



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE PROBIÓTICOS EN EL AGUA DE  
BEBIDA DE POLLOS BROILER SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y  
MORFOMETRÍA INTESTINAL**

**TAMARA MARTÍNEZ SERRANO**

Memoria para optar al Título Profesional  
de Médico Veterinario

Departamento de Fomento de la  
Producción Animal.

**PROFESOR GUÍA: CAROLINA PAZ VALENZUELA VENEGAS**

**SANTIAGO, CHILE**

**2015**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE PROBIÓTICOS EN EL AGUA DE  
BEBIDA DE POLLOS BROILER SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y  
MORFOMETRÍA INTESTINAL**

**TAMARA MARTÍNEZ SERRANO**

Memoria para optar al Título Profesional  
de Médico Veterinario

Departamento de Fomento de la  
Producción Animal.

Nota Final ..... Firma .....

Prof. Guía: Carolina Paz Valenzuela V. ....

Profesor Corrector: María Sol Morales S. ....

Profesor Corrector: Federico Cifuentes R. ....

## **AGRADECIMIENTOS**

Al culminar esta etapa, quisiera agradecer a muchas personas que de una u otra forma formaron parte de este largo proceso.

A mi madre y mi hermano, quienes siempre de forma incondicional me acompañaron y apoyaron en todo momento y en todo lo que pudieron.

A mis amigos, con quienes compartí esta carrera de largo aliento, y junto a los cuales viví muchas alegrías y una que otra frustración.

A mi profesora guía, quien siempre tuvo una disponibilidad increíble para ayudarme y aconsejarme, además de alentarme.

Muchas gracias.

## **RESUMEN**

El objetivo de este estudio fue evaluar una nueva formulación de probióticos incluidos en el agua de bebida y determinar sus efectos sobre parámetros productivos y morfometría intestinal en pollos broiler. Se usaron 240 pollos broiler Ross 308, de 1 día, distribuidos en tres tratamientos: Control (sin probióticos N=80), P1 (1,75 mL de probiótico/ave N=80), y P2 (3,5 mL de probiótico/ave N=80). Los probióticos se administraron vía agua de bebida por 42 días. Se calculó: peso vivo (PV), ganancia diaria de peso (GDP), consumo de alimento (CA), y eficiencia de conversión alimentaria (ECA). Se determinaron también los parámetros histomorfológicos en intestino delgado (días 22 y 42): alto de mucosa y alto de vellosidades (AIV), ancho de vellosidades, profundidad de la cripta (PC), y proporción (AIV:PC). Se obtuvieron mayores PV en P1 los días 22 y 32, la GDP se incrementó el día 22 en P1. El CA disminuyó en P1 y P2 el día 42. La ECA aumentó los días 22 y 42 en P1 y P2. En cuanto a histomorfología intestinal, el día 22 el grupo P2 obtuvo las vellosidades más anchas y las criptas menos profundas. El día 42 el alto de mucosa fue mayor en P2, y las vellosidades más largas se observaron en los grupos P1 y P2. Al final del estudio el probiótico mejoró la ECA y algunos parámetros morfométricos como AIV y alto de mucosa. Los resultados podrían mejorar en condiciones óptimas de temperatura y mantención del probiótico, necesitándose estudios futuros para su evaluación.

**Palabras clave:** broiler, probióticos, parámetros productivos, histomorfología duodenal.

## **ABSTRACT**

The aim of this study was the evaluation of a new formulation of probiotic to be included in water drink, and determinate its effects on performance and histological changes at intestinal mucosal in broiler chickens. It was used 240 chicks broiler Ross 308, 1 day old, randomized in three treatments: Control (without probiotic N=80), P1 (1,75 mL probiotic/bird N=80) and P2 (3,5 mL probiotic/bird N=80). The probiotic was administered daily in drinking water, for 42 days. The following parameters were recorded: body weight (BW), daily weight gain (DWG), feed intake (FI) and feed conversion rate (FCR). Also, duodenal morphology was evaluated as a measure of intestinal integrity, measuring the following parameters: (days 22 and 42): mucosal height (MH) and villus height (VH), villus width (VW), crypt depth (CD) and villus height to crypt depth ratio (LV:CD). We observed an increased BW in P1 on days 22 and 32, the DWG increased the day 22 in P1. FI decreased in P1 and P2 in day 42. The FCR was higher on days 22 and 42 in P1 and P2. Regarding histomorphology, on day 22 group P2 had villus wider and lower crypt depth. On day 42 MH was higher in P2, and the longest villus were observed in P1 and P2 groups. At the end of the study the probiotic improved the ECA and some morphometric parameters such as VH and HM. These results could improve in optimum conditions of temperature and maintenance of probiotic, requiring further study for evaluation.

**Key words:** Broiler, probiotic, productive performance, duodenal histomorphology.

## INTRODUCCIÓN

Los probióticos son definidos como microorganismos vivos que tras ser ingeridos en cantidades suficientes generan efectos beneficiosos sobre la salud de quien los ingiere, más allá de los efectos nutricionales convencionales (Anadón *et al.*, 2006). Mejoran el balance de la microbiota intestinal, aumentan la resistencia contra la colonización de agentes patógenos y mejoran la respuesta inmune (Sugiharto, 2014). Estos efectos beneficiosos dependen de numerosos factores, como los inherentes al probiótico: tipos de microorganismos usados, dosis, modo de administración, tiempo y condiciones de almacenaje (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, sustratos alimenticios, temperatura), forma de vehiculización: alimento o agua de bebida (Huyghebaert *at al.*, 2011). Los procesos tecnológicos de elaboración también influyen en los efectos del probiótico (Sen *et al.*, 2012; Del Piano *et al.*, 2006), tales como deshidratación, congelación, liofilización, secado por atomización, microencapsulación, entre otros (Páez, 2013; Kabir, 2009). Además, influyen factores propios de los animales a los cuales se les entregan los probióticos como la especie animal, edad, estado fisiológico-productivo y sanitario, y las condiciones ambientales de alojamiento de los animales, entre los principales (Gaggia *et al.*, 2010). Los microorganismos deben cumplir requisitos para ser aceptados como probióticos, entre ellos ser originario del hospedero y ejercer un efecto benéfico, persistir en el tracto gastrointestinal, ser resistentes a las condiciones gástricas y ácidos biliares, adherirse al epitelio o mucosa intestinal, no ser patógenos, ni tóxicos, resistir ciertos procesamientos y métodos de almacenaje, producir sustancias antimicrobianas, modular la respuesta del sistema inmune, y ejercer antagonismo hacia bacterias patógenas (Gaggia *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2011).

La obtención de microorganismos probióticos involucra diferentes procedimientos y evaluaciones: toma de muestra desde el intestino de humanos o animales, aislación, identificación y tipificación de la cepa, clasificación taxonómica e identificación de secuencias de genes, evaluación de la capacidad de crecimiento, evaluación de la resistencia a secreciones gástricas, biliares y pancreática, evaluación de seguridad con

verificación de ausencia de genes de resistencia a antibióticos o plásmidos de virulencia, evaluación de la estabilidad, vida útil, viabilidad de almacenaje, estabilidad en procesos de manufactura, estudios *in-vitro*, investigaciones clínicas en animales y humanos (Del Piano *et al.*, 2006). Los probióticos se elaboran a partir de una única especie microbiana o realizando una mezcla de especies y/o cepas. Los microorganismos bacterianos mayormente investigados y utilizados en producción animal pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Pediococcus* (Anadón *et al.*, 2006). Para el caso de levaduras y hongos son *Saccharomyces* (Gaggia *et al.*, 2010), *Aspergillus* y *Candida* (Kabir, 2009; Mountzouris *et al.*, 2007).

