con mayor grosor en el tratamiento EB+PF (1478  $\mu\text{m}$ ) seguido por los tratamientos PF (1455  $\mu\text{m}$ ) y CPP (1453  $\mu\text{m}$ ); y con un menor grosor en los tratamientos ENR (1385  $\mu\text{m}$ ) y CON (1331  $\mu\text{m}$ ). Para la porción intestinal íleon, se encontró diferencia ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con un menor grosor de la mucosa intestinal en el tratamiento testigo (1016  $\mu\text{m}$ ), seguido por los tratamientos con

Probion-forte© (1060 µm), CRINA® Poultry Plus (1075 µm) y Enradin® (1101 µm); y con un mayor grosor en el tratamiento con EndoBan® + Probion-forte© (1106 µm).

## Hemograma

En el **Cuadro 14**, se muestran los resultados del promedio de los diferentes componentes sanguíneos en pollos de 42 días de edad. Se presentaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos en el número de leucocitos, heterófilos y monocitos. En leucocitos totales, los tratamientos con Enradin® (1.98) y CRINA® Poultry Plus (2.08) mostraron menor número de leucocitos, seguidos por los tratamientos con EndoBan® + Probion-forte© (2.30) y el testigo (3.14). Mientras que en el tratamiento con Probion-forte© (3.40) se mostró el mayor número de leucocitos totales.

Para el caso de los heterófilos, los tratamientos EB+PF (0.36), ENR (0.38) y CPP (0.38), tuvieron una disminución en el número de heterófilos en comparación con los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ). Los mayores conteos en este parámetro se obtuvieron en los tratamientos PF (0.86) y CON (0.66) respectivamente.

Los resultados promedio del número de monocitos mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, con un mayor conteo de monocitos en el tratamiento PF (0.24), seguido por los tratamientos EB+PF (0.14), CON (0.10) y CPP (0.10) respectivamente; y con un menor número de monocitos en el tratamiento ENR (0.02).

Para las variables hematocrito, conteo de eritrocitos, trombocitos, sólidos totales, linfocitos, eosinófilos, basófilos y la relación heterófilos-linfocitos, no se reportaron diferencias ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos.



## DISCUSIÓN

### Parámetros productivos

Las variables del rendimiento productivo son algunos de los factores más importantes que se utilizan para evaluar los beneficios económicos de la producción animal. En el presente estudio, durante el periodo de experimentación (1-42 días), los pollos alimentados con los diferentes eubióticos comerciales (PF y EB+PF) presentaron una ganancia de peso y conversión alimenticia similar a las alimentados con el APC (ENR), pero fue estadísticamente diferente a los pollos del tratamiento control; mientras, que el consumo de alimento y el porcentaje de mortalidad no fue significativo entre los tratamientos con eubióticos, APC y control.

Los resultados obtenidos en ganancia de peso y conversión alimenticia entre los diferentes eubióticos, mostraron ser mejores en el tratamiento con PF, al tener 4.3% mayor peso y 0.04 puntos menor en conversión alimenticia que el tratamiento CON. Esto se puede deber a los mecanismos de acción que ejercen los microorganismos probióticos que lo conforman, debido a que, dichas bacterias del género *Bacillus* y *Clostridium* son especializadas en formar esporas que promueven la salud y desarrollo intestinal con efecto inmunomodulador, además de sintetizar vitaminas (K y algunas del complejo B) y enzimas (amilasa, celulasa y proteasa) las cuales coadyuvan en el proceso de digestión nutrientes y por ende proporcionar una mejora en la salud intestinal para el aprovechamiento de los nutrientes (VyQ de México, 2022).

Resultados parcialmente similares a los nuestros los obtuvo Margarito (2022), quien evaluó la inclusión de los mismos microorganismos probióticos utilizados en la presente investigación (*Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum*), además, de la inclusión del APC enramicina; los resultados obtenidos por la autora indicaron que el tratamiento a base de estos DFM obtuvo 5.4% más de ganancia de peso respecto al tratamiento control y 0.85% más contra el tratamiento con enramicina, sin embargo, en las variables consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad no mostraron diferencia entre tratamientos.

En otra investigación realizada por Zhang et al., (2021), evaluaron el efecto de la suplementación de un solo microorganismo probiótico como fue *Bacillus subtilis* (750 g/ton) en comparación con bacitracina de zinc (250 g/ton) en dietas con maíz-pasta de soya. Estos autores observaron que la suplementación con *Bacillus subtilis* mejoró significativamente la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia respecto al tratamiento control (sin APC ni probiótico), aunque obtuvieron resultados similares con el tratamiento de bacitracina de zinc, mientras que el consumo diario de alimento y la mortalidad no fueron significativamente diferentes en todos los tratamientos.

En la presente investigación se utilizó el producto comercial EndoBan® + Probion-forte©, teniendo resultados favorables en ganancia de peso (2308 g) y conversión alimenticia (1.66) en comparación con el tratamiento control (2230.4 g y 1.70) y sin diferencia significativa con el tratamiento de ENR (2331.4 g y 1.65) respectivamente. Stoops et al., (2019), emplearon dos fases de alimentación (1-14 días y 15-42 días) en dietas con maíz + pasta de soya como ingredientes principales y la adicción del producto EndoBan® (500 g/ton) sin la inclusión simbiótica de Probion-forte© como en nuestra investigación; reportando los mismos resultados que nosotros con un incremento del 2% en el peso corporal al día 42 de edad y menor conversión alimenticia (1.58 vs 1.60) en comparación con la dieta control.

Diversos estudios en la literatura han reportado efectos nulos o mínimos sobre el rendimiento productivo al utilizar probióticos en la producción animal, esto podría deberse a las diferentes especies de microorganismos utilizados, sus métodos de preparación, estabilidad, concentración y a sus características y mecanismos de acción, así como a factores de estrés, como el clima y el manejo de las aves (Jin 1998; Margarito, 2022).

Caso parecido fue el que tuvieron De Souza et al., (2018), quienes demostraron que la adición de *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum* y *Enterococcus faecium* en el alimento de pollos de engorda, no tiene un efecto significativo en ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, así como en rendimiento de canal, en comparación con el tratamiento basal. Los autores concluyeron que dichos resultados se debieron a la disminución de la viabilidad de los microorganismos probióticos utilizados, así como, al bajo consumo de alimento obtenido, reduciendo la dosis de DFM que llegan correctamente al TGI, bajando de esta forma su efectividad.

En cuanto al fitobiótico CRINA® Poultry Plus utilizado, se mostró una mejor ganancia de peso con un 3.7% superior al tratamiento control y una disminución de la conversión alimenticia (1.67 vs 1.70) contra dicho tratamiento. Los efectos positivos que tienen los aceites esenciales en el TGI de las aves pueden ser un factor de mejora en el rendimiento productivo, debido a que permiten restaurar y mejorar el equilibrio de la microbiota intestinal y de esta forma aumentar la absorción de nutrientes (Guoqi et al., 2021).

Cruz et al., (2012), evaluaron la adición de CRINA® Poultry Plus en dietas de pollos de engorda a base de maíz + pasta de soya como una alternativa a los APC; utilizando los siguientes tratamientos: control negativo sin APC, con avilamicina (10 ppm/ton), con CRINA® Poultry Plus (300 ppm/ton) de 1-42 días; con avilamicina de 1-21 días + CRINA® Poultry Plus de 22 a 42 días y una dieta con avilamicina y CRINA® Poultry Plus de 1-42 días. Estos autores observaron que la

inclusión de CRINA® Poultry Plus en las dietas tuvo un efecto benéfico en el desempeño productivo de los pollos, al igual que el presente estudio; teniendo como resultado que la ganancia de peso del tratamiento control fue significativamente más baja en comparación con los demás tratamientos, sin embargo, a diferencia de nuestros resultados, aquí se mostró que las aves del tratamiento con CRINA® Poultry Plus tuvieron la ganancia de peso más alta incluso mayor que la del tratamiento con APC. De igual forma que en nuestro estudio, las dietas suplementadas con CRINA® Poultry Plus y/o avilamicina mejoraron la conversión alimenticia en comparación con el tratamiento control, además, de no observar diferencias estadísticas entre los tratamientos para el consumo de alimento y porcentaje de mortalidad.

Díaz et al., (2015) sugirieron que la eficiencia de los fitobióticos como aditivos alimentarios se basa en los componentes de los aceites esenciales y los efectos sinérgicos de las moléculas activas en las plantas o extractos, por lo cual, para lograr mejoras en el rendimiento productivo en los animales, es importante seleccionar las plantas adecuadas con los componentes deseados en una dosis óptima para la suplementación en las dietas.

Aunque no todos los productos botánicos o sus derivados son efectivos, en algunas investigaciones no se encontraron diferencias estadísticas cuando se han incluido dichos suplementos en la dieta, tal fue el caso de Lee et al., (2003), quienes evaluaron los efectos de timol (99% de pureza), cinamaldehído (99% de pureza) y CRINA® Poultry (anterior producto al nuestro) en pollos de engorda hembras de 21 días de edad; los autores esperaban que la suplementación de las dietas con timol, cinamaldehído y la preparación comercial de CRINA® Poultry, estimulará el rendimiento productivo de los pollos de engorda, sin embargo, dichos suplementos no influyeron en la ganancia diaria de peso (36.2 g, 34.8 g, 36.2 g), consumo de alimento diario (51.4 g, 50.2 g, 51.3 g) y conversión alimenticia (1.42, 1.44, 1.41) respecto al tratamiento control (35.7 g, 51 g, 1.42 respectivamente).

La falta de efectos benéficos de los suplementos utilizados pudo estar relacionada con la composición de la dieta basal y/o las condiciones de alojamiento de las aves; la dieta contenía ingredientes altamente digeribles, por lo que el crecimiento de las poblaciones bacterianas benéficas en el intestino delgado pudo haber sido limitado, teniendo mejores resultados al tener una dieta menos digerible. De igual forma aves sanas, bien nutridas y en instalaciones con buenas condiciones de limpieza y desinfección no responden adecuadamente a los suplementos promotores de crecimiento (Lee et al., 2003).

## Procesamiento de la canal

El procesamiento de las canales tipo supermercado implica únicamente el desplume, desangrado y eviscerado de los pollos, no tomando en cuenta los cortes por piezas y sus pesos relativos (pechuga, pierna y muslo) (Bautista, 2014). En el presente estudio se observó diferencia estadística en el peso vivo y en los pesos relativos de canal caliente y fría, en los pollos a los que se les adicionó los diferentes eubióticos comerciales y el APC en las dietas; en cambio, no se encontró diferencia estadística en el porcentaje del rendimiento de canal caliente y fría, lo que puede atribuirse a que se analizó la proporción que representa el peso de las canales en comparación con el peso vivo del pollo, teniendo como resultado de dicha proporción su porcentaje representativo. De acuerdo con nuestra conclusión, Bautista (2014) realizó un estudio donde utilizó un probiótico a base de tres cepas de *Bacillus subtilis* ( $1.5 \times 10^5$  UFC/g) a razón de 1 kg de probiótico/tonelada de alimento y un complejo enzimático que contenía xilanasas (4000 U/g derivados de *Trichoderma longibrachiatum*), proteasas (8000 U/g derivados de *Bacillus subtilis*) y amilasas (400 U/g derivados de *Bacillus licheniformis*) a razón de 500g/ton; al igual que en nuestro estudio, ella no observó diferencia estadística en el rendimiento de canal eviscerada a lo que lo atribuye que es porque se evaluó la proporción (%) de la canal respecto al peso del ave vivo, además de esto, ella menciona que se puede encontrar diferencias significativas si se evalúan las diferentes piezas de la canal.

Margarito (2022), obtuvo resultados similares a los nuestros, al no presentar diferencia significativa en el rendimiento (%) de la canal fría, pero si en el peso de las canales; las canales presentaron un mayor peso (2612 g) en el tratamiento con el probiótico a base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum* respecto al tratamiento control (2433 g), además, de mostrar un ligero incremento en comparación con el tratamiento con enramicina (2540 g).

Resultados contrarios a los nuestros fueron encontrados por Molnar et al., (2011), quienes realizaron un estudio con la inclusión de 4 diferentes niveles de concentración de *Bacillus subtilis* ( $10^8$  UFC/g,  $10^9$  UFC/g,  $10^{10}$  UFC/g,  $10^{11}$  UFC/g) en dietas de pollos de engorda; ellos obtuvieron menores pesos en las canales evisceradas (2034 g, 2005 g, 1957 g, 2006 g) de estos tratamientos respectivamente en comparación con el grupo control (2039 g), sin embargo al evaluar el rendimiento de los cortes de la canal, pudieron observar que los pollos adicionados con el probiótico presentaron hasta un 8% más de rendimiento de pechuga y un 4% menos de rendimiento en muslos respecto al tratamiento basal.

Del mismo modo, Pelicano et al., (2003), observaron mayor rendimiento de la canal en las aves alimentadas con dietas control (74.55%) respecto a los tratamientos en los que fueron utilizados

diferentes microorganismos probióticos (71.79%). Sin embargo, en los rendimientos de las piezas mostraron que los cortes principales como alas (11.01% vs 11.33%) y pechuga (29.43% vs 29.09%) no obtuvieron diferencia significativa entre el tratamiento control y los probióticos respectivamente; no obstante, los grupos alimentados con probióticos mostraron mayor rendimiento en piernas (34.04%) respecto al control (32.32%).

Diversos estudios donde han evaluado las características de la canal en pollos de engorda alimentados con dietas adicionadas con probióticos, reportan que los DFM favorecen la calidad y el sabor de la carne mediante la mejora de los perfiles de aminoácidos y ácidos grasos, aumentan significativamente el músculo de la pechuga y por ende disminuyen la grasa abdominal, además, de mejorar la capacidad de retención de agua, suavidad, propiedades sensoriales y seguridad microbiana (Herrera, 2019; Tang et al., 2021).

De los eubióticos comerciales evaluados en nuestro experimento, el que tuvo un menor desempeño productivo y de la canal fue el fitobiótico CRINA® Poultry Plus al mostrar 6.0%, 6.6% y 6.2% mayor en peso vivo, peso de canal caliente y peso de canal fría respectivamente contra el tratamiento CON; mientras que con los probióticos PF se obtuvieron valores superiores del 6.7%, 8.2% y 8.2%, y con EB+PF fueron del 6.8%, 8.0% y 7.7% respectivamente. Resultados similares en cuanto a un rendimiento productivo bajo por parte de algún fitobiótico fueron los encontrados por Ding et al., (2020), quienes al evaluar anís estrellado en dos presentaciones distintas (aceite esencial y hojas) no encontraron diferencias estadísticas en cuanto al peso vivo, rendimiento de canal caliente y canal fría respecto al tratamiento control, lo cual también fue reportado por Moreno et al., (2021) al evaluar polvo de hoja de moringa e inulina de agave.

Sin embargo, diversos estudios han resaltado el efecto benéfico de la suplementación de fitobióticos sobre los parámetros de rendimiento y calidad de la canal con marcadas diferencias numéricas en comparación con los grupos controles. En el estudio realizado por Khattak et al., (2014), evaluaron el efecto de extractos naturales de plantas como albahaca, alcaravea, laurel, limón, orégano, salvia, té y tomillo a base de aceites esenciales (aceite de eucalipto (25%), carvacrol (35%), aldehído de cinamilo (25%) y capsaicina (10%)) a diferentes dosis en dietas de pollos de engorda de 42 días de edad; los resultados mostraron un aumento en el peso de la canal y la pechuga y en el porcentaje relativo de carne de pechuga en comparación con el grupo control. Los investigadores demostraron que la inclusión de aceites esenciales en la dieta aumenta el ancho y el área de superficie de las vellosidades intestinales, mejorando de esta manera la absorción de nutrientes, por lo cual, puede ser la explicación de por qué las aves alimentadas con el fitobiótico tuvieron un mayor rendimiento de la canal y la pechuga.

La pigmentación de las canales por lo general no ha sido evaluada por autores en investigaciones realizadas en pollos con la suplementación de eubióticos en la dieta, posiblemente debido a la poca importancia que tiene la pigmentación de la piel de los pollos en algunos países, sin embargo, esta pigmentación de la canal es importante en los consumidores mexicanos, debido a que se sienten atraídos por el color, ya que lo relacionan con productos frescos y de alta calidad, lo que permite la aceptación o rechazo del producto (Pelicano et al., 2003).

En el presente experimento para el amarillamiento de la piel de la canal no se presentó diferencia estadística entre tratamientos en la canal caliente y fría, sin embargo, para el valor enrojecimiento de dichas canales fue mayor tanto en canal caliente como canal fría en el tratamiento con Probiom-forte®. Resultados similares a los nuestros los obtuvieron Pelicano et al., (2003), al no encontrar diferencia entre el amarillamiento de las canales con dietas control (5.25) y con la inclusión de probióticos (4.33). Mientras que los valores de enrojecimiento fueron mayores en los grupos tratados con probióticos (4.52) comparándolo con el grupo control (3.79) después del sacrificio de las aves.