Los probióticos surgen como una alternativa al uso de antibióticos como promotores del crecimiento en aves de corral y otras especies animales, debido a su implicancia en la emergencia de microbios resistentes a antibióticos (Kabir, 2009; Huyghebaert *et al.*, 2011). Esto llevó a la prohibición de su uso en la industria avícola en algunos países: Unión Europea (Huyghebaert *et al.*, 2011), Chile (Chile, 2006), y otros. Es en este escenario que los probióticos aparecen como una alternativa viable, con similares efectos promotores del crecimiento en pollos broiler, además de ejercer efectos beneficiosos sobre la salud y sanidad animal, en particular sobre la salud intestinal (Franz *et al.*, 2011).

La industria avícola ha evaluado diversos productos que permitan mejorar el rendimiento productivo, entre ellos los probióticos (Agostini *et al.*, 2012). La inclusión de probióticos en la dieta de diferentes especies animales ha mostrado efectos positivos sobre parámetros productivos y de salud animal (Mountzouris *et al.*, 2007), entre los cuales se mencionan una mejora del balance de la microflora intestinal (Kabir *et al.*, 2005; Kabir, 2009; Mountzouris *et al.*, 2007), mayor resistencia a agentes patógenos, como *Clostridium*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli* (Kabir, 2009; Sen *et al.*, 2012; Fonseca *et al.*, 2010; Mountzouris *et al.*, 2007), fortalecimiento de la barrera intestinal (Franz *et al.*, 2011), mayor eficiencia de los procesos de digestión y absorción intestinal (Kabir, 2009; Sen *et al.*, 2012), estimulación del sistema inmune (Kabir, 2009), reducción de los niveles de triglicéridos y colesterol (Alkhalif *et al.*, 2010), disminución de la

excreción de urea y amonio (Samanya y Yamauchi, 2002; Kabir, 2009), incremento del rendimiento productivo (Sen *et al.*, 2012; Awad *et al.*, 2009; Samanya y Yamauchi, 2002; Alkhalif *et al.*, 2010), reducción de la mortalidad, mejoramiento de la eficiencia de conversión de alimento (Awad *et al.*, 2009) y también cambios histológicos intestinales (López *et al.*, 2008; Awad *et al.*, 2009; Sen *et al.*, 2012; Kabir, 2009; Samanya y Yamauchi, 2002; Fonseca *et al.*, 2010). Se han realizado diversos trabajos de investigación en pollos broiler respecto del efecto de probióticos, principalmente sobre parámetros productivos y en menor medida sobre salud intestinal. En relación a los parámetros productivos, numerosas investigaciones muestran sus efectos positivos sobre la ganancia diaria de peso, mejora de la eficiencia de conversión alimentaria y el rendimiento de la canal, disminución de la tasa de mortalidad, entre otros (Alkhalif *et al.*, 2010; Awad *et al.*, 2009; Kabir *et al.*, 2004; Mountzouris *et al.*, 2007; Samanya y Yamauchi, 2002). Sin embargo, otros trabajos se contraponen a esta información y no han demostrado efectos sobre los parámetros productivos y sanitarios antes mencionados, al incluir probióticos en la dieta (Fonseca *et al.*, 2010; Karaoglu y Durdag, 2005).

La salud intestinal está íntimamente relacionada con su integridad, la cual puede ser entendida como el óptimo funcionamiento y mantención del epitelio que recubre la superficie intestinal, lo que permite alcanzar el máximo desempeño y eficiencia productiva. Esta integridad es señal de salud intestinal, ya que diferentes microorganismos pueden dañar el epitelio ocasionando alteraciones de su función. El rendimiento productivo y la eficiencia alimentaria, aspectos esenciales en producción aviar, están estrechamente relacionados con la estructura morfológica intestinal, en especial con la mucosa intestinal, entre otros (Huyghebaert *et al.*, 2011; Sugiharto, 2014). Se sabe que vellosidades más altas y anchas aumentan la función digestiva y la superficie de absorción del intestino (Markovic *et al.*, 2009; Awad *et al.*, 2009), y que la disminución de la profundidad de la cripta se correlaciona con un incremento en la tasa de crecimiento de los animales, dado que la continua renovación de tejido tiene un alto consumo energético y proteico (Markovic *et al.*, 2009).

Los procesos de absorción de nutrientes dependen completamente de los mecanismos que ocurren en la mucosa intestinal (Pelicano *et al.*, 2005). Alteraciones del metabolismo y/o procesos inflamatorios crónicos de la mucosa intestinal, tienen como consecuencia una disminución en el alto y ancho de las vellosidades intestinales, aumento en la profundidad de las criptas, lo que está directamente relacionado con un incremento de la renovación celular y disminución de la absorción de nutrientes (Pelicano *et al.*, 2005), que repercute en la sanidad y productividad de los animales (Sugiharto, 2014).

A pesar de que el efecto de los probióticos sobre las características histológicas de la mucosa intestinal no es claro aún (Samanya y Yamauchi, 2002), los probióticos se han usado en la dieta de aves para mejorar rendimiento y consecuentemente la eficiencia energética del intestino, ya que sus mecanismos de acción serían capaces de evitar alteraciones en la mucosa y en la microflora intestinal, disminuyendo los efectos negativos sobre las microestructuras intestinales (López *et al.*, 2008; Pelicano *et al.*, 2005). En relación a salud intestinal, se ha reportado que la inclusión de probióticos genera vellosidades intestinales más altas, anchas y densas, y criptas intestinales menos profundas, junto con un incremento de la proporción alto de vellosidad y profundidad de cripta, además de modificar las poblaciones bacterianas, incrementando la población de las bacterias beneficiosas, principalmente lactobacilos (Awad *et al.*, 2009; Fonseca *et al.*, 2010; Mountzouris *et al.*, 2007; Sen *et al.*, 2012; Samanya y Yamauchi, 2002), pero al igual que con los parámetros productivos, hay resultados contradictorios. Pelicano *et al.* (2005) evaluó la efectividad de diferentes preparados probióticos entregados en el alimento, asociado o no al uso de prebióticos, en pollos broiler, obteniendo vellosidades intestinales más altas cuando *Bacillus subtilis* se asoció con prebióticos y la densidad intestinal no se vio influenciada por el uso de algún promotor del crecimiento. Rodríguez *et al.* (2010) evaluaron la inclusión de un probiótico en el alimento y su efecto sobre la morfometría de vellosidades intestinales en duodeno, sin presentarse efectos significativos en los parámetros de altura y ancho de las vellosidades intestinales, mientras que la densidad de las vellosidades fue significativamente menor en el grupo que recibió probióticos.

En general, la entrega de probióticos se realiza a través del alimento (Alkhalif *et al.*, 2010; Awad *et al.*, 2009; Fonseca *et al.*, 2010; Karaoglu y Durdag, 2005; Pelicano *et al.*, 2005, 2007; Samanya y Yamauchi, 2002), por lo que es muy importante asegurar una correcta homogenización de la dieta y que los procesos tecnológicos de procesamiento del alimento no afecten la viabilidad de los microorganismos. Se sabe que existen diferentes factores que afectan la viabilidad de los probióticos durante su incorporación al alimento, entre ellos la temperatura (Del Piano *et al.*, 2006; Páez, 2013; Pérez *et al.*, 2013; Amerah, 2013). Por otra parte, son escasos los estudios donde la entrega de probióticos se realiza a través del agua de bebida. Entre éstos, Hosseini *et al.* (2013) no reportaron efectos del uso de probióticos sobre el consumo de alimento, pero sí obtuvo una mejora de la ganancia de peso corporal y de la eficiencia de conversión alimentaria. Kabir *et al.* (2004) reportaron que las aves que recibieron probióticos obtuvieron mejores resultados para todos los parámetros estudiados: ganancia de peso vivo, rendimiento de pierna y pechuga, y producción de anticuerpos. Timmerman *et al.* (2006) describieron una leve mejoría de los parámetros productivos cuando las aves recibieron probióticos en el agua. Swain *et al.* (2011) también describió una significativa mejora en varios parámetros productivos en pollos que recibieron fórmulas de lactobacilos en el agua. Un estudio comparativo fue el que realizaron Karimi *et al.* (2010), quienes evaluaron la efectividad del probiótico comercial Protexin, agregado en el agua de bebida y en el alimento, sobre el rendimiento y la respuesta inmune de pollos broiler. En relación a los resultados de rendimiento productivo, estos indicaron que la administración en el agua de bebida mejoró la ganancia de peso vivo, consumo de alimento y eficiencia de conversión de alimento.

Las investigaciones consultadas que han evaluado la inclusión de probióticos en el agua de bebida consideraron el estudio de múltiples variables, entre ellas las productivas, pero no el efecto de los probióticos sobre la morfología de la mucosa intestinal de los animales. Por tanto, la presente memoria de título tuvo como objetivo evaluar una nueva formulación de probióticos incluidos en el agua de bebida y determinar sus efectos sobre parámetros productivos y morfometría intestinal en pollos broiler.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Probiótico

El probiótico utilizado en este estudio fue suministrado por la empresa Oikos Chile Ltda., correspondiente al producto ProBio Balance™ Original, de presentación líquida. Se almacenó en un recipiente plástico con capacidad para 20 L, cerrado con una tapa plástica, siguiendo las directrices de la empresa, durante toda la duración del estudio, en las condiciones del galpón de alojamiento de los animales. En el producto comercial, las cepas se encontraban en una concentración de  $6 \times 10^6$  UFC/mL, y su composición se detalla en la Tabla Nro. 1.

**Tabla Nro. 1.** Composición bacteriana del probiótico utilizado (ProBio Balance™).

---

<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis (Streptococcus lactis)</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	

---

OIKOS Chile Ltda. 2013.

### Manejo de los animales

Se utilizaron 240 pollos broiler de la línea genética Ross 308, machos, de un día de edad. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de FAVET (4-2013). El estudio se realizó en la “Unidad Experimental de Producción y Nutrición Avícola” de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (FAVET), en los meses de diciembre a enero (estación de verano en Chile), que cuenta con un pabellón experimental de

construcción convencional con piso de cemento, ventilación natural y control de temperatura ambiental mediante campanas de gas. Las horas luz, se mantuvieron dentro de los rangos establecidos para pollos broiler Ross 308 (Aviagen Group, 2010). El piso de los corrales fue cubierto con cama de viruta de madera (20 cm de altura). Cada corral dispuso de un comedero tipo colgante con capacidad para 10 kg de alimento y un bebedero tipo campana conectado al agua potable. La dieta entregada fue concentrado para pollo broiler etapa de inicio (1-22 días) y final (23-42 días) adquirido en Alimentos Cisternas S.A. Se ofreció alimento y agua potable *ad libitum* durante todo el período de crianza de 42 días. Se tomaron muestras en duplicado del alimento y se les realizó un análisis químico proximal en el Laboratorio de Nutrición de FAVET. El alimento cumplió con los requerimientos nutricionales de pollos broiler Ross 308 establecidos por Aviagen Group (2010).

### **Diseño experimental**

Las aves fueron distribuidas en un diseño experimental completamente al azar en un arreglo factorial de 1x3 con 1 producto probiótico a evaluar y 3 niveles de inclusión, con un total de 3 tratamientos con 4 réplicas de 20 aves cada una. Los siguientes tratamientos fueron aplicados: Control (sin probiótico), P1 (probiótico en agua en cantidades de 1,75 mL/ave, 35 mL por corral de 20 aves), y P2 (probiótico en agua en cantidades de 3,5 mL/ave, 70 mL por corral de 20 aves). Estas dosis fueron las recomendadas por el fabricante. Los probióticos se administraron de forma manual utilizando una jeringa e incorporados homogéneamente al agua de los bebederos, diariamente a la misma hora (15:00 horas) durante toda la duración del estudio (42 días).

### **Parámetros de rendimiento productivo**

Todos los pollos fueron pesados los días de estudio: 1, 22, 32 y 42 (utilizando una balanza digital). Una hora antes del pesaje el alimento fue retirado a todas las aves. El consumo de alimento (CA) se controló los días 22 y 42, para lo cual se pesó el alimento de forma acumulativa cada vez que este se entregó a los animales, y en los días indicados se pesaron los restos de alimento que las aves no consumieron desde los comederos, obteniendo el CA por diferencia. Se calcularon los siguientes indicadores productivos: ganancia diaria de

peso vivo (GDP) (Ecuación 1) y eficiencia de conversión alimenticia (ECA) (Ecuación 2) (Tabla Nro. 2).

Los animales que fueron encontrados muertos se descontaron al momento de realizar los cálculos de CA y ECA.

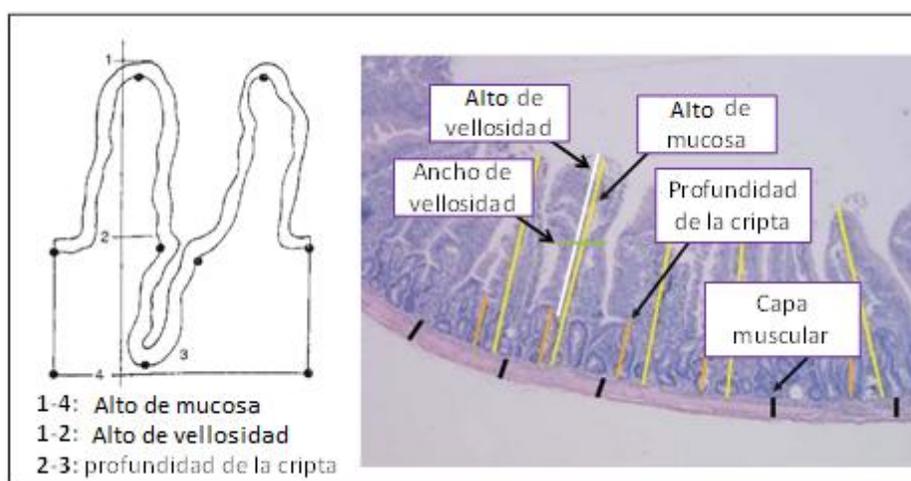
**Tabla Nro. 2.** Fórmulas para el cálculo de los indicadores productivos.