En otro estudio, Cortes et al., (2000) realizaron un experimento en donde evaluaron la pigmentación de la piel en pollos de 49 días de edad, alimentados con una dieta a base de sorgo + pasta de soya, con la inclusión o no de *Bacillus toyoi* ( $10^{10}$  esporas/g) en el alimento. Dichos autores, obtuvieron resultados con una tendencia a ser mejor el color de las canales de pollos alimentados con la adición de *Bacillus toyoi*, mostrando 5.6% mayor de amarillamiento y más del doble de enrojecimiento (1.88 vs 0.69) en comparación con las canales sin la inclusión del probiótico, de forma similar, Bai et al., (2016) encontraron que *Bacillus subtilis* disminuye el amarillamiento y aumenta el enrojecimiento de las canales, mientras que, Wei et al., (2017) demostraron que con la inclusión de *Bacillus amyloliquefaciens* se mejoraba el amarillamiento. Por tal razón, al consumir las aves en su dieta algún probiótico, este mejora la salud intestinal, lo que permite una mayor absorción de los pigmentos (Cortes et al., 2000).

No obstante contrario a los resultados antes mencionados, Herrera (2019) quien comparó dos alternativas al APC enramicina (10 ppm) al utilizar un probiótico a base de *Bacillus subtilis* ( $1 \times 10^{10}$  UFC/g) y un complejo enzimático de mananasa (800.000 U/g); tuvo como resultados un menor amarillamiento de la canal en el tratamiento testigo (33.61) y con el probiótico (34.88); y una mayor pigmentación en el tratamiento con enramicina (36.29).

## **Integridad de las vellosidades intestinales**

Una mejora de la morfología estructural intestinal tiene como resultado un incremento de su función digestiva y de absorción debido a una mayor superficie de absorción (Elhassan et al., 2019). El tener un aumento en la altura de las vellosidades intestinales y una disminución de la profundidad de la cripta indica epitelios maduros, sanos y funcionalmente activos, capaces de una mayor absorción de nutrientes disponibles (Adebiyi et al., 2012; Rivera et al., 2021), en contraste, al tener vellosidades cortas disminuirá la superficie de absorción de los nutrientes y por lo tanto el rendimiento productivo de los animales (Escobar, 2018).

La cripta es considerada como la fábrica de las vellosidades intestinales, por lo que una cripta de mayor profundidad indicará un rápido recambio celular y una alta demanda por un nuevo tejido intestinal (Pacha, 2000), por lo que, la profundidad de las criptas refleja la actividad de diferenciación de los enterocitos, siendo las responsables de la proliferación celular a lo largo del intestino. La actividad proliferativa de las criptas aumenta cuando se necesita que la capa de enterocitos sea reemplazada rápidamente debido a una mayor descamación en respuesta a una inflamación causada por patógenos o sus toxinas; las criptas que presentan una mayor profundidad están asociadas a un mayor gasto nutricional para el mantenimiento del intestino disminuyendo la absorción de los nutrientes y por ende la eficiencia productiva (Pérez, 2018; Montoya, 2019).

Por tal razón, la morfología del intestino es un indicador importante de la salud intestinal: la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas son los principales indicadores de la función de digestión y absorción intestinal, así como la relación longitud de la vellosidad:profundidad de la cripta, asumiendo que a una mayor relación habrá un mejor estado de salud en el intestino y por lo tanto la eficiencia nutricional será mayor (Zhang et al., 2021; Guoqi et al., 2021 ).

En el estudio actual las variables longitud de la vellosidad intestinal, profundidad de cripta, la relación entre ambas y el grosor de la mucosa se vieron afectadas significativa e irregularmente en cada uno de los segmentos del intestino delgado a los 21 y 42 días de evaluación, por tal motivo la discusión de los resultados se hizo en base al producto comercial utilizado.

### **➤ Probiótico Probion-forte©**

El grupo suplementado con *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum* mostró numéricamente vellosidades más largas en la porción del duodeno al día 21 de medición, mientras que al día 42 presentó una longitud de vellosidad significativa del 11% en comparación con el grupo control, siendo el tratamiento eubiótico que obtuvo las vellosidades más largas en el

duodeno en ambas mediciones. Para las porciones yeyuno e íleon tuvo un comportamiento similar a los tratamientos con EndoBan® + Probion-forte© y CRINA® Poultry Plus, no obstante los tres tuvieron vellosidades más largas respecto al grupo control a los días 21 y 42.

Por otra parte, en ambos muestreos el tratamiento con PF mostró una profundidad de cripta similar al resto de los tratamientos eubióticos en la porción intestinal de duodeno y yeyuno, teniendo los tres grupos de igual manera criptas más profundas en comparación con el tratamiento control. Sin embargo, en el íleon se observó que al día 21 el probiótico PF presentó una profundidad de cripta estadísticamente mayor que el resto de los tratamientos, pero al día 42 mostró lo contrario con criptas numéricamente menos profundas y similares a los tratamientos control, EB+PF y CPP.

Al día 21 de edad, se obtuvo diferencia estadística en la relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta, teniendo una mayor relación el grupo control en comparación con los demás tratamientos (ENR, PF, EB+PF, CPP) en las tres porciones del intestino delgado, sin embargo, para el segundo muestreo este comportamiento cambio, ya que el grupo adicionado con PF presento una mayor relación significativa en las porciones de duodeno e íleon, mientras que en el yeyuno se comportó similar al tratamiento EB+PF.

En cuanto al grosor de la mucosa intestinal se observó que las dietas suplementadas con eubióticos mostraron mayor grosor de la mucosa estadísticamente en comparación con el grupo control, no obstante, el tratamiento con la inclusión de PF se comportó numéricamente similar a los grupos con EB+PF y CPP en las tres porciones del intestino delgado a los días 21 y 42 de experimentación.

El aumento significativo en la longitud de las vellosidades intestinales, en la relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta y en el grosor de la mucosa respecto al tratamiento control, es una explicación del rendimiento productivo obtenido de este tratamiento en el presente estudio. Las cepas probióticas *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum* mejoraron la integridad de las vellosidades intestinales en los pollos alimentados con este probiótico; tener vellosidades en buen estado propician una mejora en la absorción de nutrientes y un menor recambio de células funcionales provenientes de las criptas, además de necesitar menores requerimientos nutricionales para su mantenimiento, lo que ocasiona indirectamente tener mayor energía disponible para la mejora de los parámetros productivos (Rivera et al., 2021).

No se encontraron estudios donde se haya evaluado la morfología intestinal de pollos de engorda con el uso sinérgico de *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum*, sin embargo, Li et al., (2019) evaluaron los efectos de tres cepas de *Bacillus spp.* (*Bacillus coagulans* TBC169,



*Bacillus subtilis* PB6 y *Bacillus subtilis* DSM32315) sobre la morfología intestinal en pollos de engorda. Los autores encontraron que la altura de las vellosidades y la relación entre la altura de vellosidades y profundidad de criptas del duodeno y yeyuno aumentó en las aves alimentadas con *Bacillus coagulans* TBC169 en comparación con el grupo control al día 21 y 42 de muestreo; mientras que, la suplementación con *Bacillus subtilis* PB6 en la dieta mejoró el largo de las vellosidades y la relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta solo en el yeyuno en comparación con la dieta control al día 42, por lo que la implementación de cepas de *Bacillus spp.* en dietas de pollo de engorda mejora en gran medida la digestibilidad intestinal de nutrientes y su capacidad de absorción, al regular la composición de la microbiota intestinal, estimular el peristaltismo y mejorar la morfología del intestino delgado.

#### ➤ **Probiótico EndoBan® + Probion-forte©**

El tratamiento suplementado con EndoBan® + Probion-forte© mostró al día 21 un comportamiento similar en la longitud de sus vellosidades intestinales del duodeno, yeyuno e íleon al grupo con Probion-forte©, mientras que al día 42 presentó longitudes de vellosidad estadísticamente del 6% y 2% mayores en yeyuno e íleon respectivamente en comparación con el grupo control, siendo este tratamiento el que obtuvo las vellosidades más largas en ambas porciones intestinales. Mientras tanto, la longitud de las vellosidades en el duodeno fue similar a la obtenida por el probiótico Probion-forte©.

Al día 21 de edad, el tratamiento EB+PF fue el grupo que presentó una mayor profundidad de cripta en la porción del duodeno y yeyuno en comparación con todos los tratamientos. Mientras que la profundidad de la cripta en las porciones del duodeno y yeyuno en al día 42 de evaluación e íleon en ambos muestreos se comportaron similar al grupo con PF. Razón por la cual, los valores obtenidos fueron similares con el PF en cuanto a la relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta, sin embargo, en el yeyuno fue el tratamiento que tuvo una mayor relación de dicha variable respecto al tratamiento control (5.40 vs 4.68) a los 42 días de muestreo.

El tratamiento con EndoBan® + Probion-forte© al mismo tiempo mostró tener el mayor grosor de la mucosa numéricamente respecto a los eubióticos usados al día 21 y 42 de experimentación en las tres porciones intestinales a excepción de la medición del íleon al día 21 que fue mayor en el grupo con CPP. Por tal razón, el uso de la combinación que existe entre los silicatos específicos y una mezcla de extractos herbales de sustancias aromáticas y de algas rojas con microorganismos probióticos (*Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* y *Clostridium butyricum*), ha mostrado favorecer respuestas benéficas sobre la salud intestinal de las aves.

EndoBan® + Probion-forte® inhibe los efectos negativos de las endotoxinas como la inflamación, sus microorganismos probióticos permiten consumir el oxígeno dentro del intestino y producir ácido láctico, butírico y acético, creando condiciones anaeróbicas favorables para el desarrollo y multiplicación de bacterias benéficas (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterobacter spp.*), evitando de esta manera la implantación de microorganismos patógenos que dañen el intestino, mejorando así la absorción de los nutrientes de la dieta y proporcionar energía, aminoácidos y vitaminas a los enterocitos y epitelio intestinal (VyQ de México, 2022).

En un estudio realizado por Rivera et al., (2021) reportaron de igual forma valores favorables en la integridad intestinal de pollos de engorda, al utilizar un probiótico a base de *Bacillus subtilis* QST713 como una alternativa a los APC, para ello compararon el empleo de: dieta control (sin APC ni probiótico), bacitracina (500 g/ton) y probiótico (*Bacillus subtilis* QST713; 100 g/ton). En los resultados de la porción anterior del intestino, se observó una mayor altura de la mucosa y de las vellosidades intestinales en el grupo empleado con el probiótico, contrario a una mucosa más delgada y menor tamaño de vellosidades observadas en el grupo con bacitracina y el control. En cuanto a la profundidad de las criptas, fue significativamente menor en la dieta con *Bacillus subtilis* QST713, en comparación con los otros 2 tratamientos. Dichos resultados corroboran lo encontrado en el presente estudio al igual que por Li et al., (2019), demostrando que la acción trófica de *Bacillus subtilis* puede explicar los cambios en la longitud de las vellosidades, al estimular el proceso mitótico en la región cripta-vellosidad a través de la exclusión competitiva, permitiendo mecanismos de proliferación en la mucosa intestinal (Rivera et al., 2021).

No obstante, resultados contrarios a los nuestros fueron los obtenidos por Zhang et al., (2021), quienes al evaluar la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas con la suplementación de *Bacillus subtilis* (750 g/ton) y bacitracina de zinc (250 g/ton), encontrando que las porciones intestinales del duodeno, yeyuno e íleon no se vieron afectadas significativamente por el probiótico ni por el APC, lo cual también fue reportado por Fernandes et al., (2014) al no observar ningún efecto de los probióticos y el APC evaluados sobre la morfología del intestino delgado en ninguno de sus segmentos.

#### ➤ **Fitobiótico CRINA® Poultry Plus**

El grupo suplementando con el fitobiótico CRINA® Poultry Plus no mostró diferencias significativas en la longitud de vellosidades intestinales en la porción del duodeno, mientras que, en las porciones del yeyuno e íleon presentaron la mayor longitud en comparación con los tratamientos evaluados al día 21, sin embargo, al día 42 de experimentación se vio justamente lo contrario a

este efecto al tener numéricamente las vellosidades más cortas de los eubióticos evaluados, pero siendo superiores al grupo control en las tres porciones intestinales.

La evaluación morfométrica de profundidad de cripta en el presente estudio muestra que el grupo adicionado con CPP se comportó de manera similar en la primera medición al resto de las alternativas de crecimiento en las tres porciones intestinales, no obstante, al día 42 de evaluación mostró estadística y numéricamente la mayor profundidad de cripta en la porción intestinal del duodeno y yeyuno respectivamente, mientras que en el íleon su comportamiento fue similar a los grupos con PF y EB+PF.

Para la relación de la longitud de vellosidades:profundidad de criptas el tratamiento suplementado con CPP se comportó de manera similar a los tratamientos con eubióticos los cuales tuvieron numéricamente una relación más baja incluso menor que la del grupo control al día 21; no obstante, en el segundo muestreo los tratamientos suplementados con los eubióticos comerciales mostraron lo contrario al tener una relación superior, sin embargo, el grupo con CPP fue el tratamiento que tuvo la menor relación numéricamente de los tres eubióticos utilizados.

Windisch et al., (2008), sugirieron que el aumento en la longitud de las vellosidades intestinales era el resultado del efecto antioxidante de los fitobióticos, sin embargo, no todos son capaces de influir sobre la morfología intestinal, caso similar a esto fue lo encontrado en la investigación realizada por Montoya (2019), quien al evaluar la inclusión de un fitobiótico a base de *Saccharum officinarum* y *Acacia concinna* en dietas de pollos de engorda, tuvo numéricamente las vellosidades más cortas similares con las del grupo control negativo en las porciones del duodeno y yeyuno, mientras que en íleon este aditivo mostró significativamente la longitud más baja en comparación con el resto de los tratamientos a los 48 días de experimentación; la autora pudo concluir que esto se debió a que a esa edad el intestino está completamente desarrollado y con una microbiota estable por lo que se producen menos cambios histológicos en comparación con los primeros días de edad del pollo.

## **Hemograma**

El hemograma es uno de los estudios de rutina con mayor importancia, debido a que evalúa la cantidad de células que circulan a nivel sanguíneo; por tanto se considera una herramienta indispensable para confirmar un diagnóstico; la hematología aviar está comenzado a ser estudiada, aunque todavía no se encuentra tan desarrollada como la hematología humana y de mamíferos (Avilez et al., 2015). Los valores hematológicos reportados en los animales pueden variar por el estado nutricional, sexo, edad, época del año, estado reproductivo y estrés ambiental. Por tal

razón, un balance entre las células hemáticas pudiera mejorar la condición física y la respuesta celular en las aves (Gutierrez y Corredor, 2017).

Los valores del hemograma en esta investigación a los 42 días de edad mostraron evidencia significativa en el grupo con PF al tener mayores conteos de leucocitos totales, heterófilos y monocitos en comparación con los demás tratamientos. En el recuento leucocitario total y de monocitos el tratamiento con CPP fue más bajo numéricamente respecto a todos los tratamientos, mientras que para el conteo de heterófilos el tratamiento con EB+PF fue el de menor puntaje.

Durante el desarrollo productivo de los pollos; estos se enfrentan a una amplia gama de factores estresantes tanto agudos como crónicos que amenazan potencialmente su bienestar y salud; dichos factores estresantes, activan el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal y el eje simpático-suprarrenal-medular en las aves; lo que resulta en la liberación de glucocorticoides en especial la corticosterona; al incrementar los niveles de corticosterona en plasma da como resultado un aumento en el recuento de leucocitos totales, heterófilos periféricos y en la expresión de citocinas proinflamatorias, además de disminuir la proliferación de linfocitos y ocasionar alteraciones de los monocitos en sus funciones fagocitarias (Marchini et al., 2011; Diaz et al., 2016; Hofmann et al., 2020).

Se ha descrito previamente que la relación herófilos:linfocitos como una herramienta ampliamente aceptada para evaluar el estrés en las aves, pues la exposición crónica a la corticosterona fisiológica provoca un incremento en esta relación, así mismo se he descrito una disminución del peso relativo en los órganos inmunes (Marchini et al., 2011; Diaz et al., 2016; Hofmann et al., 2020). En esta investigación, el tratamiento suplementado con Probion-forte® mostró numéricamente el valor más alto en la relación herófilos:linfocitos respecto a los demás tratamientos.

Resultados similares a los obtenidos fueron los descritos por Eler et al., (2019), al analizar un fitogénico a base de aceite esencial de orégano y encontrar un aumento significativo en el recuento de leucocitos totales, linfocitos, heterófilos, monocitos y en la relación heterofilos:linfocitos respecto al tratamiento control y el grupo con APC.

En otro experimento realizado por Gutierrez y Corredor (2017), analizaron los analitos sanguíneos en dietas suplementadas con tres microorganismos probióticos diferentes (*Bacillus spp.*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus spp.*) y su combinación de estos; reportando valores más bajos respecto al tratamiento control para el conteo de leucocitos totales en todos los tratamientos con probióticos pero significativamente menor con *Bacillus spp.* y la mezcla de

probióticos, para el conteo de monocitos la mezcla de probióticos mostró la proporción más baja, mientras que para los eosinófilos se tuvo una proporción significativa mayor con la suplementación de *Saccharomyces cerevisiae*.