<b>Ecuación 1</b>	$GDP = \frac{Pf - Pi}{N}$ <p>Dónde: Pf es peso final, Pi es peso inicial y N corresponde al número de días considerados.</p>
<b>Ecuación 2</b>	$ECA = \frac{CAT_{período} / animal}{Pf}$ <p>Dónde: CAT es consumo total de alimento en el período (kg), Pf peso final total en el período (kg).</p>

### **Análisis morfométrico de intestino**

La obtención de las muestras de intestino delgado se realizó en la Sala de Necropsia del Departamento de Patología Animal de FAVET, en los días 22 y 42 de estudio. Se sacrificaron 8 aves de cada tratamiento por dislocación cervical y se les retiró el tracto gastrointestinal, para tomar muestras en triplicado de 1 cm x 1 cm de duodeno, las cuales se fijaron en formalina al 10% por 48 hrs (Wang *et al.*, 2008). Cortes transversales de las muestras fueron embebidos en paraplast, para luego obtener cortes de 4 µm de espesor, los que se montaron sobre porta objetos y fueron teñidos con hematoxilina y eosina, con el objetivo de realizar un estudio histológico (Cediell *et al.*, 2009). En las muestras se realizaron las siguientes mediciones (µm) (Figura Nro. 1): (1) alto de mucosa, (2) alto de

las vellosidades intestinales, (3) ancho de las vellosidades intestinales, (4) profundidad de las criptas intestinales y (5) proporción alto de vellosidad y profundidad de cripta. Se midieron las vellosidades que en los cortes de sección mostraron disposición vertical, desde el ápice hasta la base de la vellosidad, en el encuentro con la cripta intestinal. Aquellas vellosidades que presentaron cortes o mal posicionamiento fueron excluidas. Las mediciones se obtuvieron por microscopía óptica (NIKON Eclipse E400), y con el apoyo de un programa computacional de medición (Imaging Software NIS Elements 3.00). Se realizaron 50 mediciones para cada parámetro, por grupo de tratamiento.



**Figura Nro. 1.** Esquema explicativo de las mediciones de morfometría intestinal.

### **Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados a través de un ANOVA mediante el procedimiento GLM y prueba de Tukey del paquete estadístico SAS®. El modelo matemático utilizado fue el siguiente:  $Y_i = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_i$ , siendo  $Y_i$ : variable productiva del animal o variable histomorfométrica;  $\mu$ : la media general de todas las observaciones;  $\alpha$ : el efecto del tratamiento (C, P1 y P2);  $\beta$ : el efecto del tiempo de muestreo (22 y 42 días);  $\alpha\beta$ : la interacción entre estos factores y  $\epsilon$ : el error aleatorio. Las medias se presentaron a través de promedios y comparando por Tukey. Se consideró un nivel de significación del 5%.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La mezcla probiótica fue añadida al agua de bebida diariamente según las instrucciones del proveedor del producto, y como se indicó en la sección de métodos. Sin embargo, la forma de conservación del producto no fue el adecuado, debido a factores ambientales como las altas temperaturas alcanzadas en el galpón de alojamiento de los animales, en donde se encontraba el probiótico, y otros factores inherentes a este tipo de producto, lo que se discutirá a continuación, y explicaría en parte algunos de los resultados obtenidos en la presente investigación.

### **Rendimiento productivo**

La Tabla Nro.3 presenta los resultados de los parámetros productivos, así como también los valores de significancia de interacción entre el efecto del probiótico y tiempo de administración de éste. La administración de probióticos en el agua no tuvo efecto sobre el peso vivo antes del día 22, posiblemente debido al proceso de desarrollo del sistema digestivo de las aves. En estas, los mecanismos de absorción están desarrollados desde el nacimiento pero no se encuentran maduros y la capacidad digestiva no es completamente funcional (Mateos *et al.*, 2002), la que se alcanza a las dos semanas de edad (Gómez, 2010). A partir del día 22 se presentó un aumento significativo del peso vivo en P1, en comparación al grupo control, el cual no difirió del grupo P2. Al día 32, las aves que recibieron probióticos en el agua mostraron pesos superiores respecto del grupo control, independiente de la dosis de probiótico utilizada. Al día 42 no se observaron diferencias de peso vivo entre los tratamientos.

**Tabla Nro. 3.** Efecto del tratamiento con probióticos en el agua sobre parámetros de rendimiento productivo de pollos Broiler (promedio  $\pm$  DS) y valor-p de interacción probiótico y tiempo de administración.

Día/Periodo de medición	Grupos de tratamiento			Valor-p interacción
	Control	P1	P2	
	Peso vivo (g)			
<b>1</b>	41 $\pm$ 3 <sup>a1</sup>	42 $\pm$ 3 <sup>a1</sup>	42 $\pm$ 4 <sup>a1</sup>	-
<b>10</b>	158 $\pm$ 16 <sup>a2</sup>	170 $\pm$ 15 <sup>a2</sup>	170 $\pm$ 16 <sup>a2</sup>	-
<b>22</b>	448 $\pm$ 71 <sup>a3</sup>	486 $\pm$ 62 <sup>b3</sup>	471 $\pm$ 73 <sup>ab3</sup>	0,032
<b>32</b>	864 $\pm$ 110 <sup>a4</sup>	953 $\pm$ 104 <sup>b4</sup>	956 $\pm$ 112 <sup>b4</sup>	0,022
<b>42</b>	1.473 $\pm$ 176 <sup>a5</sup>	1.477 $\pm$ 202 <sup>a5</sup>	1.468 $\pm$ 177 <sup>a4</sup>	-
<b>Ganancia diaria de peso vivo (g)</b>				
<b>22</b>	18 $\pm$ 3 <sup>a1</sup>	20 $\pm$ 2 <sup>b1</sup>	19 $\pm$ 3 <sup>ab1</sup>	0,041
<b>42</b>	34 $\pm$ 4 <sup>a2</sup>	34 $\pm$ 4 <sup>a2</sup>	33 $\pm$ 4 <sup>a2</sup>	-
<b>Consumo de alimento (kg/réplica)</b>				
<b>1-22</b>	13 $\pm$ 0,8 <sup>a1</sup>	12 $\pm$ 0,2 <sup>a1</sup>	12 $\pm$ 0,1 <sup>a1</sup>	-
<b>1-42</b>	55 $\pm$ 0,8 <sup>a2</sup>	47 $\pm$ 0,2 <sup>b2</sup>	47 $\pm$ 0,1 <sup>b2</sup>	0,017
<b>Eficiencia de conversión alimentaria (kg alimento/kg peso vivo)</b>				
<b>1-22</b>	1,50 $\pm$ 0,09 <sup>a1</sup>	1,34 $\pm$ 0,02 <sup>b1</sup>	1,36 $\pm$ 0,01 <sup>b1</sup>	0,044
<b>1-42</b>	2,11 $\pm$ 0,03 <sup>a2</sup>	1,85 $\pm$ 0,01 <sup>b2</sup>	1,83 $\pm$ 0,04 <sup>b2</sup>	0,042

P1: 1,75 mL/ave de probiótico en agua; P2: 3,5 mL/ave de probiótico en agua; Valor-p interacción: significancia de interacción entre factores probiótico y tiempo de administración. Dentro de la misma fila los promedios con distintas letras en superíndices (<sup>a,b</sup>) indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En cada columna y para cada variable números distintos (<sup>1,2,3,4,5</sup>) indican diferencias estadísticamente significativas según el tiempo (p<0,05). (-) no significativo.