Por su parte Sastré (2017), realizó el análisis celular en dietas de pollos de engorda suplementadas con fitasas y  $\beta$ -manananas, encontrando que estas últimas tuvieron significativamente menor cantidad de heterófilos y mayor número de linfocitos, teniendo hasta un 55% menor los valores de la relación heterofilos:linfocitos respecto al grupo control, por tal razón se obtuvo una disminución del estrés en las aves. Mientras que Pantoja (2019), no encontró diferencias significativas en ninguno de los analitos del hemograma al evaluar la inclusión de  $\beta$ -manananas en dietas de pollo de engorda que contenían enramicina y bacteriófagos.

Con los antecedentes mencionados, por los resultados obtenidos y el modelo experimental utilizado de pollo de engorda en el que se ha reportado como animales muy nerviosos; en donde el factor estrés es determinante para la variación leucocitaria, se concluye que las aves del tratamiento con PF, presentaron un comportamiento celular fisiológico relacionado con la fase primaria de estrés agudo (heterofilia/linfopenia), como resultado de algún factor estresor presente en el desarrollo de la prueba; lo cual se puede vincular con la manipulación de las aves al momento de realizar la toma de muestras sanguíneas (Sandoval et al., 2000; Díaz et al., 2016).

Al correlacionar con una ganancia de peso significativa respecto al tratamiento control, un consumo de alimento y un porcentaje de mortalidad similar al resto de los tratamientos se descarta la presencia de estrés crónico en el grupo con PF, debido a que este tipo de estrés influye en la hematopoyesis de los pollos de engorda, comprometiendo al sistema inmune por el aumento de eosinófilos y monocitos y por la disminución de leucocitos y linfocitos, haciendo que las aves sean más susceptibles a desarrollar enfermedades, además, de presentar un gasto mayor de energía para el mantenimiento de la homeotermia y consumir menos alimento en un intento por disminuir la producción de calor endógeno (Marchini et al., 2011).

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos y bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir:

1. La inclusión de los diferentes eubióticos comerciales; Probion-forte©, EndoBan® + Probion-forte© y CRINA® Poultry Plus en dietas sorgo-pasta de soya para pollos de engorda de 1 a 42 días de edad, tuvieron un efecto benéfico en el peso vivo, ganancia de peso, conversión alimenticia y peso de la canal caliente y fría, similar al APC.
2. La adición de los diferentes eubióticos comerciales no afectó la pigmentación de la piel de las canales al igual que el APC.
3. El empleo de eubióticos incrementó la longitud de las vellosidades, profundidad de las criptas y grosor de la mucosa intestinal en duodeno, yeyuno e íleon; además de obtener una mayor relación longitud de la vellosidad:profundidad de cripta, mejorando de esta manera la salud intestinal de las aves.
4. El uso de eubióticos en dietas para pollos de engorda, mejoraron la respuesta inmune, con base a los resultados de los analitos del hemograma.
5. La inclusión de los eubióticos comerciales Probion-forte©, EndoBan® + Probion-forte© y CRINA® Poultry Plus, presentaron resultados similares en las variables evaluadas respecto al APC enramicina, por lo que resultan ser una alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento en pollos de engorda.

## ABREVIATURAS Y SIGLAS

<b>°C</b>	Grados centígrado.
<b>µm</b>	Micrómetro.
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico.
<b>AGCC</b>	Ácidos grasos de cadena corta.
<b>AHL</b>	N-acil homoserina lactona.
<b>AGP (APC)</b>	Antibiotic Growth Promoters (Antibióticos promotores de crecimiento).
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato.
<b>CAT</b>	Catalasa.
<b>CEIEPAv</b>	Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola.
<b>cm</b>	Centímetro.
<b>CON</b>	Tratamiento control negativo (Dieta basal sin APC).
<b>CPP</b>	Tratamiento con fitobiótico (CRINA® Poultry Plus).
<b>DFM</b>	Direct feed microbials (Microbios de alimentación directa).
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético.
<b>EEM</b>	Error estándar de la media.
<b>ELISA</b>	Enzyme linked immunosorbent assay (Inmunoabsorción ligado a enzimas).
<b>ENR</b>	Tratamiento control positivo (dieta con Enramicina).
<b>EN+PF</b>	Tratamiento con probiótico (EndoBan® + Probion-forte©).
<b>FAO</b>	Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
<b>g</b>	Gramo.
<b>g/ton</b>	Gramos por tonelada.
<b>GALT</b>	Tejido linfoide asociado al intestino.
<b>GPx</b>	Glutación peroxidasa.
<b>GR</b>	Glutación reductasa.
<b>GST</b>	Glutación S transferasa.
<b>IFN- γ</b>	Interferón gama.
<b>Ig</b>	Inmunoglobulina.
<b>INEGI</b>	Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
<b>INSP</b>	Instituto Nacional de Salud Pública.
<b>IL</b>	Interleucina.
<b>JAM</b>	Junctional adhesion molecules (Molécula de adhesión de la unión).
<b>kg</b>	Kilogramo.
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido.
<b>Mc</b>	Megacaloría.

<b>MDA</b>	Malondialdehido.
<b>mg</b>	Miligramo.
<b>ml</b>	Mililitro.
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar.
<b>MUC</b>	Mucinas.
<b>NK</b>	Natural killer (Asesinas naturales).
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana.
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud.
<b>PAMP</b>	Patrones moleculares asociados a patógenos.
<b>PBP's</b>	Penicillin binding proteins (Proteínas de unión a penicilina).
<b>PBS</b>	Phosphate buffered saline (Tampón fosfato salino / Buffer fosfato salino).
<b>PCC</b>	Peso canal caliente.
<b>PCF</b>	Peso canal fría.
<b>PF</b>	Tratamiento con probiótico (Probion-forte©).
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno.
<b>PP</b>	Placas de Peyer.
<b>ppm</b>	Partes por millón.
<b>ppm/ton</b>	Partes por millón por tonelada.
<b>PRR</b>	Receptores de reconocimiento de patrones.
<b>SEIMC</b>	Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa.
<b>SPSS</b>	Statistical package for social sciences (Paquete estadístico para las ciencias sociales)
<b>TGI</b>	Tracto gastrointestinal.
<b>TJ</b>	Tight junctions (Uniones estrechas).
<b>TLR</b>	Toll like receptors (Receptores tipo Toll)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tumor necrosis factor alpha (Factor de necrosis tumoral alfa).
<b>Ton</b>	Tonelada.
<b>Tx</b>	Tratamiento.
<b>U/g</b>	Unidades por gramo.
<b>UE</b>	Unión Europea.
<b>UFC</b>	Unidad formadora de colonias.
<b>UI</b>	Unidad internacional.
<b>UNA</b>	Unión Nacional de Avicultores.
<b>ZO</b>	Zonula occludens.



## BIBLIOGRAFÍA

Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegay, Z, Tefera G. and Aynalem E. (2018) Health Benefits of Probiotics. *J Bacteriol Infec Dis.* 2 (1): 8-27.

Adebiyi, O.A., Makanjuola, B.A., Bankoley, T.O. and Adeyori, A.S. (2012) Yeast Culture (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementation: Effect on the Performance and Gut Morphology of Broiler Birds. *Global J. Sci. Frontier Res. Biol. Sci.*, 12 (6), 25-29.

Ajuwon, KM. (2016) Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species<sup>1</sup>. *Journal of Applied Poultry Research*, 25 (2), 277-283.

Aksit, M., Goksoy, E., Kok, F., Ozdemir, D., and Ozdogan, M. (2006) The impacts of organic acid and essential oil supplementations to diets on the microbiological quality of chicken carcasses. *Archiv Fur Geflugelkunde*, 70, 168–173.

Allen, T. (1995) Hematoxilina y Eosina. Métodos histotecnológicos. En: Instituto de Patología de las fuerzas armadas de los Estados Unidos de América. Ed. por Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B. and Sobin, L.H. Washington, USA, 55-60.

Aviagen. (2019) *Broiler Ross 308: Especificaciones de Nutrición*. [en línea] disponible en: <[http://es.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/Ross\\_Broiler/RossBroilerNutritionSpecs2019-EN.pdf](http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/RossBroilerNutritionSpecs2019-EN.pdf)> [consulta: 14 noviembre 2021]

Ávila, R., Navarro, A., Vera, O., Dávila, R., Melgoza, N. and Meza, R. (2011) Romero: una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, 15 (4), 23-36.

Avilez, B.L., Rúgeles, C.C., Jabib, L. and Herrera, Y.M. (2015) Parámetros hematológicos en pollos de engorde criados en una granja de producción cerrada en el trópico bajo. *Rev Med Vet*, (29), 33-39.

Bai, W.K., Zhang, F.J., He, T.J., Su, P.W., Ying, X.Z. and Zhang, L.L. (2016) Dietary Probiotic *Bacillus subtilis* Strain fmbj Increases Antioxidant Capacity and Oxidative Stability of Chicken Breast Meat during Storage. *PLoS ONE*, 11 (12).

Bautista, I. (2014) Uso de *Bacillus subtilis* como probiótico y de un complejo enzimático basado en amilasas, proteasas y xilanasas en pollos de engorda alimentados con dietas sorgo + soya. . Tesis de maestría no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.

- Boleli, I. and Maiorka, A. (2008) Estrutura funcional do trato digestório. En: *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Ed. por Macari, M., Furlan, R. and Gonzales, E. Brasil: Funep, Jaboticabal, 5, 75-95.
- Brezo, A., Van-Haren, W. and Hanekamp, C. (1999) Emergence of a debate. AGP and Public Health. Human Health and Antibiotic Growth Promoters (AGP): Reassessing the risk. *Heidelberg Appeal Nederland Foundation*, 131.
- Brown, M. (2011) Modes of Action of probiotics: Recent Developments. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10 (14), 1895-1900.
- Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Butaye, P., Devriese, L.A. and 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.
- Caballero, C., Keller, K., Simone, C. and Chadee, K. (2007) The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*, 292, G315-G322.
- Cao, J., Yu, Z., Liu, W., Zhao, V., Zhang, H., Zhai, Q. and Chen, W. (2020) Probiotic characteristics of *Bacillus coagulans* and associated implications for human health and diseases. *Journal of Functional Foods*, 64.
- Carro, M.D. and Ranilla, M.J. (2002) Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. *Sitio Argentino de producción animal*, 1-6.
- Cartman, S., La Ragione, R. and Woodward, Martin. (2008) *Bacillus subtilis* Spores Germinate in the Chicken Gastrointestinal Tract. *Applied and environmental microbiology*, 74, 5254-5258.
- Castanon, J. (2007) History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. *Poultry Science*, 86 (11), 2466-2471.
- Cepero, R. (2006). Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la Unión Europea: Causas Y Consecuencias. En: *XII Congreso Bienal Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Avícola (AMENA)*. Celebrada en Octubre 2005. 1-46.
- Cheng, G., Hao, H., Xie, S., Wang, X., Dai, M., Huang, L. and Yuan, Z. (2014) Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in microbiology*, 5, 217.

- Chichlowski, M., Croom, J.B., McBride, W., Havenstein, G.B. and Koci, M.D. (2007b) Metabolic and Physiological Impact of Probiotics or Direct-Fed-Microbials on Poultry: A Brief Review of Current Knowledge. *International Journal of Poultry Science*, 6, 694-704.
- Chichlowski, M., Croom, W.J., Edens, F.W., McBride, B.W., Qiu, R., Chiang, C.C., Daniel, L.R., Havenstein, G.B. and Koci, M.D. (2007a) Microarchitecture and Spatial Relationship Between Bacteria and Ileal, Cecal, and Colonic Epithelium in Chicks Fed a Direct-Fed Microbial, PrimaLac, and Salinomycin. *Poultry Science*, 86 (6), 1121-1132.
- Choct, M. (2009) Managing gut health through nutrition. *British Poultry Science*, 50 (1), 9-15.
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I. and Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agriculture*, 2, 228-243.
- Cortés, A., Ávila, E., Casaubon, M.T. (2000) El efecto del *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. *Vet. Méx*, 13 (4), 301-308.
- Cruz, P., Schröder, L. and Pires, A. (2012) Effects of a combination of benzoic acid and essential oil compounds on broilers performance and health. [en línea] disponible en <<https://en.engormix.com/poultry-industry/articles/benzoic-acid-essential-oil-compounds-on-broilers-performance-health-t35435.htm>> [Consulta: 10 enero 2022].
- Cuca, M., Ávila, E. and Pro, Ma. (1996) Alimentación de las aves. 8ª ed. Edo. De México: Universidad Autónoma de Chapingo.
- Daza R. (1998) Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22 (3), 57-67.
- De Meyer, F., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Dhaenens, M., Daled, S., Ddeurwaerder, A., DeGussem, M., Haesebrouck, F., Deforce, D. and Van Immerseel F. (2019) Host intestinal biomarker identification in a gut leakage model in broilers. *Vet Res*, 50, 46.
- De Souza, L., Araújo, D., Stefani, L., Giometti, I., Cruz, V., Polycarpo, G. and Burbarelli, M. (2018) Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. *Austral journal of veterinary sciences*, 50 (1), 35-41.
- Dhama, K., Latheef, S., Mani, S., Samad, H.A., Karthik, K., Tiwari, R., Khan, R.U., Alagawany, M., Farag, M.R., Alam, G.M., Laudadio, V. and Tufarelli, V. (2015) Múltiples aplicaciones beneficiosas y modos de acción de las hierbas en la salud y producción avícola: una revisión. *Revista Internacional de Farmacología*, 11, 152-176.

- Dhama, K., Tiwari, R., Khan, R., Chakraborty, S., Gopi, M., Karthik, K., Saminathan, M., Desingu, A. and Sunkara, L. (2014) Growth promoters and novel feed additives improving poultry production and health, bioactive principles and beneficial applications: The trends and advances-A Review. *International Journal of Pharmacology*, 10, 129-159.
- Diarra, M.S. and Malouin, F. (2014) Antibióticos en las producciones avícolas canadienses y alternativas anticipadas. *Front Microbiol*, 5, 282.
- Díaz, E., Narváez, W. and Giraldo. (2016) Alteraciones Hematológicas y Zootécnicas del Pollo de Engorde bajo Estrés Calórico. *Vet. Méx*, 13 (4), 301-308.
- Diaz, S., D'Souza, D., Biswas, D. and Hanning, I. (2015) Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production<sup>1</sup>, *Poultry Science*, 94 (6), 1419-1430.
- Dibner, J.J. and Richards, J.D. (2005) Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science*, 84 (4), 634-643.
- Ding, X., Yang, C., Wang, P., Yang, Z. and Ren, X. (2020) Effects of star anise (*Illicium verum* Hook. f) and its extractions on carcass traits, relative organ weight, intestinal development, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 99 (11), 5673-5680.
- DSM. (2019) Eubióticos: Definición y diferentes conceptos. [en línea] disponible en <<https://www.dsm.com/anh/news/feed-talks/articles/eubiotics-definition-and-different-concepts.html>> [Consulta: 13 mayo 2022].
- Duc, I., Hong, H.A., Fairweather, N., Ricca, E. and Cutting, S.M. (2003) Bacterial spores as vaccine vehicles. *Infection and immunity*, 71 (5), 2810–2818.
- Ducatelle, R., Goossens, E., De Meyer, F., Eeckhaut, V., Antonissen, G., Haesebrouck, F. and Van Immerseel, F. (2018) Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: present status and future perspectives. *Vet Res*, 49, 43.
- Edens, F.W. (2003) An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 5 (2), 75-97.
- Eler, G., Gomes, A.V.C., Trindade, B.S., Almeida, L.S.L., Dilelis, F., Cardoso, V.S. and Lima, C.A.R. (2019) Oregano essential oil in the diet of broilers: performance, carcass characteristics, and blood parameters. *South African Journal of Animal Science*, 49 (4), 753-762.

Elhassan, M., Ali, A., Blanch, A., Kehlet, A. and Madekurozwa, M. (2019) Morphological Responses of the Small Intestine of Broiler Chicks to Dietary Supplementation With a Probiotic, Acidifiers, and Their Combination. *Journal of Applied Poultry Research*, 28 (1), 108-117.

Elshaghabee, F., Rokana, N., Gulhane, R.D., Sharma, C. and Panwar, H. (2017) Bacillus As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in microbiology*, 8, 1490.

Escobar, P. (2018) Efecto de polen, lactosa y su combinación sobre la digestibilidad e integridad de la mucosa en pollos broiler. Tesis de licenciatura no publicada. Cevallos, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.

Ewaschuk, J.B., Diaz, H., Meddings, L., Diederichs, B., Dmytrash, A., Backer, J., Langen, M.L. and Madsen, K.L. (2008) Secreted bioactive factors from Bifidobacterium infantis enhance epithelial cell barrier function. *AJP Gastrointestinal and Liver Physiology*, 5 (295), 1025-1034.

FAO. (2009) Alimentar al mundo en 2050. [en línea] disponible en <<https://www.fao.org/3/k6021s/k6021s.pdf#:~:text=Las%20proyecciones%20muestran%20que%20para%20alimentar%20una%20poblaci%C3%B3n,demanda%20comercial%20de%20alimentos%20y%20piensos%20seguir%C3%ADa%20creciendo>> [Consulta: 10 marzo 2021].

FAO. (2021) Producción avícolas. [en línea] disponible en <<http://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/>> [Consulta: 10 marzo 2021].

FAO/OMS. (2001) Propiedades saludables y nutricionales de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico. *Informe de una consulta conjunta de expertos FAO/OMS sobre la evaluación de las propiedades nutricionales y para la salud de los probióticos en los alimentos, incluida la leche en polvo con bacterias vivas del ácido láctico*. Córdoba, Argentina: FAO/OMS.

Faus, C. (2008) La integridad intestinal: factores asociados a su mantenimiento. *Selección Avícola*, 11-16.

Feighner, S.D. and Dashkevich, M.P. (1987) Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholytaurine hydrolase activity. *Applied and environmental microbiology*, 53 (2), 331–336.

Fernandes, B.C.S., Martins, M.R.F.B., Mendes, A.A., Milbradt, E.L., Sanfelice, C., Martins, B.B., Aguiar, E.F. and Bresne, C. (2014) Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. *Braz. J. Poult. Sci*, 16 (4).

- Fernández, R.F., López, H.J., Ponce, M.L.M. and Machado, B.C. (2003) Resistencia bacteriana. *Revista Cubana de Medicina Militar*. [en línea] disponible en <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S013865572003000100007&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S013865572003000100007&lng=es&tlng=es)> [Consulta: 21 marzo 2021].
- Fuller, R. (1989) 'Probiotics in man and animals', *Journal of Applied Bacteriology*, 66 (5), 365–378.
- Gadde, U., Kim, W.H., Oh, S.T. and Lillehoj, H.S. (2017a) Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*. Cambridge University Press, 18 (1), 26–45.
- Gadde, U., Oh, S.T., Lee, Y.S., Davis, E., Zimmerman, N., Rehberger, T. and Lillehoj, H.S. (2017b) The Effects of Direct-fed Microbial Supplementation, as an Alternative to Antibiotics, on Growth Performance, Intestinal Immune Status, and Epithelial Barrier Gene Expression in Broiler Chickens. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 9 (4), 397-405.
- Gadde, U.D., Oh, S. and Lillehoj, H.S. (2018) Artículo retractado: Los antibióticos promotores del crecimiento virginiamicina y disalicilato de metileno de bacitracina alteran el metabolismo intestinal del pollo. *Sci Rep*, 8, 3592.
- Gaggia, F., Mattarelli, P. and Biavati, B. (2010) Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141, S15-S28.
- García, R.A. (2012) Rendimiento productivo y de la canal en dos estirpes de pollo de engorda alimentados con dietas sorgo-soya con diferentes porcentajes de proteína. Tesis de maestría no publicada. Distrito Federal, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
- Gaskins, H., Collier, C and Anderson, David. (2002). Antibiotics as growth promotants: Mode of action. *Animal biotechnology*, 13, 29-42.
- Gopi, M., Karthik, K., Manjunathachar, H.V., Tamilmahan, P., Kesavan, M., Dashprakash, M., Balaraju, B.L. and Purushothaman, M.R. (2013) Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 2 (1).
- Grashorn, M.A. (2010) 'Use of phytobiotics in broiler nutrition - An alternative to infeed antibiotics?'. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 19 (3), 338–347.
- Guoqi, S., Lan, W., Xuanwu, Z., Xiying, W., Daiwen, C., Bing, Y., Zhiqing, H., Yuheng, L., Xiangbing, M., Ping, Z., Jie, Y., Junqiu, L. and Jun, H. (2021) Effects of essential oil on growth performance, digestibility, immunity, and intestinal health in broilers. *Poultry Science*, 100 (8).

- Gutiérrez, L., Montoya, L. and Vélez, J. (2013) Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *Producción + Limpia*, 8 (1), 135-146.
- Gutiérrez, L.L.C. and Corredor, JRC (2017) Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos. *Revista Veterinaria y Zootecnia*, 11 (2), 81-92.
- Hall, J. (1995) Inclusión de Tejidos. Métodos histotecnológicos. En: Instituto de Patología de las fuerzas armadas de los Estados Unidos de América. Ed. por Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B. and Sobin, L.H. Washington, USA, pp. 55-60.
- Harimawan, A., Zhong, S., Lim, C.T. and Ting, Y.P. (2013) Adhesion of *B. subtilis* spores and vegetative cells onto stainless steel—DLVO theories and AFM spectroscopy. *J Colloid Interface Sci.*, 405, 233–241.
- Hashemi, S.R. and Davoodi, H. (2010) Fitogénicos como nueva clase de aditivo para piensos en la industria avícola. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 2295-2304.
- Herrera, A. (2019) Alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento (APC) en el comportamiento productivo en pollo de engorda en crecimiento. Tesis de licenciatura no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C. and Sanders ME. (2014) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11 (8), 506–514.
- Hofmann, T., Schmucker, S.S., Bessei, W., Grashorn, M. and Stefanski, V. (2020) Impact of Housing Environment on the Immune System in Chickens: A Review. *Animals*, 10 (7), 1138.
- Hughes, P. and Heritage, J. (2004) Antibiotic growth-promoters in food animals. *Assessing quality and safety of animals feeds FAO*, 160.
- INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (1992) Tláhuac: Cuaderno de información básica delegacional. México.
- INSP Instituto Nacional de Salud Pública. (2010) Regulación y promoción para el uso adecuado de antibióticos en México. *Propuesta de lineamientos para la acción*, 1-15.

INSP Instituto Nacional de Salud Pública. (2021) Dos décadas de investigación sobre la resistencia a los antibióticos. [en línea] disponible en <<https://insp.mx/avisos/4308-investigaciones-resistencia-antibioticos.html#sup4>> [Consulta: 21 marzo 2021].

Jeni, R., Dittoe, D., Olson, E., Lourenco, J., Corcionivoschi, N., Ricke, S. and Callaway, T. (2021) *Probiotics and potential applications for alternative poultry production systems. Poultry Science*, 100 (7).

Jin, Z.L., Ho, W.Y., Abdullah, N. and Jalludin, S. (1998) Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Sci*, 77, 1259-1265.

Khalighi, A., Behdani, R. and Kouhestani, S. (2016) Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. En: *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. Ed. por Rao, V., Rao, L.G. London: IntechOpen.

Khattak, F., Ronchi, A., Castelli, P. and Sparks, N. (2014) Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 93 (1), 132-137.

Kim, Y.S. and Ho, S.B. (2010) Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Current gastroenterology reports*, 12 (5), 319–330.

Krauze, M. (2021) Phytobiotics, a natural growth promoter for poultry. En: *Advanced studies in the 21<sup>st</sup> Century Animal Nutrition*. Ed. por Babinszky, L. Oliveira, J. Santos, E. London: IntechOpen.

Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa, R. and Beynen, A. (2003) Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British poultry science*, 44, 450-457.

Lee, S.H. (2015) Intestinal permeability regulation by tight junction: implication on inflammatory bowel diseases. *Intestinal research*, 13 (1), 11–18.

Leyva, L.N., Gutiérrez, G.E.P., Vazquez, O.G. and Heredia, J.B. (2017) Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond: Their Antimicrobial Properties. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22, (6), 989.

Li, C., Wang, J., Zhang, H., Wu, S., Hui, Q., Yang, C., Fang, R. and Qi, G. (2019) Intestinal Morphologic and Microbiota Responses to Dietary *Bacillus* spp. in a Broiler Chicken Model. *Frontiers in Physiology*, 9.



- Lillehoj, H., Liu, Y., Calsamiglia, S., Fernandez, M.E., Chi, F., Cravens, R.L., Oh, S. and Gay, C.G. (2018) Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Vet Res.* 49, 76.
- López, A., Sánchez, I., Cortes, A., Ornelas, M. and Ávila, E. (2009) Uso de dos promotores naturales como alternativas a antibióticos promotores en el comportamiento productivo del pollo de engorda. En: *Memorias de XXXIV Convención Nacional ANECA*. Celebrada en Acapulco, Guerrero, México: ANECA.
- Mahfuz, S., Shang, Q. and Piao, X. (2021) Phenolic compounds as natural feed additives in diets for poultry and pigs: a review. *J Animal Sci Biotechnol*, 12, 48.
- Marchini, C.F.P., Nascimento, M.R.B.M., Silva, P.L. and Guimarães, E.C. (2011) Parámetros hematológicos de pollos de engorde sometidos a temperatura ambiental cíclica elevada. En XXII Congreso Latinoamericano de Avicultura 2011.
- Margarito, M.R. (2022) Efecto de la inclusión de probióticos en dietas maíz-soya-DDGS para pollos de engorda sobre parámetros productivos. Tesis de licenciatura no publicada. CDMX, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
- Martínez, R., Meuter, A. and Paulus, C. (2009) Aceites esenciales y ácidos orgánicos: Beneficios productivos y sanitario en las aves. *Selecciones avícolas*, 35-38.
- Mehdi, Y., Létourneau, M.M., Gaucher, M., Chorfi, Y., Suresh, G., Rouissi, T., Brar, S.K., Côté, C., Ramírez, A. and Godbout, S. (2018) Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*, 4 (2), 170 - 178.
- Meuter, A. and Martínez R. (2011) Eubióticos: su influencia en la sanidad intestinal. *Selecciones avícolas*, 39-42.
- Miah, M.Y., Rahman, M.S., Islam, M.K. and Monir, M.M. (2004) Effects of Saponin and L-Carnitine on the Performance and Reproductive Fitness of Male Broiler. *International Journal of Poultry Science*, 3, 530-533.
- Miguel, M.G. (2010) Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15 (12), 9252–9287.
- Mingmongkolchai, S. and Panbangred. (2018) *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of Applied Microbiology*, 124 (6), 1334-1346.
- Mohammadi, M.G. and Ho, I.K. (2017) Phytobiotics in poultry and swine nutrition – a review. *Italian Journal of Animal Science*, 17 (1), 92-99.

- Montoya, M. (2019) Estrategias nutricionales para reducir el uso de antibióticos promotores de crecimiento en dietas para pollos sobre la respuesta productiva y salud intestinal. Tesis de maestría no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Moreno, M., González, E.C. and Beltrán, C. (2009) Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 69 (2), 185-192.
- Moreno, Y.M., López, K.D.V., Hernández, C.A.M., Rodríguez, L.E.T., Hernández, A.C.C., Domínguez, A.S., Hume, M. and Méndez, G.Z. (2021) Effect of moringa leaf powder and agave inulin on performance, intestinal morphology, and meat yield of broiler chickens. *Poultry Science*, 100 (2), 738-745.
- Mulder, N. (2021) Perspectivas para el mercado avícola mundial: Se prevé será más fuerte en el 2022. [en línea] disponible en < <https://avinews.com/perspectivas-mercado-avicola-mundial-sera-mas-fuerte-2022/> > [Consulta: 26 marzo 2022].
- Ng, S.C., Hart, A.L., Kamm, M.A., Stagg, A.J. and Knight, S.C. (2009) Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm Bowel Dis*, 15 (2), 300-310.
- Niewold, T.A. (2007) The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis. *Poultry Science*, 86 (4), 605-609.
- NOM Norma Oficial Mexicana. (2015) NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. *México: DOF-Segob*.
- OMS. (2020) Resistencia a los antimicrobianos. [en línea] disponible en <<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>> [Consulta: 21 marzo 2021].
- O'Neill. (2016) *Nat Rev Drug Discov*. [en línea] disponible en <<https://doi.org/10.1038/nrd.2016.160>> [Consulta: 16 abril 2022].
- Otte, J.M. and Podolsky, D.K. (2004) Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, (4), 613-26.
- Oviedo, E. (2019) Holistic view of intestinal health in poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 250, 1-8.
- Pacha, J. (2000) Development of intestinal transport function in mammals. *Physiol. Rev*, 80 (4), 1633-1677.

- Panth, Y. (2019). Use of Eubiotics in poultry production as a remedy for AMR. *International Veterinary Students Association Nepal (IVSA Nepal)*, 4, 42-46.
- Pantoja, C. (2019) Evaluación de  $\beta$ -manananas y bacteriófagos en dietas maíz-soya para pollos en salud intestinal y comportamiento productivo. Tesis de maestría no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Park, I., Lee, Y., Goo, D., Zimmerman, N.P., Smith, A.H., Rehberger, T. and Lillehoj, H.S. (2020) The effects of dietary *Bacillus subtilis* supplementation, as an alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immunity, and epithelial barrier integrity in broiler chickens infected with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, 99 (2), 725-733.
- Park, Y.H., Hamidon, F., Rajangan, C., Soh, K.P., Gan, C.Y., Lim, T.S., Abdullah, W.N. and Liong, M.T. (2016) Application of Probiotics for the Production of Safe and High-quality Poultry Meat. *Korean journal for food science of animal resources*, 36 (5), 567–576.
- Patterson, J.A. and Burkholder, K.M. (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82 (4), 627-631.
- Payawal, R. (2017) Desafíos: Producción sostenible para un sistema libre de antibióticos. *Science and Solutions (Biomín)*, (27), 7.
- Pelicano, E.R.L., De Souza, P.A., De Souza, H.B.A., Oba, A., Norkus, E.A., Kodawara, L.M. and De Lima, T.M.A. (2003) Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. *Braz. J. Poult. Sci*, 5 (3).
- Pérez, H.J. and Robles, A. (2013) Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Rev Med MD*, 4.5 (3), 186-191.
- Pérez, O.N. (2018) Comparación de dos diferentes dietas en pavos Nicholas 700 sobre sus parámetros productivos, rendimiento de canal, alometría del tracto gastrointestinal e integridad de las vellosidades intestinales. Tesis de licenciatura no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Platel, K. and Srinivasan, K. (2004) Digestive stimulant action of spices: a myth or reality? *Indian J Med Res*, 119, 167–179.
- Resta, L.S. and Barrett, K.E. (2003) Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). *Gut*, 52 (7), 988–997.

- Reyes, E.J.A. and Rodríguez, F. (2012) Los probióticos: ¿cómo una mezcla de microorganismos hace un gran trabajo? *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43 (1), 7-17.
- Rivera, W., Lan, W., Barquero, E. and Chaves, A. (2021) Effect of the use of probiotic *Bacillus subtilis* (QST 713) as a growth promoter in broilers: an alternative to bacitracin methylene disalicylate. *Poultry Science*, 100 (9).
- Rosales, A. and Tellez, G. (2019) Biomarcadores para monitorear la integridad intestinal y la inflamación en pollos de engorde. [en línea] disponible en <<https://avinews.com/biomarcadores-para-monitorear-la-integridad-intestinal-y-la-inflamacion-en-pollos-de-engorda/?msclid=5cefeb41b9ca11ec9d0f63ad4fb7bd2>> [Consulta: 16 mayo 2022].
- Rosenblatt, F.N. (2009) El paisaje de la resistencia a los antibióticos. *Salud Pública de México*, 51 (5), 435-442.
- Salim, H., Huque, K., Kamaruddin, K. and Haque, A. (2018) Global restriction of using antibiotic growth promoters and alternative strategies in poultry production, *Science Progress*, 101 (1), 52-75.
- Salim, H.M., Kang, H.K., Akter, N., Kim, D.W., Kim, J.H., Kim, M.J., Na, J.C., Jong, H.B., Choi, H.C., Suh, O.S. and Kim, W.K. (2013) Supplementation of direct-fed microbials as an alternative to antibiotic on growth performance, immune response, cecal microbial population, and ileal morphology of broiler chickens, *Poultry Science*, 92 (8), 2084-2090.
- Samanya, M. and Yamauchi, K.E. (2002) Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. *Comp. Biochem. Phys*, 133, 95-104.
- Sánchez, B., Arias, S., Chaignepain, S., Denayrolles, M., Schmitter, J., Bressollier, P. and Urdaci, M. (2009) Identification of surface proteins involved in the adhesion of a probiotic *Bacillus cereus* strain to mucin and fibronectin. *Microbiology Society*, 115 (5), 1708-1716.
- Sandoval, G., Zbinden, C., Terraes, J., Revidatti, F. and Fernández, R. (2002) Relación Heterófilo/linfocito e índice morfométrico bursal como indicadores de estrés crónico en pollos parrilleros. [en línea] disponible en <<https://fdocuments.net/document/relacion-h-eterofilolinfocito-e-indice-morfometrico-el-peso-de-los.html>> [Consulta: 18 mayo 2022].
- Sastré, C.N. (2017) Evaluación de la interacción de fitasas y  $\beta$ -mananasas en dietas sorgo-soya para pollos en crecimiento sobre el comportamiento productivo y la salud intestinal. Tesis de licenciatura no publicada. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.

SEIMC. (2018) Registro hospitalario de pacientes afectados por las resistencias bacterianas. [en línea] disponible en <[https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro\\_de\\_Pacientes\\_BMR.pdf](https://seimc.org/contenidos/noticias/2018/seimc-Registro_de_Pacientes_BMR.pdf)> [Consulta: 16 abril 2021].

Shang, Q.H., Liu, S.J., He, T.F., Liu, H.S., Mahfuz, S., Ma, X.K. and Piao, X.S. (2020) Effects of wheat bran in comparison to antibiotics on growth performance, intestinal immunity, barrier function, and microbial composition in broiler chickens, *Poultry Science*, 99 (10), 4929-4938.