Estudios previos, como el de Alkhalif *et al.* (2010) evidenciaron mejoras del peso vivo de pollos broiler por efecto de la adición de probióticos en el alimento. Karaoglu y Durdag

(2005) también obtuvieron aumento del peso vivo de pollos tras administrar probióticos en el alimento, aunque el efecto desapareció a partir del día 35. Los resultados de Medina *et al.* (2014) en cambio no dan cuenta de un incremento del peso vivo al utilizar probióticos durante los 42 días que duró el ensayo. En este estudio, el efecto del probiótico sobre el peso vivo desaparece el día 42, lo que podría ser atribuido a una disminución de la efectividad del probiótico por menor viabilidad de los microorganismos presentes en el producto. Se sabe que las condiciones de almacenamiento y medio ambientales afectan la sobrevivencia de las bacterias probióticas, lo que disminuye su número viable, y altera la dosis que permite ejercer los efectos beneficiosos del probiótico (Del Piano *et al.*, 2006). El fabricante del probiótico utilizado en este estudio garantizó una concentración de microorganismos viables de  $6 \times 10^6$  UFC/mL al comienzo del estudio. Sin embargo, en la Memoria de Título de Vargas (2014), donde se utilizó este mismo producto bajo las mismas condiciones, se reportó que el recuento de aerobios mesófilos (RAM) en la solución que contenía el probiótico disminuyó constantemente, a medida que avanzó el tiempo del estudio, siendo el recuento al día 22 de  $4,8 \pm 0,02 \log_{10}$  UFC/mL y al día 42 de  $3,8 \pm 0,03 \log_{10}$  UFC/mL. Vargas (2014) atribuyó el menor RAM del día 42 a la falta de sustrato alimenticio para el desarrollo de las bacterias, lo cual llevó al agotamiento de sus poblaciones, así como también, a la fluctuación de gases O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> dentro del envase que contenía el probiótico, dada la naturaleza anaerobia de algunos géneros bacterianos incluidos en esta mezcla probiótica, y a las condiciones de elevada temperatura del galpón en donde los pollos estuvieron alojados, que pudieron influir en la viabilidad de 2 de las especies probióticas susceptibles a altas temperaturas y que fueron utilizadas en la elaboración de este producto (*Rhodopseudomonas palustris* y *Saccharomyces cerevisiae*).

Respecto de la ganancia diaria de peso vivo, esta presentó una dinámica consistente y similar a la del peso vivo. El día 22 el grupo P1 alcanzó la mayor ganancia diaria de peso vivo respecto del grupo control. El grupo P2, tuvo un incremento tal que no resultó ser distinto del grupo control y P1. En el día 42, no se apreciaron diferencias significativas entre la ganancia diaria de peso de los distintos grupos de tratamiento, efecto que tampoco se presentó sobre el peso vivo al día 42 (Tabla Nro. 3), lo que podría atribuirse a un bajo recuento y viabilidad de las bacterias probióticas como se mencionó anteriormente. Los

resultados de ganancia diaria de peso vivo concuerdan con los obtenidos por Hosseini *et al.* (2013), así como también con los de Sen *et al.* (2012) y Alkhalf *et al.* (2010), aunque para estos dos últimos autores la ganancia diaria de peso vivo se mantuvo hasta finalizado el periodo de estudio, lo que no ocurrió en este caso. Por otra parte, también hay trabajos donde no se obtuvo un incremento de la ganancia diaria de peso vivo al incluir probióticos (Karaoglu y Durdag, 2005; Medina *et al.*, 2014).

Los efectos dosis-respuesta obtenidos el día 22, tanto en el peso vivo como en la ganancia diaria de peso vivo, donde la menor dosis de probiótico (P1) consiguió el mejor desempeño, se condice con experiencias previas, donde bajas concentraciones de probióticos resultan más eficaces en comparación con concentraciones superiores. Alkhalf *et al.* (2010) obtuvieron mayores pesos vivos y ganancia diaria de peso vivo con dosis bajas de probióticos, tal como ocurrió en este estudio al día 22. Por el contrario, Swain *et al.* (2011) obtuvieron incrementos en la ganancia diaria de peso vivo e ingesta de alimento conforme la dosis de probióticos administrada iba en aumento, y la tasa de conversión de alimento, la tasa de eficiencia proteica y el índice de rendimiento solo mejoraron con la dosis superior. Sen *et al.* (2012) también obtuvieron mejoras de la ingesta de alimento, la ganancia diaria de peso vivo y la tasa de conversión de alimento conforme incrementó la dosis de probiótico en la dieta. Por tanto, pareciera ser que la dosis adecuada, que según Sen *et al.* (2012) es la ingesta diaria de entre  $10^6$ - $10^9$  microorganismos, debería ser en función del efecto esperado y del estado de desarrollo del animal. La edad de las aves sería un factor a considerar, ya que el intestino es más susceptible a variaciones de la microflora en etapas iniciales, y una vez establecida la población microbiana adulta se torna bastante estable, además el crecimiento del intestino podría demandar una dosis distinta conforme su tamaño aumente.

El consumo de alimento registrado entre los días 1-22 no presentó diferencias entre los grupos de tratamiento (Tabla Nro. 3), sin embargo para el periodo total, comprendido entre los días 1-42 de estudio, hubo una disminución del consumo de alimento en los grupos que recibieron probióticos en el agua. Medina *et al.* (2014) y Hosseini *et al.* (2013) no tuvieron

variaciones del consumo de alimento al incluir probióticos durante los días 1-21 de vida, al igual como ocurrió en esta experiencia. Sin embargo, Medina *et al.* (2014) registraron un incremento del consumo de alimento para el periodo total, de 42 días, por efecto del probiótico, situación contraria a la obtenida en este estudio. En general, los resultados de experiencias previas muestran un aumento del consumo de alimento, ya sea en algún periodo o en el periodo total de evaluación (Sen *et al.*, 2012; Alkhalif *et al.*, 2010), mientras que otros no registran efecto de la inclusión de probióticos sobre el consumo de alimento (Karaoglu y Durdag, 2005).

En las aves, el consumo de alimento es regulado por diversos factores, entre ellos el factor ambiental más importante es la temperatura, siendo la óptima para el desempeño general de los pollos entre los 20-25°C, rango que corresponde al de neutralidad térmica (Quishpe, 2006; Corona, 2012). Cuando la temperatura sobrepasa la neutralidad térmica el consumo de alimento disminuye (Quishpe, 2006). El bajo consumo de alimento que tuvieron las aves, respecto de la ingesta esperada para la línea genética (5.050 g/42 días) (Aviagen Group, 2014), puede ser explicado por las condiciones de alta temperatura ambiental que se presentó dentro del galpón de crianza durante el desarrollo del presente estudio, que oscilaron entre los 22 a 37°C. El bajo consumo de alimento se correlaciona con los bajos pesos que tuvieron las aves, que para la línea genética se estiman en 1.040 g al día 22 y 3.023 g al día 42 (Aviagen Group, 2014). Aunque estudios previos dan cuenta de un aumento en el consumo de alimento al recibir probióticos, Hosseini *et al.* (2013) menciona que el consumo de probióticos puede provocar una disminución en el consumo de alimento, ya que mejoran la retención de nutrientes, debido a que las bacterias secretan enzimas que hidrolizan nutrientes energéticos, lo que llevaría a reducir el consumo de alimento. Esta hipótesis es concordante con lo ocurrido en este estudio.