Shuang, X., Hang, Z., Radebe, S., Jiayi, Z. and Qinghua, Y. (2022) *Bacillus coagulans* protect against *Salmonella enteritidis*-induced intestinal mucosal damage in young chickens by inducing the differentiation of goblet cells. *Poultry Science*, 101 (3).

Singer, R., Porter, L., Thomson, D., Gage, M., Beaudoin, A., Wishnie, J. (2019) Raising Animals Without Antibiotics: U.S. Producer and Veterinarian Experiences and Opinions, *Frontiers in Veterinary Science*, 6.

Steiner, T. and Shah, S.B.A. (2015) Phytogetic Feed Additives in Animal Nutrition. *Medicinal and Aromatic Plants of the World*, 403-423.

Stoops, J., Willemsen, H. and Van de Mierop, K. (2019) Efecto de un aditivo alimentario (EndoBan) sobre el rendimiento de los pollos de engorde. [en línea] disponible en <<https://www.engormix.com/MA-avicultura/noticias/efecto-aditivo-piensos-endoban-t24967/p0.htm#:~:text=En%20IPPE%202019%2C%20Nutrex%20presentar%3%A1%20EndoBan%2C%20un%20aditivo,rendimiento%20de%20pollos%20de%20engorde%2C%20el%20martes%2012.>>> [Consulta: 18 mayo 2022].

Sugiharto, S. (2016) Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15 (2), 99-111.

Sumano, H. and Gutierrez, L. (2010) Farmacología clínica en aves. 1ª edición, Ciudad de México: McGraw-Hill.

Suva, M., Sureja, V. and Kheno, D. (2016) Novel insight on probiotic *Bacillus subtilis*: Mechanism of action and clinical applications. *Journal of Current Research in Scientific Medicine*, 2 (2), 65-72.

Svejstil, R., Plachy, V., Joch, M., Salmonova, H., Duskova, D., Hautekiet, V. and Vlkova, E. (2019) Effect of probiotic *Clostridium butyricum* CBM 588 on microbiota and growth performance of broiler chickens. *Czech J. Anim. Sci*, 64 (9), 387-394.

Szabó, M.A., Varga, G.Z., Hohmann, J., Schelz, Z., Szegedi, E., Amaral, L. and Molnár, J. (2010) Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils. *Phytother Res*, (5), 782-786.

Tang, X., Liu, X. and Liu, H. (2021) Effects of Dietary Probiotic (*Bacillus subtilis*) Supplementation on Carcass Traits, Meat Quality, Amino Acid, and Fatty Acid Profile of Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 8.

Ter, S. (2017) La historia de los probióticos. [en línea] disponible en <<https://www.optibacprobiotics.com/uk/learning-lab/about/probiotics/history-of-probiotics>> [Consulta: 16 abril 2021].

Torres, C. and Zarazaga, M. (2002) Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino? *Gaceta Sanitaria*, 16 (2), 109-112.

Torres, C.M. (2012) La Resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Discurso de recepción académica no publicada. Zaragoza: Academia de farmacia Reino de Aragón.

Tripathi, M. and Giri, S. (2014) Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, 225-241.

UNA. (2021) Compendio de indicadores económicos del sector Avícola. México.

Valenzuela, B.M., Teresa, P.M., Soledad, M., Santolaya, De P., Elena, M., Sakurada, Z., García, A.C., González, P., Pérez, P., Prado, C., Triantafilo, V. and Vjera, O. (2003) Implementación de una red nacional para la vigilancia de resistencia de agentes patógenos a antimicrobianos según síndromes clínicos. *Revista chilena de infectología*, 20 (2), 119-125.

Van Der Klis, J.D. and Vinyeta-Punti, E. (2014) The potential of phytogetic feed additives in pigs and poultry. En: *Proceedings of 18th Congress of the European Society of Veterinary & Comparative Nutrition*. Celebrada en Utrecht, Netherlands.

Vasiljevic, T. and Shah, N.P. (2008) Probiotics—From Metchnikoff to bioactives, *International Dairy Journal*, 18 (7), 714-728.

Vila, B., García, E. and Brufau, J. (2010) Probiotic microorganisms: 100 years of innovation and efficacy; modes of action. *World's Poultry Sci. J*, 65, 369-380.

VyQ de México. (2022) Probióticos Promotores de crecimiento. [en línea] disponible en <<https://www.vyqdemexico.com/productos/probioticos-promotores-de-crecimiento/>> [Consulta: 16 abril 2022].

Wina, E. (2018) The Role of Saponin as Feed Additive for Sustainable Poultry Production. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences*, 27, 117.

- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A. (2008) Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86, E140–E148.
- Yan, F. and Polk, D.B. (2002) Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *The Journal of biological chemistry*, 277 (52), 50959–50965.
- Yang, C., Cao, G., Ferket, P., Liu, T., Zhou, L., Zhang, L., Xiao, Y. and Chen, A. (2012) Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune function, and cecal microflora in broiler chickens. *Poultry science*, 91 (9), 2121-2129.
- Zhang, L., Zhang, L., Zhan, X., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G., Chen, A. and Yang, C. (2016) Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88. *J Animal Sci Biotechnol*, 7 (3), 1-9.
- Zhang, L.Y., Peng, Q.Y., Liu, Y.R., Ma, Q.G., Zhang, J.Y., Guo, Y.P., Xue, Z. and Zhao, L.H. (2021) Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status and intestinal health of broilers. *Poultry Science*, 100 (7), 1-12.
- Zhang, S., Zhong, G., Shao, D., Wang, Q., Hu, Y., Wu, T., Ji, C. and Shi, S. (2021) Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* promotes growth performance of broilers by altering the dominant microbial community, *Poultry Science*, 100 (3), 1-13.

## CUADROS

**Cuadro 1.** Microorganismos comúnmente utilizados en aves como probióticos.

<b>Bacterias</b>	
<b><i>Lactobacillus sp.*</i></b>	
<i>acidophilus</i>	<i>reuteri</i>
<i>casei</i>	<i>lactis</i>
<i>plantarum</i>	<i>fermentum</i>
<i>delbrueckii subsp bulgaricus</i>	<i>brevis</i>
<i>curvatus</i>	<i>cellobiosus</i>
<b><i>Bacillus sp.*</i></b>	
<i>subtilis</i>	<i>amyloquefaciens</i>
<i>cereus</i>	<i>coagulans</i>
<i>licheniformis</i>	
<b><i>Bifidobacterium sp.*</i></b>	
<i>bifidum</i>	<i>longum</i>
<i>adolescentes</i>	<i>infantis</i>
<i>animalis</i>	<i>thermophilum</i>
<b><i>Streptococcus sp.</i></b>	
<i>salivarius subsp thermophilus</i>	<i>cremoris</i>
<i>faecium</i>	<i>diacetylactis</i>
<b><i>Enterococcus sp.*</i></b>	
<i>faecium</i>	<i>faecalis</i>
<b><i>Pediococcus sp.</i></b>	
<i>pentosaceus</i>	<i>acidilactici</i>
<b><i>Bacteroides spp.</i></b>	
<b><i>Leuconostoc spp.</i></b>	
<b>Hongos</b>	
<b><i>Aspergillus sp.</i></b>	
<i>oryzae</i>	
<b><i>Sacharomyces sp.*</i></b>	
<i>cerevisiae</i>	<i>boulardi</i>

\*Cepas de bacterias y levaduras que se utilizan con mayor frecuencia en la alimentación de las aves como probióticos (Tripathi y Giri, 2014). Adaptado de Montoya (2019).



**Cuadro 2.** Ejemplos de diferentes hierbas usadas como fitobióticos, partes que se utilizan y sus principales componentes activos.

Hierba/planta	Parte/material usado	Componente activo
<b>Ajo</b> ( <i>Allium sativum</i> )	Bulbos triturados	Alicina, ajoeno, disulfuro de alilo, vinilditiina, fitoesteroles, pectinas, flavonoides
<b>Canela</b> ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> )	Corteza, hojas, aceite esencial	Cinamaldehído, eugenol, sustancias fenólicas y polifenólicas
<b>Clavo</b> ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	Botones, aceite esencial	Eugenol, $\beta$ -cariesofileno, $\alpha$ -humuleno, acetato de eugenoyo
<b>Cúrcuma</b> ( <i>Curcuma longa</i> )	Rizoma, polvo	Curcuminoides, turmerones
<b>Jengibre</b> ( <i>Zingiber officinale</i> )	Raíces, aceite esencial	Canfeno, neral, geranial, $\beta$ -bisaboleno, curcumina, $\beta$ -eudesmol
<b>Menta</b> ( <i>Menta piperita</i> )	Hojas, polvo, infusión, aceite esencial	Mentol, terpenos
<b>Moringa</b> ( <i>Moringa oleífera</i> )	Hojas, aceite esencial	Ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ascórbico, flavonoides, fenoles, carotenoides
<b>Orégano</b> ( <i>Origanum vulgare</i> )	Aceite esencial, hojas	Carvacrol, timol, $\gamma$ -terpineno, p-cimeno, $\beta$ -carifileno
<b>Pimienta negra</b> ( <i>Piper nigrum</i> )	Semillas, fruto seco	Limona, $\delta$ -3-cameno, $\alpha$ y $\beta$ -pineno, $\beta$ -carifileno,
<b>Salvia</b> ( <i>Salvia officinalis</i> )	Rizoma, polvo, aceite esencial	Acetato de linalina, 1,8-cineole, $\alpha$ -tujona, $\beta$ -tujona

Van Der Klis y Vinyeta-Punti (2014); Mohammadi y Ho, (2017); Montoya (2019); Krauze (2021).

**Cuadro 3.** Número de repeticiones por tratamiento, número de aves por repetición y número de aves por tratamiento.

Tratamiento (Tx)	Réplicas por Tx	Sexo		Pollos por réplica	Pollos por Tx
1	8	Macho	Control (-)	25	200
2	8	Macho	Control (+) Enradin®	25	200
3	8	Macho	Probion-forte©	25	200
4	8	Macho	EndoBan® + Probion-forte©	25	200
5	8	Macho	CRINA® Poultry Plus	25	200
<b>Total de réplicas</b>	<b>40</b>			<b>Total de pollos</b>	<b>1000</b>

Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

Probion-forte©: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

EndoBan® + Probion-forte©: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (30 0g/ton) (CPP).

**Cuadro 4.** Composición y análisis calculado de la dieta basal de iniciación para pollo de engorda (1-10 días de edad).

<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad (kg)</b>
Sorgo	632.171
Pasta de soya	321.574
Carbonato de calcio	19.304
Aceite de soya	8.810
Ortofosfato	6.126
DL-Metionina	3.019
Sal	2.944
Premezcla de vitaminas y minerales*	2.500
L-lisina HCl	1.821
Free Tox	1.000
Nicarbazina	0.500
Antioxidante	0.150
Fitasa	0.080
<b>Total</b>	<b>10000</b>
<b>Análisis calculado</b>	
Energía metabolizable (Mc/Kg)	3.041
Proteína cruda (%)	22.5
Fosforo no fítico (%)	0.500
Calcio (%)	1.000
Lisina digestible (%)	1.270
Metionina digestible (%)	0.619
Met+ Cis digestible (%)	0.980
Ácido linoleico (%)	1.250
Sodio (%)	0.180

\*Vitamina A (12,000,000 UI), vitamina D3 (2,500,000 UI), vitamina E (15,000 UI), vitamina K (2.0 g), vitamina B1 (2.25 g), vitamina B2 (7.5 g), vitamina B6 (3.5 g), vitamina B12 (20 mg), ácido fólico (1.5 g), biotina (125 mg), ácido pantoténico (12.5 g), niacina (45 g); Hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0.30 g), selenio (0.20 g), cobalto (0.20 g). Cantidades adicionadas de vitaminas y minerales por tonelada de alimento.

**Cuadro 5.** Composición y análisis calculado de la dieta basal de crecimiento para pollo de engorda (11-21 días de edad).

<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad (kg)</b>
Sorgo	650.749
Pasta de soya	297.508
Carbonato de calcio	18.234
Aceite de soya	15.174
Ortofosfato	3.438
DL-Metionina	3.136
Sal	3.033
Premezcla de vitaminas y minerales*	3.000
L-lisina HCl	2.719
Free Tox	1.000
Nicarbazina	0.500
Antioxidante	0.150
Fitasa	0.080
<b>Total</b>	<b>10000</b>
<b>Análisis calculado</b>	
Energía metabolizable (Mc/Kg)	3.100
Proteína cruda (%)	21.5
Fosforo no fítico (%)	0.440
Calcio (%)	0.870
Lisina digestible (%)	1.150
Metionina digestible (%)	0.586
Met+ Cis digestible (%)	0.875
Treonina digestible	0.801
Ácido linoleico (%)	1.594
Sodio (%)	0.180

\*Vitamina A (12,000,000 UI), vitamina D3 (2,500,000 UI), vitamina E (15,000 UI), vitamina K (2.0 g), vitamina B1 (2.25 g), vitamina B2 (7.5 g), vitamina B6 (3.5 g), vitamina B12 (20 mg), ácido fólico (1.5 g), biotina (125 mg), ácido pantoténico (12.5 g), niacina (45 g); Hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0.30 g), selenio (0.20 g), cobalto (0.20 g). Cantidades adicionadas de vitaminas y minerales por tonelada de alimento.

**Cuadro 6.** Composición y análisis calculado de la dieta basal de finalización para pollo de engorda (22-42 días de edad).

<b>Ingredientes</b>	<b>Cantidad (kg)</b>
Sorgo	670.469
Pasta de soya	262.796
Carbonato de calcio	17.702
Aceite de soya	28.677
Pigmento amarillo	6.000
Ortofosfato	1.812
DL-Metionina	2.743
Sal	3.100
Premezcla de vitaminas y minerales*	3.000
L-lisina HCl	1.971
Free Tox	1.000
Salinomicina	0.500
Antioxidante	0.150
Fitasa	0.080
<b>Total</b>	<b>10000</b>
<b>Análisis calculado</b>	
Energía metabolizable (Mc/Kg)	3.200
Proteína cruda (%)	20.0
Fosforo no fítico (%)	0.400
Calcio (%)	0.850
Lisina digestible (%)	1.000
Metionina digestible (%)	0.528
Met+ Cis digestible (%)	0.800
Treonina digestible	0.621
Ácido linoleico (%)	2.308
Sodio (%)	0.180

\*Vitamina A (12,000,000 UI), vitamina D3 (2,500,000 UI), vitamina E (15,000 UI), vitamina K (2.0 g), vitamina B1 (2.25 g), vitamina B2 (7.5 g), vitamina B6 (3.5 g), vitamina B12 (20 mg), ácido fólico (1.5 g), biotina (125 mg), ácido pantoténico (12.5 g), niacina (45 g); Hierro (50 g), zinc (50 g), manganeso (110 g), cobre (12 g), yodo (0.30 g), selenio (0.20 g), cobalto (0.20 g). Cantidades adicionadas de vitaminas y minerales por tonelada de alimento.

**Cuadro 7.** Resultados promedio de parámetros productivos en pollos de 42 días de edad alimentados con diferentes eubióticos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Ganancia de peso (g)</b>	<b>Consumo de alimento (g)</b>	<b>Conversión alimenticia (kg:kg)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<b>1</b>	2230.4 <sup>a</sup>	3789.3 <sup>a</sup>	1.70 <sup>a</sup>	2.50 <sup>a</sup>
<b>2</b>	2331.4 <sup>b</sup>	3853.8 <sup>a</sup>	1.65 <sup>b</sup>	6.00 <sup>a</sup>
<b>3</b>	2326.4 <sup>b</sup>	3856.8 <sup>a</sup>	1.66 <sup>b</sup>	3.00 <sup>a</sup>
<b>4</b>	2308.0 <sup>b</sup>	3831.2 <sup>a</sup>	1.66 <sup>b</sup>	4.00 <sup>a</sup>
<b>5</b>	2312.6 <sup>b</sup>	3853.2 <sup>a</sup>	1.67 <sup>b</sup>	4.50 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	<0.0001	0.15	<0.0001	0.88
<b>EEM</b>	7.53	9.84	0.004	1.25

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (30 0g/ton) (CPP).