La eficiencia de conversión de alimento mejoró en los grupos que recibieron probióticos, en ambos periodos evaluados. La mejora del periodo de 1-22 días, puede asociarse a mayores pesos en P1 y P2, respecto del grupo control, dado que el consumo de alimento durante este periodo no tuvo diferencias significativas entre los grupos experimentales. Para el periodo

total (días 1-42), la mejora de la ECA en las aves que recibieron probiótico se condice con el menor consumo de alimento registrado durante el mismo periodo, ya que los pesos de finalización de las aves fueron similares entre los grupos experimentales. En este estudio, la eficiencia de conversión de alimento mejoró en las aves que consumieron probióticos, independiente de la dosis administrada. Esto puede atribuirse al incremento de la eficiencia de los procesos de digestión y absorción de nutrientes dada por la presencia de bacterias probióticas (Alkhalf *et al.*, 2010).

El efecto del consumo de probiótico y el tiempo de administración tuvieron una interacción significativa en todos los momentos en los cuales los probióticos mostraron algún efecto sobre los parámetros evaluados. Por lo tanto, el efecto del probiótico depende del tiempo por el cual éste sea administrado, lo que además podría relacionarse con la edad en que los pollos lo consumen, tal como ha sido reportado por varios autores (Alkhalf *et al.*, 2010; Karaoglu y Durdag, 2005; Hosseini *et al.*, 2013; Medina *et al.*, 2014).

### **Morfometría intestinal**

La Tabla Nro.4 presenta los resultados de los parámetros histomorfológicos evaluados los días 22 y 42 de estudio, así como también los valores de significancia de la interacción entre el efecto del probiótico y tiempo de administración de éste.

Los resultados del día 22 muestran que los parámetros de alto de mucosa y alto de vellosidad intestinal no presentaron diferencias entre grupos. El ancho de vellosidad intestinal, en cambio, fue superior en P2, observándose un efecto dosis dependiente, a diferencia de lo que ocurrió con el grupo control y P1, los cuales resultaron ser similares. Respecto de la profundidad de cripta, esta fue menor para P2, sin diferenciarse del grupo control, mientras que P1 obtuvo el mayor promedio de profundidad de cripta. La relación alto de vellosidad y profundidad de cripta fue inferior para el grupo P1, mientras que los grupos control y P2 presentaron relaciones superiores y similares entre sí. En las mediciones realizadas el día 42, la altura de mucosa fue superior en P2, respecto de los

**Tabla Nro. 4.** Efecto del tratamiento con probióticos en el agua sobre parámetros histomorfológicos de duodeno en pollos Broiler (promedio  $\pm$  DS) y valores-p de interacción probiótico y tiempo de administración.

Parámetros	Grupos de tratamiento			Valor-p interacción
	Control	P1	P2	
<b>Intestinales</b>	<b>Día 22 de estudio</b>			
AM ( $\mu\text{m}$ )	1.558 $\pm$ 229 <sup>a1</sup>	1.436 $\pm$ 190 <sup>a1</sup>	1.529 $\pm$ 268 <sup>a1</sup>	-
AIV ( $\mu\text{m}$ )	1.333 $\pm$ 224 <sup>a1</sup>	1.195 $\pm$ 166 <sup>a1</sup>	1.242 $\pm$ 203 <sup>a1</sup>	-
AnV ( $\mu\text{m}$ )	141,9 $\pm$ 33 <sup>a1</sup>	150 $\pm$ 36 <sup>a1</sup>	175 $\pm$ 46 <sup>b1</sup>	0,023
PC ( $\mu\text{m}$ )	209 $\pm$ 50 <sup>a1</sup>	240 $\pm$ 69 <sup>b1</sup>	185 $\pm$ 49 <sup>a1</sup>	0,002
AIV:PC ( $\mu\text{m}$ )	6,8 $\pm$ 2,2 <sup>a1</sup>	5,2 $\pm$ 1,7 <sup>b1</sup>	7,3 $\pm$ 2,2 <sup>a1</sup>	0,031
	<b>Día 42 de estudio</b>			
AM ( $\mu\text{m}$ )	1.947 $\pm$ 399 <sup>a2</sup>	1.946 $\pm$ 342 <sup>a2</sup>	2.097 $\pm$ 268 <sup>b2</sup>	0,021
AIV ( $\mu\text{m}$ )	1.408 $\pm$ 317 <sup>a2</sup>	1.568 $\pm$ 326 <sup>b2</sup>	1.652 $\pm$ 314 <sup>b2</sup>	0,011
AnV ( $\mu\text{m}$ )	210 $\pm$ 47 <sup>a2</sup>	223 $\pm$ 51 <sup>a2</sup>	231 $\pm$ 58 <sup>a2</sup>	-
PC ( $\mu\text{m}$ )	399 $\pm$ 83 <sup>a2</sup>	364 $\pm$ 81 <sup>a2</sup>	391 $\pm$ 81 <sup>a2</sup>	-
AIV:PC ( $\mu\text{m}$ )	3,7 $\pm$ 1,2 <sup>a2</sup>	4,8 $\pm$ 2,4 <sup>a2</sup>	4,5 $\pm$ 1,6 <sup>a2</sup>	-

AM: alto de mucosa, AIV: Alto de vellosidad intestinal, AnV: ancho de vellosidad intestinal, PC: profundidad de cripta, AIV:PC: relación alto de vellosidad y profundidad de cripta; Valor-p interacción: significancia de interacción entre factores probiótico y tiempo de administración. Dentro de la misma fila los promedios con distintas letras en superíndices indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En cada columna y para cada variable números distintos indican diferencias estadísticamente significativas según el tiempo ( $p < 0,05$ ). (-) no significativo.

grupos control y P1, observándose un efecto de la dosis utilizada en este parámetro. El alto de vellosidad de los grupos P1 y P2, fueron similares y significativamente superiores respecto del grupo control. No se observaron diferencias en el ancho de vellosidad intestinal, profundidad de cripta ni relación largo de vellosidad y profundidad de cripta.

Además, se obtuvo una interacción significativa entre los factores probiótico y tiempo de administración en todos los momentos en que el probiótico tuvo un efecto significativo.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron contrastados con experiencias previas que entregaron probióticos en el alimento, ya que en base a los recursos bibliográficos consultados no se cuenta con estudios que hayan entregado probióticos en el agua de bebida y evaluado posteriormente parámetros histomorfológicos. Los resultados de la inclusión de probióticos hasta los 22 días de vida no son concordantes con los obtenidos por Fonseca *et al.* (2010), quienes luego de entregar probióticos desde el día 7 al 28 de vida, obtuvieron vellosidades más largas. Tampoco concuerdan con los resultados de López *et al.* (2008), quienes obtuvieron un incremento en la relación alto de vellosidad y profundidad de cripta luego de entregar probióticos hasta el día 22 de vida. En los resultados del día 42 es posible observar que el efecto de los probióticos fue sobre alto de mucosa y alto de vellosidad. Resultados similares son los de Song *et al.* (2014), quienes obtuvieron un aumento del alto de vellosidad y ningún efecto sobre la profundidad de cripta, así como tampoco sobre la relación alto de vellosidad y profundidad de cripta. Rodríguez *et al.* (2010) tampoco encontraron efectos sobre el ancho de vellosidad ni el alto de vellosidad luego de entregar probióticos a partir del día 21 de crecimiento.