**Cuadro 8.** Resultados promedio de rendimiento de la canal en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	Peso vivo (g)	Rendimiento de canal caliente (%)	Peso de canal caliente (g)	Rendimiento de canal fría (%)	Peso de canal fría (g)
1	2448.2 <sup>a</sup>	71.3 <sup>a</sup>	1746.1 <sup>a</sup>	72.4 <sup>a</sup>	1773.2 <sup>a</sup>
2	2619.0 <sup>b</sup>	72.0 <sup>a</sup>	1885.8 <sup>b</sup>	73.1 <sup>a</sup>	1915.2 <sup>b</sup>
3	2612.5 <sup>b</sup>	72.3 <sup>a</sup>	1888.5 <sup>b</sup>	73.4 <sup>a</sup>	1918.0 <sup>b</sup>
4	2613.5 <sup>b</sup>	72.2 <sup>a</sup>	1886.7 <sup>b</sup>	73.1 <sup>a</sup>	1910.5 <sup>b</sup>
5	2594.0 <sup>ab</sup>	71.7 <sup>a</sup>	1860.9 <sup>b</sup>	72.6 <sup>a</sup>	1883.8 <sup>b</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.01	0.06	0.002	0.05	0.002
<b>EEM</b>	19.45	0.12	14.27	0.12	14.31

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis*  $1 \times 10^8$  UFC/g, *Bacillus coagulans*  $1 \times 10^8$  UFC/g y *Clostridium butyricum*  $1 \times 10^6$  UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis*  $1 \times 10^8$  UFC/g, *Bacillus coagulans*  $1 \times 10^8$  UFC/g y *Clostridium butyricum*  $1 \times 10^6$  UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

**Cuadro 9.** Resultados promedio obtenidos de pigmentación de la piel en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	Enrojecimiento de la piel (a*)			Amarillamiento de la piel (b*)		
	Pigmento vivo	Pigmento canal caliente	Pigmento canal fría	Pigmento vivo	Pigmento canal caliente	Pigmento canal fría
1	1.87 <sup>a</sup>	1.93 <sup>ab</sup>	2.68 <sup>a</sup>	19.57 <sup>a</sup>	37.61 <sup>a</sup>	40.23 <sup>a</sup>
2	1.80 <sup>a</sup>	2.67 <sup>ab</sup>	3.70 <sup>ab</sup>	20.27 <sup>a</sup>	37.83 <sup>a</sup>	40.54 <sup>a</sup>
3	2.49 <sup>a</sup>	3.71 <sup>b</sup>	4.63 <sup>b</sup>	18.76 <sup>a</sup>	36.67 <sup>a</sup>	39.57 <sup>a</sup>
4	1.87 <sup>a</sup>	1.95 <sup>ab</sup>	3.05 <sup>ab</sup>	19.53 <sup>a</sup>	37.44 <sup>a</sup>	41.61 <sup>a</sup>
5	1.89 <sup>a</sup>	1.76 <sup>a</sup>	2.18 <sup>a</sup>	18.85 <sup>a</sup>	37.49 <sup>a</sup>	40.70 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.39	0.02	0.006	0.25	0.77	0.27
<b>EEM</b>	0.12	0.22	0.24	0.24	0.29	0.29

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).



**Cuadro 10.** Datos promedio obtenidos de longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	Duodeno		Yeyuno		Íleon	
	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)
1	1770 <sup>a</sup>	256 <sup>a</sup>	901 <sup>a</sup>	184 <sup>a</sup>	633 <sup>a</sup>	191 <sup>a</sup>
2	1793 <sup>a</sup>	285 <sup>ab</sup>	883 <sup>a</sup>	195 <sup>a</sup>	675 <sup>ab</sup>	226 <sup>b</sup>
3	1807 <sup>a</sup>	306 <sup>bc</sup>	934 <sup>a</sup>	223 <sup>b</sup>	728 <sup>b</sup>	265 <sup>c</sup>
4	1783 <sup>a</sup>	333 <sup>c</sup>	952 <sup>a</sup>	225 <sup>b</sup>	741 <sup>b</sup>	238 <sup>bc</sup>
5	1763 <sup>a</sup>	316 <sup>bc</sup>	952 <sup>a</sup>	219 <sup>b</sup>	755 <sup>b</sup>	252 <sup>bc</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.92	<0.0001	0.18	<0.0001	<0.0001	<0.0001
<b>EEM</b>	16.14	5.08	11.06	2.81	10.17	4.12

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

**Cuadro 11.** Resultados promedio obtenidos de longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	Duodeno		Yeyuno		Íleon	
	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)
1	2028 <sup>a</sup>	293 <sup>a</sup>	1091 <sup>a</sup>	239 <sup>ab</sup>	809 <sup>a</sup>	200 <sup>ab</sup>
2	2203 <sup>b</sup>	287 <sup>a</sup>	1160 <sup>ab</sup>	226 <sup>a</sup>	858 <sup>ab</sup>	230 <sup>b</sup>
3	2254 <sup>b</sup>	306 <sup>ab</sup>	1210 <sup>bc</sup>	245 <sup>ab</sup>	870 <sup>ab</sup>	190 <sup>a</sup>
4	2227 <sup>b</sup>	335 <sup>b</sup>	1263 <sup>c</sup>	245 <sup>ab</sup>	909 <sup>b</sup>	204 <sup>ab</sup>
5	2221 <sup>b</sup>	377 <sup>c</sup>	1191 <sup>bc</sup>	268 <sup>b</sup>	865 <sup>ab</sup>	210 <sup>ab</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.001	<0.0001	<0.0001	0.02	0.04	0.006
<b>EEM</b>	18.70	5.37	9.90	4.10	10.08	3.53

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

**Cuadro 12.** Datos promedio obtenidos de la relación longitud de vellosidades y profundidad de cripta del duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 y 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	21 días			42 días		
	Relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta			Relación longitud de vellosidad:profundidad de cripta		
	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Duodeno	Yeyuno	Íleon
1	7.22 <sup>b</sup>	4.96 <sup>b</sup>	3.36 <sup>b</sup>	7.10 <sup>ab</sup>	4.68 <sup>a</sup>	4.09 <sup>ab</sup>
2	6.53 <sup>ab</sup>	4.61 <sup>ab</sup>	3.06 <sup>ab</sup>	7.79 <sup>b</sup>	5.19 <sup>ab</sup>	3.82 <sup>a</sup>
3	6.16 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>	2.78 <sup>a</sup>	7.97 <sup>b</sup>	5.14 <sup>ab</sup>	4.85 <sup>c</sup>
4	5.53 <sup>a</sup>	4.27 <sup>a</sup>	3.15 <sup>ab</sup>	6.89 <sup>ab</sup>	5.40 <sup>b</sup>	4.56 <sup>bc</sup>
5	5.75 <sup>a</sup>	4.42 <sup>ab</sup>	3.06 <sup>ab</sup>	6.03 <sup>a</sup>	4.69 <sup>a</sup>	4.25 <sup>abc</sup>
<b>Probabilidad</b>	<0.001	0.002	0.001	<0.0001	0.019	<0.0001
<b>EEM</b>	0.12	0.07	0.05	0.15	0.09	0.08

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Procion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Procion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

**Cuadro 13.** Resultados promedio obtenidos del grosor de la mucosa intestinal en duodeno, yeyuno e íleon en pollos de 21 y 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	21 días			42 días		
	Grosor de la mucosa (µm)			Grosor de la mucosa (µm)		
	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Duodeno	Yeyuno	Íleon
1	2026 <sup>a</sup>	1085 <sup>a</sup>	824 <sup>a</sup>	2321 <sup>a</sup>	1331 <sup>a</sup>	1016 <sup>a</sup>
2	2078 <sup>a</sup>	1109 <sup>ab</sup>	901 <sup>a</sup>	2490 <sup>b</sup>	1385 <sup>ab</sup>	1101 <sup>ab</sup>
3	2111 <sup>a</sup>	1157 <sup>ab</sup>	993 <sup>b</sup>	2560 <sup>b</sup>	1455 <sup>bc</sup>	1060 <sup>ab</sup>
4	2116 <sup>a</sup>	1177 <sup>b</sup>	979 <sup>b</sup>	2562 <sup>b</sup>	1478 <sup>c</sup>	1106 <sup>b</sup>
5	2079 <sup>a</sup>	1171 <sup>b</sup>	1007 <sup>b</sup>	2535 <sup>b</sup>	1453 <sup>bc</sup>	1075 <sup>ab</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.42	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.04
<b>EEM</b>	16.30	10.90	11.02	19.22	10.03	10.37

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

**Cuadro 14.** Datos promedio obtenidos del análisis celular por medio de un hemograma en pollos de 42 días alimentados con diferentes eubióticos.

Tratamiento	Ht (10 <sup>12</sup> /L)	Er (L/L)	T (10 <sup>9</sup> /L)	ST (g/L)	Leu (10 <sup>9</sup> /L)	H (10 <sup>9</sup> /L)	L (10 <sup>9</sup> /L)	RH:L	M (10 <sup>9</sup> /L)	E (10 <sup>9</sup> /L)	B (10 <sup>9</sup> /L)
1	0.34 <sup>a</sup>	2.38 <sup>a</sup>	17.50 <sup>a</sup>	31.80 <sup>a</sup>	3.14 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	2.08 <sup>a</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.10 <sup>ab</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>
2	0.34 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	15.54 <sup>a</sup>	32.80 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	1.40 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.02 <sup>a</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>
3	0.32 <sup>a</sup>	2.16 <sup>a</sup>	19.04 <sup>a</sup>	33.60 <sup>a</sup>	3.40 <sup>c</sup>	0.86 <sup>b</sup>	1.90 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.24 <sup>b</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>
4	0.32 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>	18.06 <sup>a</sup>	32.60 <sup>a</sup>	2.30 <sup>ab</sup>	0.36 <sup>a</sup>	1.62 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.14 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.12 <sup>a</sup>
5	0.31 <sup>a</sup>	1.86 <sup>a</sup>	23.40 <sup>a</sup>	33.80 <sup>a</sup>	2.08 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	1.38 <sup>a</sup>	0.27 <sup>a</sup>	0.10 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.14 <sup>a</sup>
<b>Probabilidad</b>	0.41	0.42	0.12	0.94	0.008	0.002	0.11	0.11	0.03	0.08	0.16
<b>EEM</b>	0.004	0.09	0.98	0.77	0.17	0.06	0.10	0.03	0.01	0.02	0.02

Diferente literal en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Ht= Hematocrito, Er= Eritrocitos, T= Trombocitos, ST= Sólidos totales, Leu= Leucocitos, H= Heterófilos, L= Linfocitos, RH:L= Relación heterofilos:linfocitos, M= Monocitos, E= Eosinófilos, B= Basófilos.

EEM= Error estándar de la media.

1.- Dieta basal testigo sin APC (CON).

2.- Como 1 + Enradin®: enramicina a razón de 10 ppm (100 g/ton) (ENR).

3.- Como 1 + Probion-forte®: *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (300 g/ton) (PF).

4.- Como 1 + EndoBan® + Probion-forte®: silicatos específicos, mezcla de sustancias aromáticas y algas rojas, *Bacillus subtilis* 1x10<sup>8</sup> UFC/g, *Bacillus coagulans* 1x10<sup>8</sup> UFC/g y *Clostridium butyricum* 1x10<sup>6</sup> UFC/g (500 g/ton) (EB+PF).

5.- Como 1 + CRINA® Poultry Plus: mezcla de ácido benzoico, timol, eugenol y piperina (300 g/ton) (CPP).

## FIGURAS

Fotomicrográficas de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas duodenales en pollos de 21 días de edad.

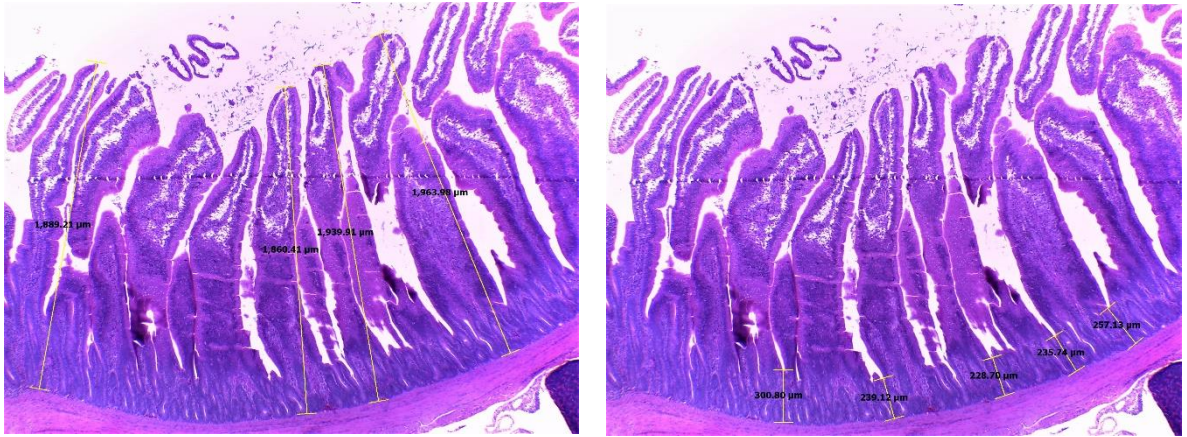


Figura 1 y 2. Tratamiento 1.

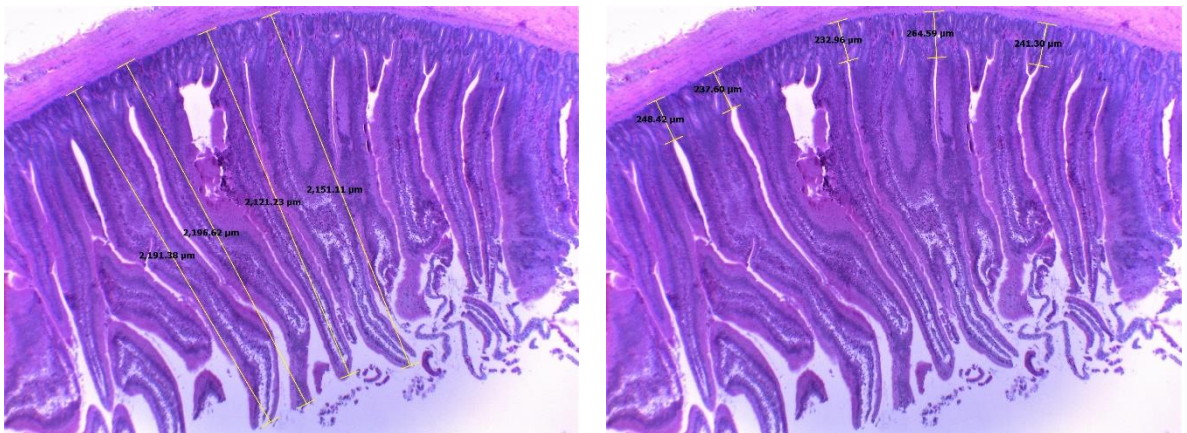


Figura 3 y 4. Tratamiento 2.



Figura 5 y 6. Tratamiento 3.

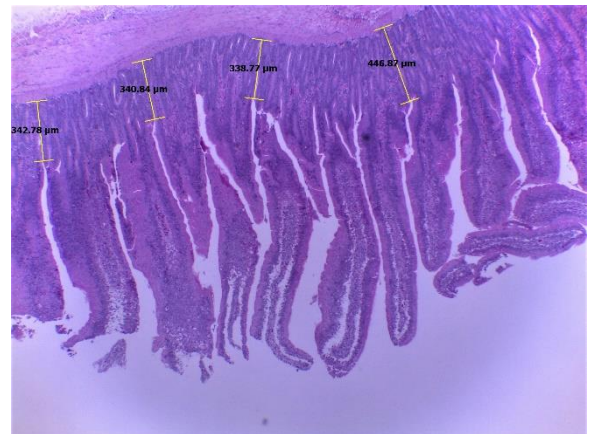


Figura 7 y 8. Tratamiento 4.

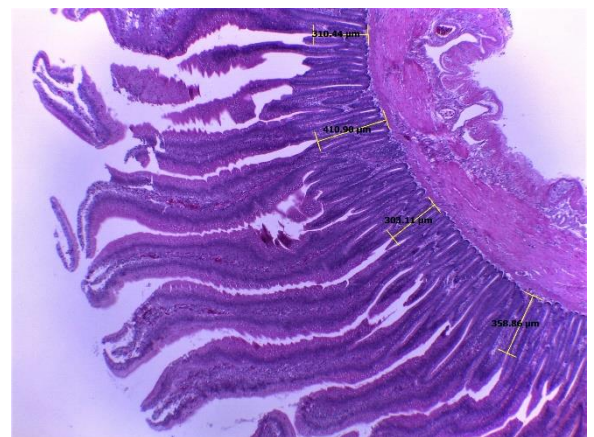
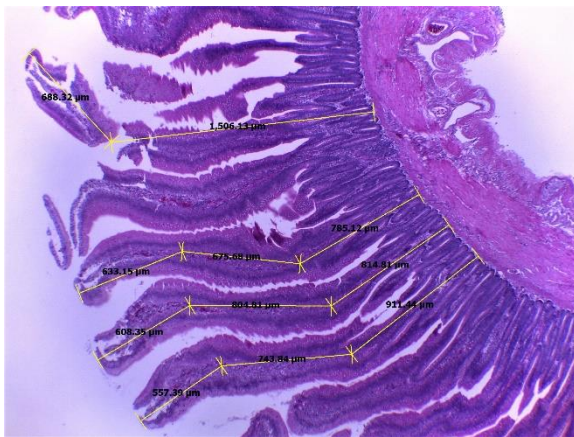
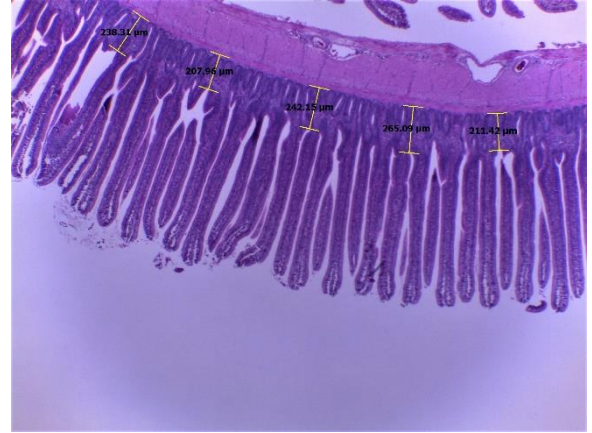
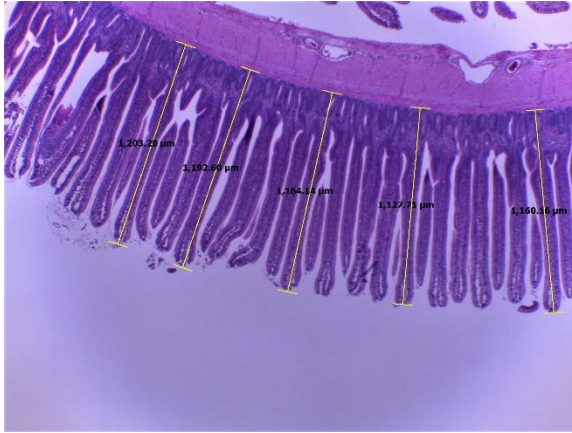


Figura 9 y 10. Tratamiento 5.