Los cambios de la mucosa intestinal que se presentaron en este estudio no son concordantes con los resultados de Mohan *et al.* (1996), quienes reportaron que el efecto benéfico de los probióticos en pollos ocurre solamente después de la cuarta semana de crecimiento. Esto podría estar relacionado al establecimiento inicial de la flora intestinal en aves, al ser expuestas a factores ambientales, de alimentación y de manejo. La colonización temprana del intestino por bacterias benéficas juega un rol importante en el desarrollo de la estructura y morfología intestinal, ya que las bacterias comensales, así como las probióticas, contribuyen con elementos nutricionales que son aprovechados por las células epiteliales, como ácidos grasos de cadena corta que favorecen la renovación y la función de barrera del epitelio, en particular el ácido butírico, el cual tiene un efecto trófico en los enterocitos al ser una fuente directa de energía y modular la proliferación de las células intestinales

(Sugiharto, 2014). Se sabe que durante la primera semana de vida el intestino se somete a una maduración rápida, de tal manera que el alargamiento de las vellosidades alcanza el 50% de su tamaño adulto (Aviagen Group, 2013). Según Rodríguez *et al.* (2010), la edad de las aves es un factor determinante, presentándose mayor amplitud, número y área de vellosidades a mayor edad. Esta dinámica de desarrollo podría coincidir con los resultados del presente estudio; en principio el ancho de las vellosidades y la profundidad de la cripta, y finalmente el alto de mucosa junto con el aumento del alto de las vellosidades intestinales. Además, según Sen *et al.* (2012) los probióticos ejercen sus efectos por acción acumulativa, razón por la cual también podría haberse provocado cambios histomorfológicos tardíos en el tiempo.

La dosis alta de probiótico (P2) mostró efectos dosis dependiente en ancho de vellosidad y alto de mucosa, mientras que la dosis baja (P1) resultó ser suficiente para incrementar el alto de vellosidad. Cambios asociados a determinadas dosis son también reportados por Samanya y Yamauchi (2002), quienes obtuvieron vellosidades más altas al incluir un 0,2% de probiótico en el alimento, y por el contrario dosis superiores no fueron eficaces. Sen *et al.* (2012) encontraron vellosidades más altas al suplementar con 0,30% y 0,45% de probiótico en el alimento, siendo dosis inferiores ineficaces. El efecto relacionado a una dosis en particular podría deberse a diversos factores, como la edad, los microorganismos que componen el probiótico, dado que existen determinados efectos relacionados a determinadas cepas. También la viabilidad del producto tiene un rol fundamental, así como su capacidad de persistir en el hospedero.

En este estudio se obtuvieron mejoras del rendimiento productivo sin los cambios esperables de la mucosa intestinal, a excepción del alto de mucosa y del alto de las vellosidades intestinales. El incremento del alto de vellosidad se condice con un incremento en la función digestiva y absorbiva del intestino debido al aumento de la acción de enzimas, sistemas transportadores de nutrientes y del área de absorción intestinal (Awad *et al.*, 2009), lo que repercute en una mejora de la eficiencia de conversión de alimento, entre otros. Al finalizar el estudio se obtuvo un incremento del alto de vellosidad en las aves que

recibieron probióticos, así como también un incremento del alto de mucosa, aunque esta última solo fue significativamente superior en el grupo que recibió la dosis alta de probiótico.

## **CONCLUSIONES**

La inclusión del probiótico ProBio Balance en el agua de bebida mejoró significativamente los parámetros productivos e histomorfológicos de eficiencia de conversión de alimento y alto de vellosidad intestinal, independiente de la dosis administrada.

El uso de 1,75 mL de probiótico por ave o 35 mL de probiótico por 20 aves es suficiente para obtener mejoras productivas e histomorfológicas.

Las condiciones ambientales de temperatura y mantención del producto probiótico no fueron las óptimas, por lo que los resultados podrían mejorar en condiciones favorables, necesiándose más estudios futuros para su evaluación.

## BIBLIOGRAFÍA

- **AGOSTINI, P.S.; SOLÀ-ORIO, D.; NOFRARIAS, M.; BARROETA, A.C.; GASA, J.; MANZANILLA, E.G.** 2012. Role of in-feed clove supplementation in growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livest. Sci.* 147(1):113-118.
- **AHMAD, I.** 2006. Effect of probiotics on broilers performance. *Int. J. Poul. Sci.* 5(6):593-597.
- **ALKHALF, A.; ALHAJ, M.; AL-HOMIDAN, I.** 2010. Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi J. Biol. Sci.* 17(1):219-225.
- **AMERAH, A.M.; QUILES, A.; MEDEL, P.; SÁNCHEZ, J.; LEHTINEN, M.J.; GRACIA, M.I.** 2013. Effect of pelleting temperature and probiotic supplementation on growth performance and immune function of broilers fed maize/soy-based diets. *Anim. Feed Sci. Tech.* 180(1):55-63.
- **ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑA, M.; MARTÍNEZ, M.** 2006. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. *Regul. Toxicol. Pharm.* 45(1):91-95.
- **AVIAGEN GROUP.** 2010. Manual de manejo del pollo de carne ROSS. [en línea].  
<[http://es.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Spanish\\_TechDocs/RossManualManejoPolloEngordeRoss-2009.pdf](http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/RossManualManejoPolloEngordeRoss-2009.pdf)> [consulta:10-12-2013]

- **AVIAGEN GROUP.** 2013. Salud intestinal en aves domésticas – El mundo interno. [en línea]. <  
[http://es.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/BB\\_Foreign\\_Language\\_Docs/Spanish\\_TechDocs/AviagenBriefGutHealth2013-ES.pdf](http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/AviagenBriefGutHealth2013-ES.pdf)> [consulta: 22-06-2015]
  
- **AVIAGEN GROUP.** 2014. Ross 308 Broiler: Performance objectives. [en línea]. <  
[http://es.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/Ross\\_Broiler/Ross-308-Broiler-PO-2014-EN.pdf](http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-308-Broiler-PO-2014-EN.pdf)> [consulta: 21-06-2015]
  
- **AWAD, W.; GHAREEB, K.; ABDEL-RAHEEM, S.; BÖHM, J.** 2009. Effects of dietary inclusion of probiótico and symbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry Sci. 88(1):49-55.
  
- **CEDIEL, J.; CÁRDENAS, M.; GARCÍA, A.; CHUAIRE, L.; PAYÁN, C.; VILLEGAS, V.; SÁNCHEZ, C.** 2009. Métodos de tinción. **In:** Manual de Histología. Tejidos fundamentales. Editorial Universidad del Rosario. Bogotá, Colombia. pp. 35-60.
  
- **CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA; SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO.** 2006. Resolución N°1.992 exenta Nómina de aditivos autorizados para la elaboración y fabricación de alimentos y suplementos para animales. 13 Mayo 2006. 19 p.
  