**Cortes histológicos de vellosidades y criptas intestinales de yeyuno en pollos de 21 días de experimentación alimentados con diferentes eubióticos comerciales.**

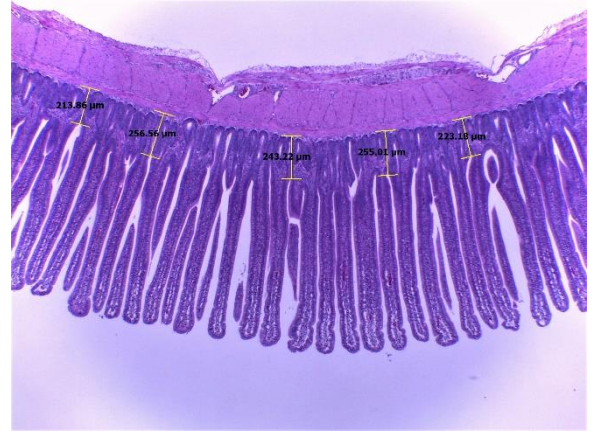
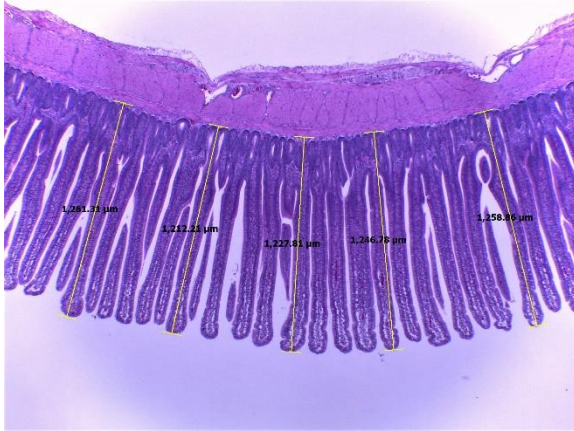


**Figuras 11 y 12. Tratamiento 1.**

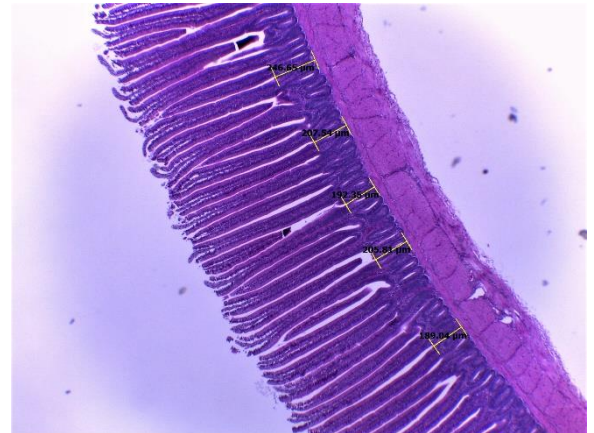
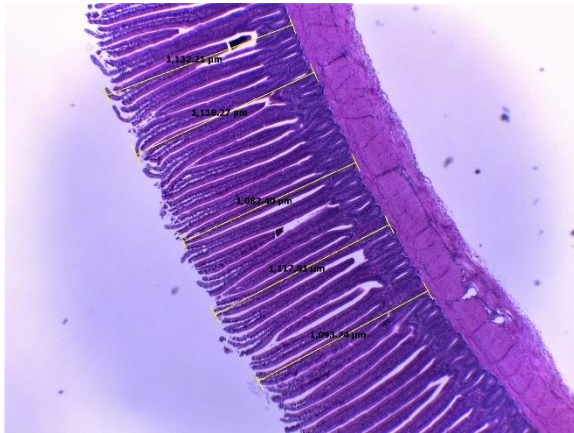


**Figuras 13 y 14. Tratamiento 2.**





Figuras 15 y 16. Tratamiento 3.

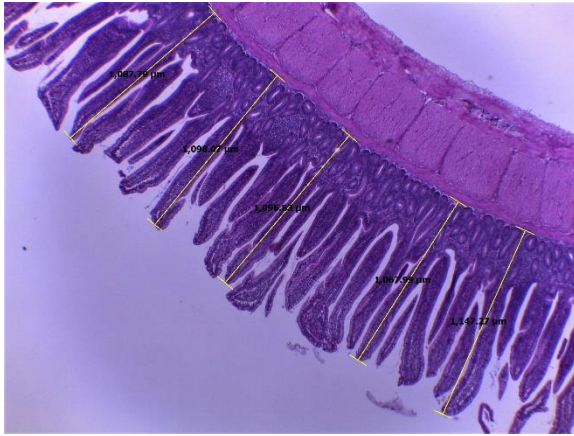


Figuras 17 y 18. Tratamiento 4.

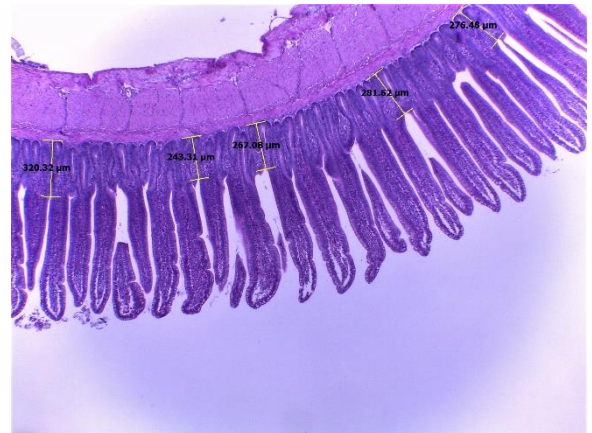


Figuras 19 y 20. Tratamiento 5.

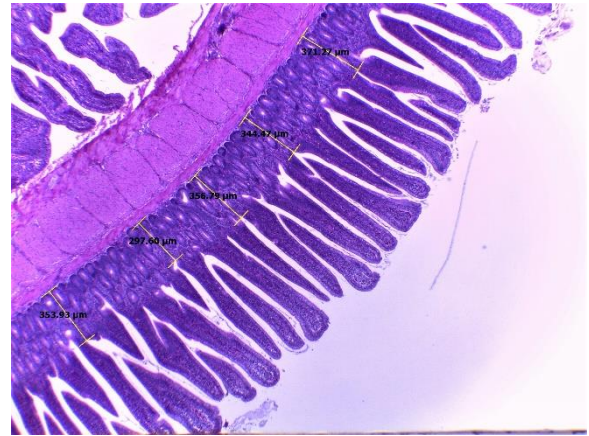
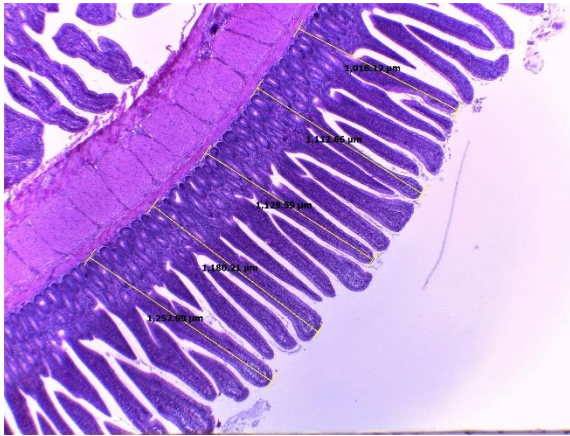
Imágenes de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas de íleon en pollos alimentados con distintos eubióticos comerciales al día 21 de edad.



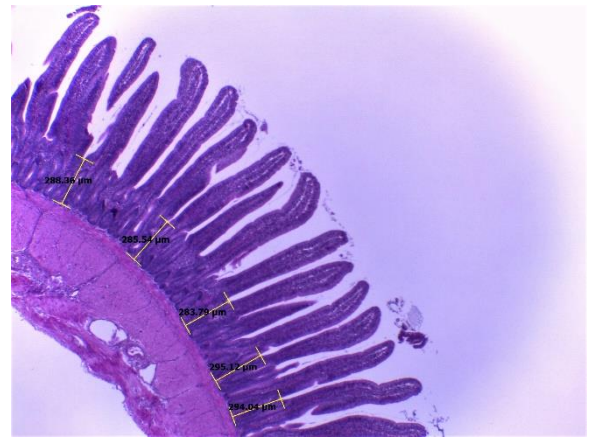
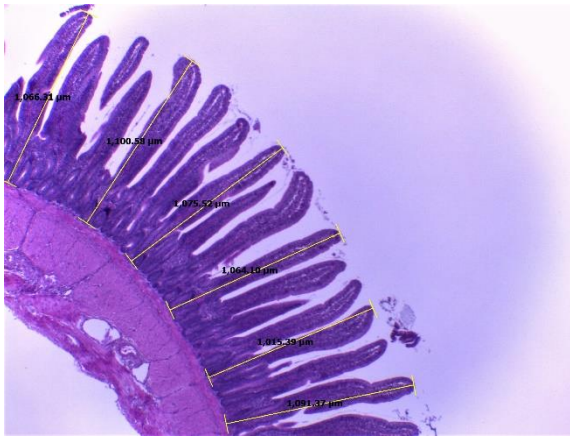
Figuras 21 y 22. Tratamiento 1.



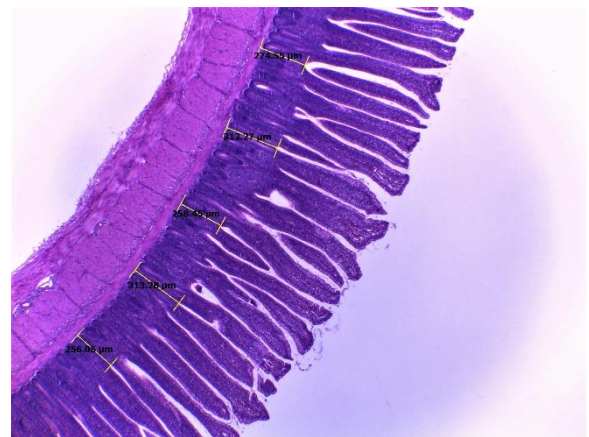
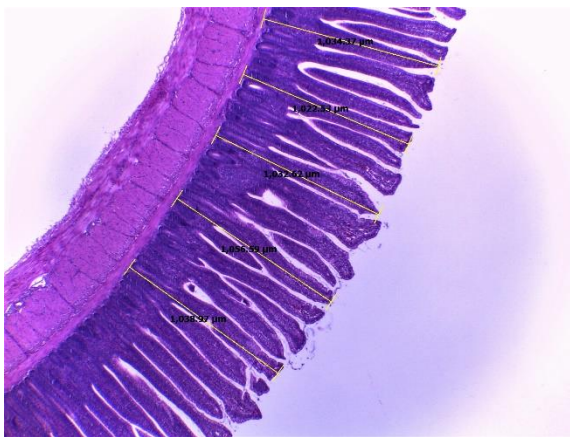
Figuras 23 y 24. Tratamiento 2.



**Figuras 25 y 26. Tratamiento 3.**

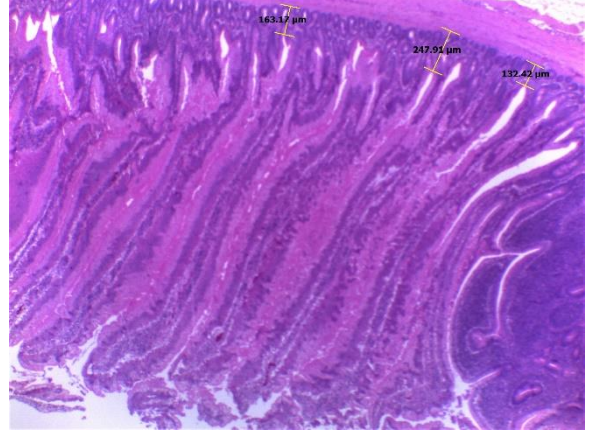
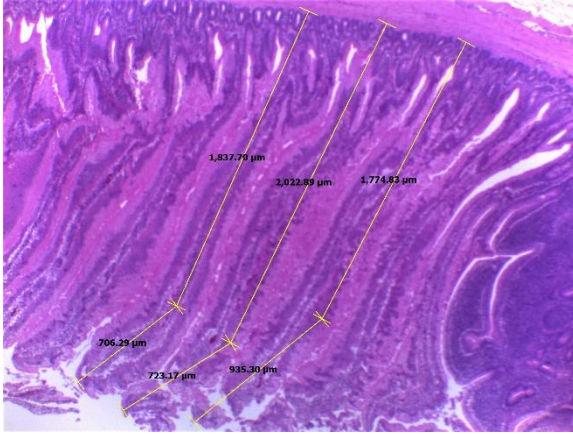


**Figuras 27 y 28. Tratamiento 4.**

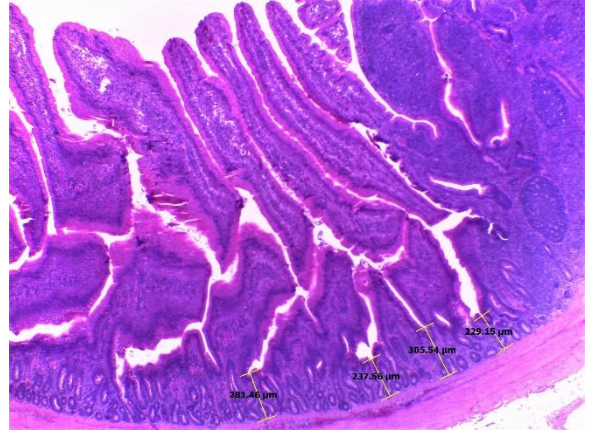


**Figuras 29 y 30. Tratamiento 5.**

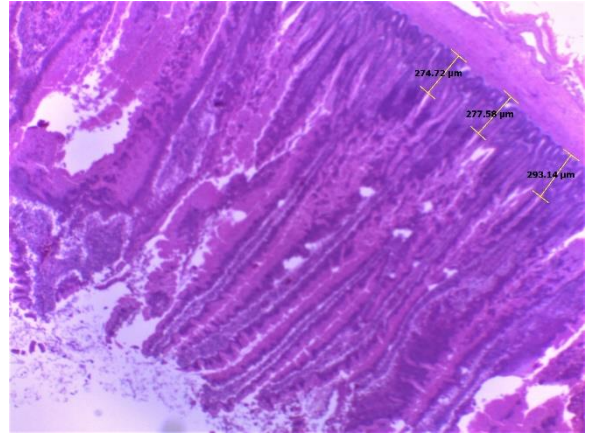
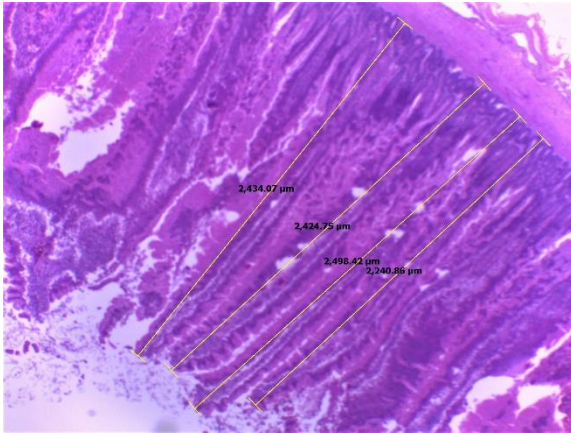
**Fotomicrografías de vellosidades y criptas intestinales de duodeno en pollos alimentados con diferentes eubióticos comerciales al día 42 de experimentación.**