- **CORONA, J.** 2012. Impacto del estrés calórico en la producción de pollos de engorde de Venezuela. [en línea]. Rev. electrón. Vet. 13(6): sp. <  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060612/061214.pdf>> [consulta: 22-06-2015]

- **DEL PIANO, M.; MORELLI, L.; STROZZI, GP.; ALLESINA, S.; BARBA, M.; DEIDDA, F.; LORENZINI, P.; BALLARÉ, M.; MONTINO, F.; ORSELLO, M.; SARTONI, M.; GARELLO, E.; CARMAGNOLA, S.; PAGLIARULO, M.; CAPURSO, L.** 2006. Probiotics: from research to consumer. *Digest. Liver Dis.* 38(2):S248-S255.
  
- **FONSECA, B.; BELETTI, M.; DA SILVA, M.; DA SILVA, P.; DUARTE, I.; ROSSI, D.** 2010. Microbiota of the cecum, ileum morphometry, pH of the crop and performance of broiler chickens supplemented with probiotics. *R. Bras. Zootec.* 39(8):1756-1760.
  
- **FRANZ, C.; HUCH, M.; ABRIOUEL, H.; HOLZAPFEL, W.; GÁLVEZ, A.** 2011. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *Int. J. Food Microbiol.* 151(1):125-140.
  
- **GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B.** 2010. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 141(1):S15-S28.
  
- **GÓMEZ, R.** 2010. Efecto de la suplementación de tres hidrolizados proteicos de pescado en dietas de preinicio de pollos broiler sobre indicadores productivos y económicos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 48 p.
  
- **HOSSEINI, Z.; NASIRI, H.; KERMANSHAHI, H.** 2013. Effect of probiotic supplementation on broiler performance at starter phase. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.* 5(11):1221-1223.
  
- **HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; VAN IMMENSEEL, F.** 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Vet. J.* 187(1):182-188.

- **KABIR, S.M.L.; RAHMAN, M.M.; RAHMAN, M.B.; RAHMAN, M.M.; AHMED, S.U.** 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *Int. J. Poul. Sci.* 3(5):361-364.
  
- **KABIR, S.M.L.; RAHMAN, M.M.; RAHMAN, M.B.; HOSAIN, M.Z.; AKAND, N.S.I; DAS, S.K.** 2005. Viability of probiotics in balancing intestinal flora and effecting histological changes of crop and caecal tissues of broilers. *Biotechnol.* 4(4):325-330.
  
- **KABIR, S.M.** 2009. The role of probiotics in the poultry industry. *Int. J. Mol. Sci.* 10(1):3531-3546.
  
- **KARACASS, Y; FREITAS, H.J.; ZAVARIZE, K.C.; BOMBONATO, P.P; SALAS, E.R.; LIMA, K.E.A.; SALES, S.L.V.** 2011. Evaluación morfológica de las criptas intestinales del pollo campirano (pedrés) tratado con la inclusión de niveles crecientes de torta de semilla de copoazú (cacao blanco, *Theobroma grandiflorum*). [en línea]. <<http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/evaluacion-morfometrica-criptas-intestinales-t3772/141-p0.htm#>> [consulta: 19-06-2015]
  
- **KARAOGLU, M.; DURDAG, H.** 2005. The influence of dietary probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation and different slaughter age on the performance, slaughter and carcass properties of broiler. *Int. J. Poul. Sci.* 4(5):309-316.
  
- **KARIMI, M.A.; MOGHADDAM, A.R.; RAHIMI, SH.; MOJGANI, N.** 2010. Assessing the effect of administering probiotics in water or as a feed supplement on broiler performance and immune response. *Brit. Poultry Sci.* 5(12):178-184.

- **LÓPEZ, N.; AFANADOR, G.; ARIZA, C.** 2008. Evaluación del efecto de la suplementación de levaduras sobre la morfometría de vellosidades intestinales y productos de la microflora en pollos. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 55(1):63-76.
  
- **MARKOVIC, R.; SEFER, D.; KRSTIC, M.; PETRUJKIC, B.** 2009. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Arch. Med. Vet.* 41:163-169.
  
- **MATEOS, G.G.; LÁZARO, R.; GRACIA, M.I.** 2002. Modificaciones nutricionales y problemáticas digestivas en aves. **In:** XVIII Curso de especialización FEDNA. Barcelona, España. 4-5 Noviembre 2002. pp. 15-37.
  
- **MOUNTZOURIS, K.C.; TSIRTSIKOS, P.; KALAMARA, E.; NITSCH, S.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K.** 2007. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Sci.* 86(1):309-317.
  
- **MOHAN, B.; KADIRVEL, R.; NATARAJAN, M.; BHASKARAN, M.** 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *Br. Poult. Sci.* 37:395-401.
  
- **MURAKAMI, A.E.; SAKAMOTO, M.I.; NATALI, M.R.M.** 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poult. Sci.* 83(3):488-495
  
- **PÁEZ, R.** 2013. Desarrollo de cultivos probióticos deshidratados por secado spray para aplicación en alimentos. Estudios microbiológicos y tecnológicos. Tesis Doctor en Ciencias exactas, área química. La Plata, Argentina. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas. 240 p.

- **PELICANO, E.; SOUZA, P.; SOUZA, H.; FIGUEIREDO, D.; BOIAGO, M.; CARVALHO, S.; BORDON, V.** 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Braz. J. Poul. Sci.* 7(4):221-229.
  
- **PÉREZ, H.; BUENO, G.; BRIZUELA, M.A.; TORTOLÓ, K.; GASTÓN, C.** 2013. Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. *ICIDCA.* 47(1):14-25.
  
- **RODRIGUEZ, F.; ELIECER, J.; ALSINA, S.** 2010. Morphological changes in intestinal villi in broiler chickens fed from 21 days with a diet supplemented with 10% of efficient microorganisms. *CITECSA.* 1(1):40-46.
  
- **QUISHPE, G.** 2006. Factores que afectan el consumo de alimento en pollos de engorde y postura. Memoria título Ingeniero Agrónomo. Honduras. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. 38 p.
  
- **SAMANYA, M.; YAMAUCHI, K.** 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. *Comp. Biochem. Phys. A.* 133(1):95-104.
  
- **SEN, S.; INGALE, S.L.; KIM, Y.W.; KIM, J.S.; KIM, K.H.; LOHAKARE, J.D.; KIM, E.K.; KIM, H.S.; RYU, M.H.; KWON, I.K.; CHAE, B.J.** 2012. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Res. Vet. Sci.* 93(1):264-268.
  
- **SINGH, K.; KALLALI, B.; KUMAR, A.; THAKER, V.** 2011. Probiotics: A review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* (1):S87-S90.

- **SONG, J.; XIAO, K.; KE, L.; JIAO, L.F.; HU, C.H.; DIAO, Q.Y.; SHI, B.; ZOU, T.** 2014. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poult. Sci.* 93:581-588.
  
- **SUGIHARTO, S.** 2014. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. [en línea]. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X1400037X>> [consulta: 18-05-2014]
  
- **SWAIN, B.K.; NAIK, P.K.; CHAKURKAR, E.B.; SINGH, N.P.** 2011. Effect of probiotics on the performance of Gramapriya chicks. *Indian Vet. J.* 88(10):51-53.
  
- **TIMMERMAN, H.M.; VELDMAN, A.; VAN DEN ELSEN, E.; ROMBOOTS, M.; BEYNEN, A.C.** 2006. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poult. Sci.* 85:1383-1388.
  
- **WANG, H.; GUO Y.; SHIH, J.** 2008. Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals. *Anim. Fed. Sci. Tech.* 140: 376-384.