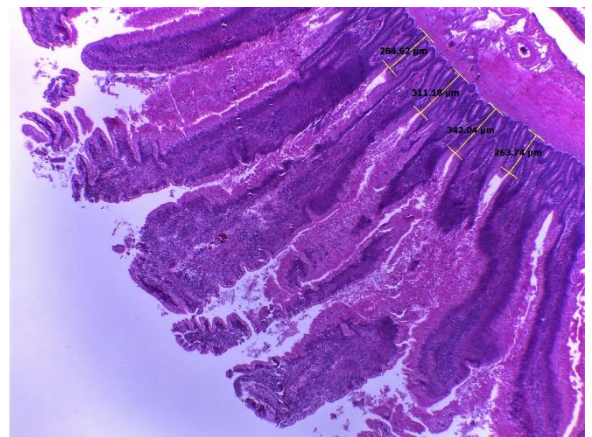
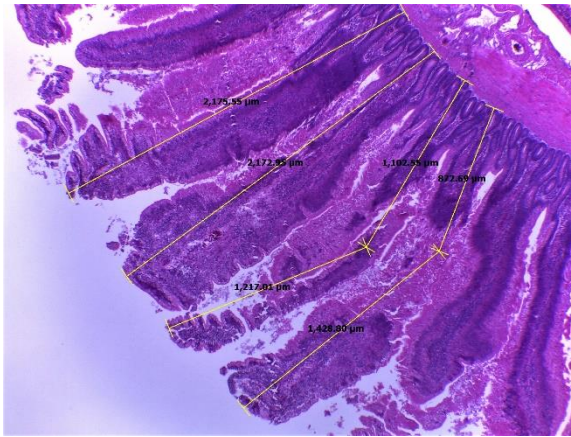
**Figuras 31 y 32. Tratamiento 1.**



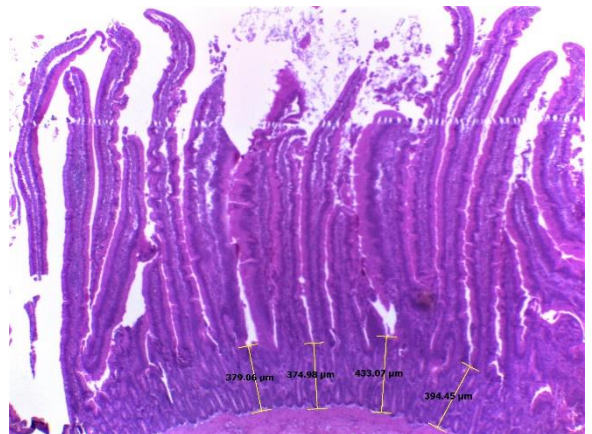
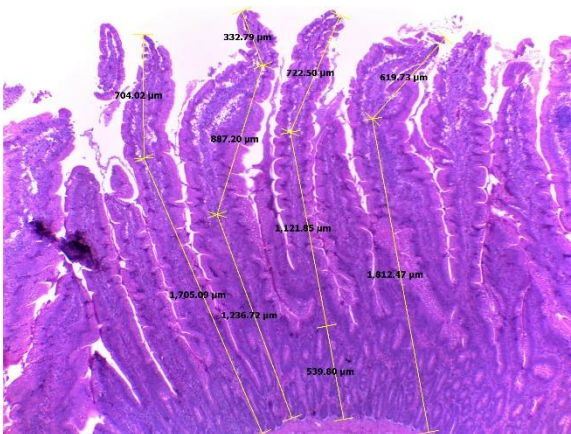
**Figuras 33 y 34. Tratamiento 2.**



**Figuras 35 y 36. Tratamiento 3.**

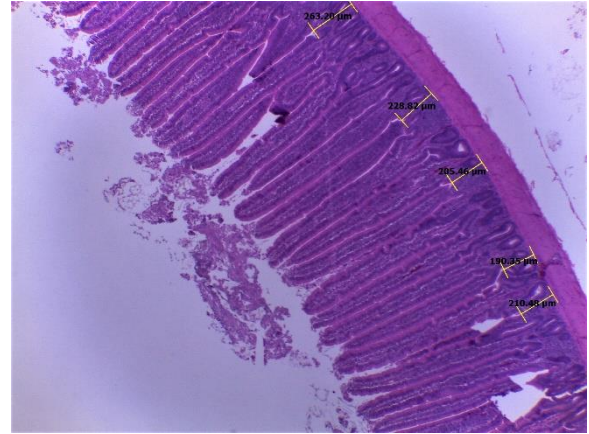
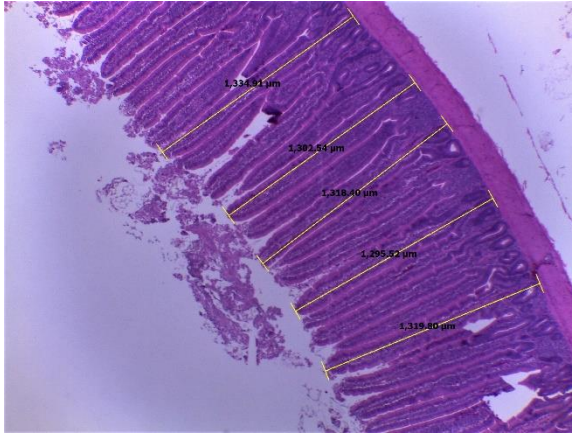


**Figuras 37 y 38. Tratamiento 4.**

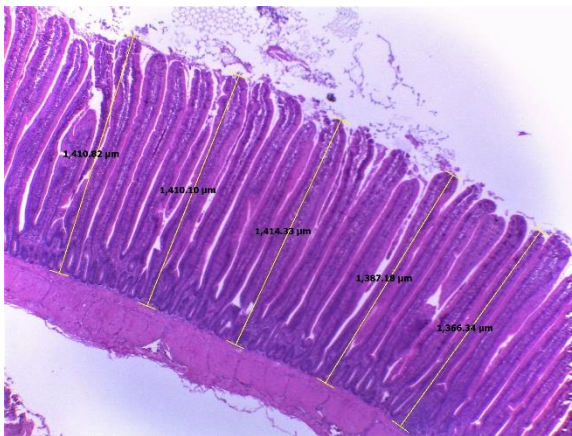


**Figuras 39 y 40. Tratamiento 5.**

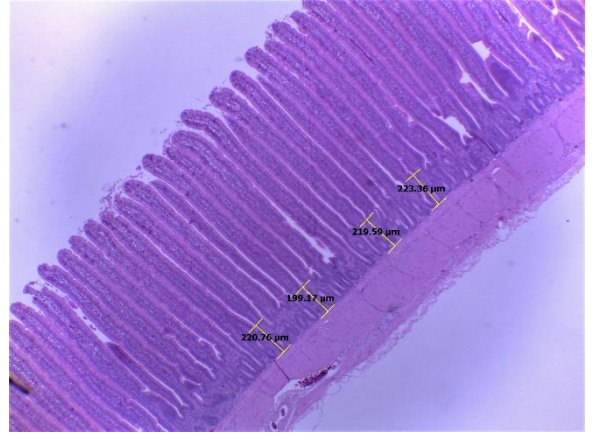
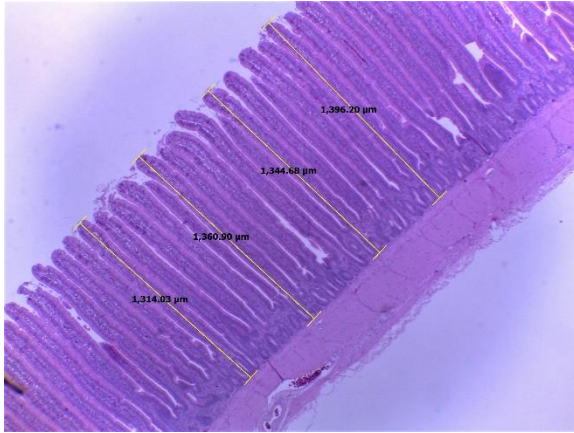
**Cortes histológicos de la longitud de vellosidades intestinales y profundidad de criptas intestinales de yeyuno en pollos de 42 días de edad.**



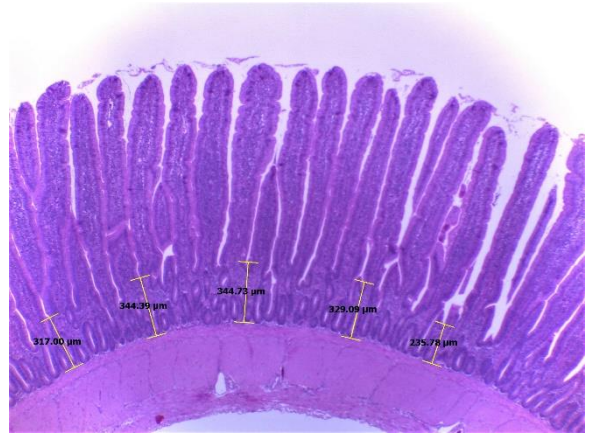
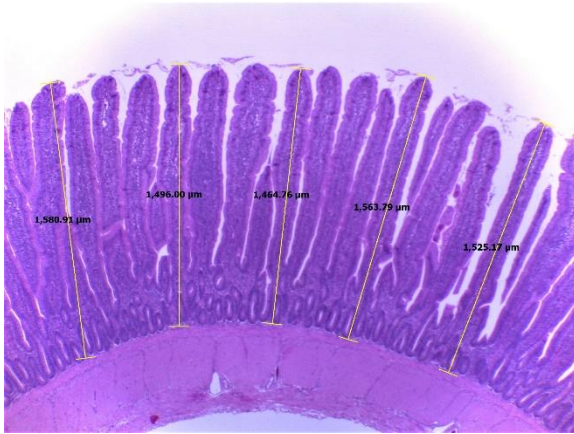
**Figuras 41 y 42. Tratamiento 1.**



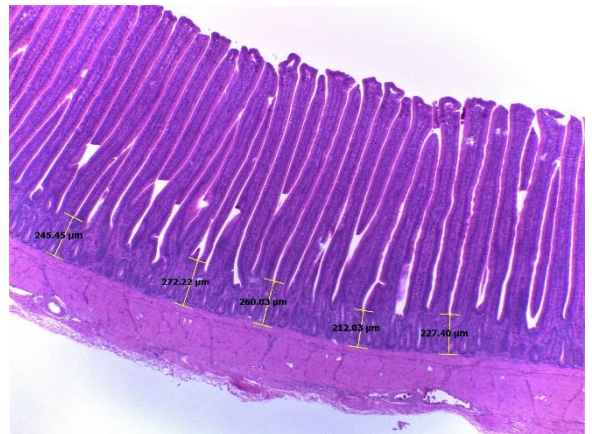
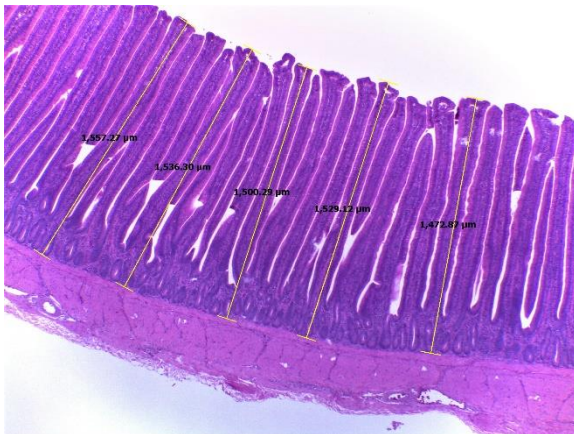
**Figuras 43 y 44. Tratamiento 2.**



**Figuras 45 y 46. Tratamiento 3.**

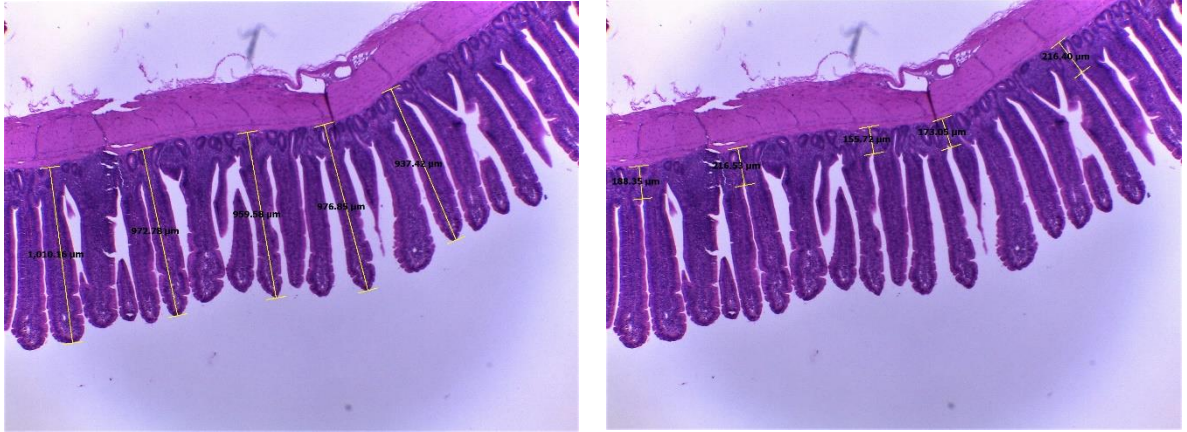


**Figuras 47 y 48. Tratamiento 4.**

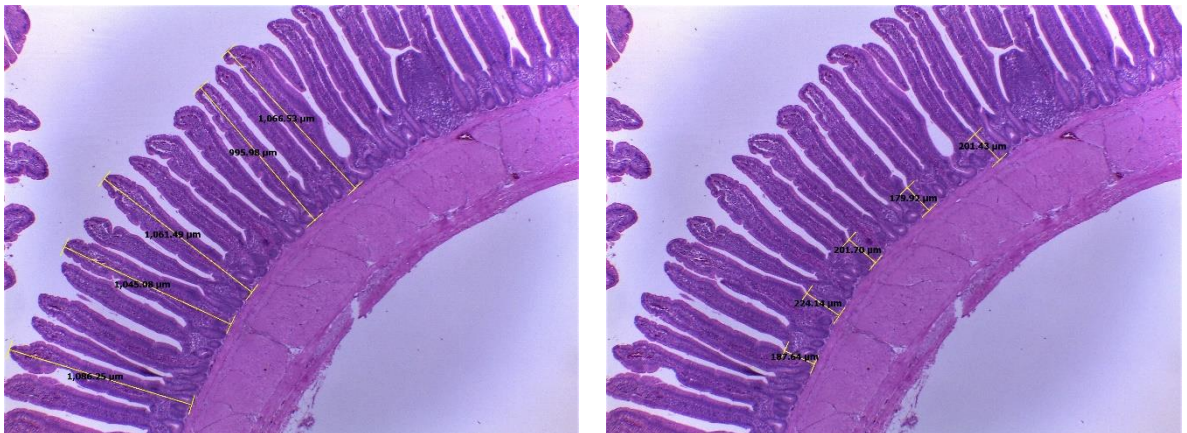


**Figuras 49 y 50. Tratamiento 5.**

**Imágenes de vellosidades y de criptas intestinales de íleon en pollos de 42 días de edad alimentados con distintos eubióticos comerciales.**

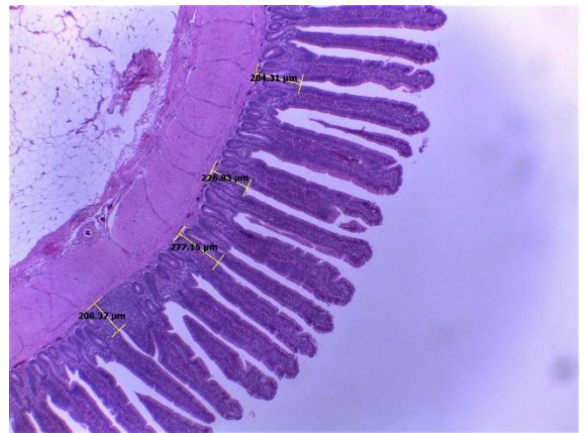
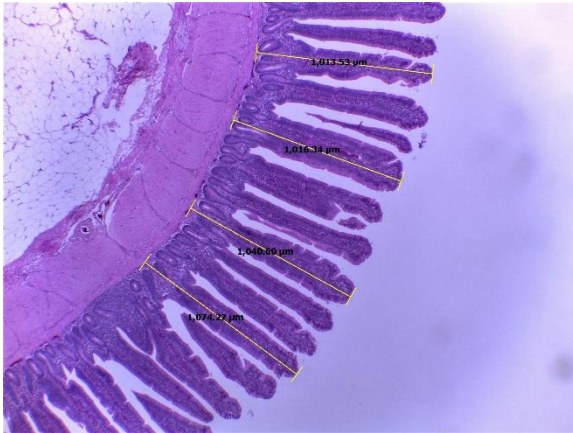


**Figuras 51 y 52. Tratamiento 1.**

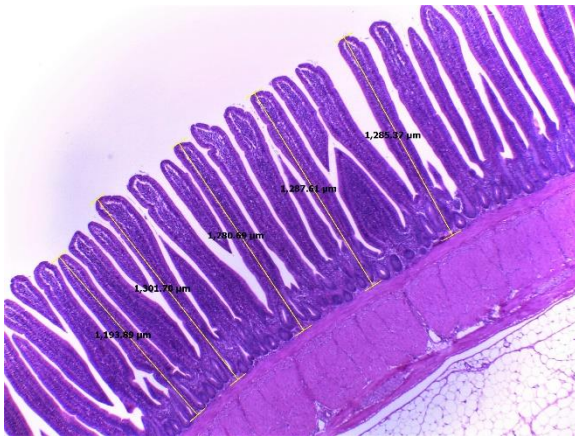


**Figuras 53 y 54. Tratamiento 2.**





**Figuras 55 y 56. Tratamiento 3.**



**Figuras 57 y 58. Tratamiento 4.**



**Figuras 59 y 60. Tratamiento 5.**