**Imagen que contiene salsa, alimentos, sopa, dibujo

Descripción generada automáticamente UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**PERFIL DEL PROYECTO DE TITULACIÓN**

**TÍTULO DEL TRABAJO**

**“Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis.”**

Proyecto del trabajo de titulación, modalidad Proyecto de investigación, presentado como requisito para aprobar el trabajo de titulación, para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista.

**AUTOR:**

**KATHERINE VICTORIA GUAPÁS OBANDO**

**TUTOR:**

**Dr. Christian Vinicio Vinueza Burgos PhD.**

**Quito, Diciembre 2022**

# **DERECHOS DE AUTOR**

Yo Katherine Victoria Guapás Obando en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis, modalidad presencial, de conformidad con el Art. 114 del CODIGO ORGANICO DE LA ECONOMIA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACION, concedo a favor de la Universidad Central del Ecuador una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Central del Ecuador para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de titulación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art.114 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

La autora declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Katherine Victoria Guapás Obando

C.I.:1725076531

Dirección electrónica: kvguapas@uce.edu.ec

# **INFORMACIÓN DE APROBACIÓN DEL TUTOR**

Por medio de la presente, dejo constancia que he leído la propuesta del Trabajo de titulación, presentado por la estudiante Katherine Victoria Guapás Obando, con C.I. 1725076531, para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista, cuyo título tentativo es: “Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis”.

En la virtud, informo a usted, que acepto asesorar al estudiante en calidad de TUTOR (a) durante la etapa de desarrollo del trabajo de grado hasta su presentación y evaluación final.

En la Ciudad de Quito, diciembre del 2022.

Tutor

Christian Vinicio Vinueza Burgos PhD.

C.I

Autora

Katherine Victoria Guapás Obando

C.I 1725076531

Christian Vinicio Vinueza Burgos PhD.

Docente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

De mis consideraciones.

Yo, Katherine Victoria Guapás Obando con cédula de identidad 1725076531, estudiante de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador, solicito a usted de la manera más comedida la aprobación del tema de tesis denominado “Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis”. El mismo que se encuentra desarrollado en el formato indicado en el instructivo interno de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para regular los procesos de titulación profesional del tercer nivel, vigente a la fecha.

Autora

Katherine Victoria Guapás Obando

C.1725076531

# **APROBACIÓN DEL INFORME FINAL/TRIBUNAL**

“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS SOBRE PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS E INTEGRIDAD INTESTINAL DE POLLOS BROILER DESAFIADOS A SALMONELLA INFANTIS”

El tribunal constituido por:

Presidente/ Lector1: Dra. Cevallos Ana Luisa

Lector 2: Dr. Jimmy Quisirumbay

Luego de calificar el Informe Final de Investigación del trabajo de titulación denominado “Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis” previo a la obtención del título de Medica Veterinaria Zootecnista presentado por la señorita Guapás Obando Katherine Victoria.

Emite el siguiente veredicto: (aprobación/reprobado)……………………………… Fecha:…………………………………………….

Por constancia de lo actuado firman:

Nombre Apellido Calificación Firma

Lector 1: Dra. Cevallos Ana Luisa ……………………. ……………

Lector 2: Dr. Dr. Jimmy Quisirumbay …………………… ……………

# **DEDICATORIA**

Este proyecto de investigación se lo dedico a mis padres Mabel y Miguel, mi orgullo y seres más amados, quienes han sido incondicionales con su apoyo, paciencia y amor, además de haberme brindado el ejemplo más grande de superación y búsqueda del éxito profesional y personal, demostrándome que siempre se puede y se debe ser una persona correcta. Los amo infinitamente.

A mi hermana Samantha Beatriz, que, a su corta edad, me ha enseñado tantas cosas y me inspira a ser mejor para ella. A mis abuelitas Leo, Katty, Beatriz y Charito, mi abuelo César, mis tíos Robin y Lupe, mi primo Pablo. Gracias familia, esto es por y para ustedes.

A mi mejor amiga Salo, porque con su apoyo, todo el camino recorrido se volvió ameno, fácil y todo lo que parecía imposible, se logró. A mis grandes amigos Cata, Hugo y Pancho, mis queridos consejeros, gracias por nunca dejarme sola en los momentos de dudas y extender su mano en momentos difíciles. Gracias a todos por estar en mi vida.

A todas las personas que formaron parte de esta travesía en sus diferentes etapas, Mirka, David Ortega, Joss, Iván, Juan Daniel, Luis, Fernando, Irving, Kami, Dui. Gracias por todo el apoyo, por sus palabras de aliento, por su amistad y por recordarme que el esfuerzo tiene su recompensa.

Finalmente, pero no menos importantes, dedico este trabajo a mis amados compañeros de cuatro patas, Betsy, Thim, Pollo, Orejas, Margarita, Tom y Brownie. Prometo cuidarlos siempre, como ustedes me cuidan a mí.

# **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mis amados padres Mabel y Miguel, a mi hermana, mis abuelos, tíos, primos por todo su amor, apoyo y confianza. A mis amigos más cercanos, Salo, Cata, Hugo, Pancho, mis más sinceros agradecimientos por ser y estar en todos los momentos necesarios y hacerlos más fáciles y felices.

Agradezco a la Universidad Central del Ecuador y la Facultad de Medicina Veterinaria por permitir formarme como profesional y conocer a mis profesores y amigos.

Al equipo de UNIETAR por su apoyo y participación de este proyecto, encabezado por mi tutor, el Dr. Christian Vinicio Vinueza Burgos, a quien agradezco por su confianza y respaldo. A Miroslava, por su guía, ejemplo y ayuda en las diferentes etapas de este proyecto.

Al laboratorio de Histopatología y a la Lcda. Marcela Pazmiño por su colaboración y ayuda.

Finalmente, quiero agradecer a todas y cada una de las personas que participaron de este proyecto, de forma directa e indirecta, a las personas que me acompañaron durante mi formación, durante mi crecimiento y desarrollo personal y que me dejaron las enseñanzas necesarias para llegar a este momento.

¡Gracias!

# **ÍNDICE DE CONTENIDOS**

[**DERECHOS DE AUTOR** ii](#_Toc122426345)

[**INFORMACIÓN DE APROBACIÓN DEL TUTOR** iii](#_Toc122426346)

[**APROBACIÓN DEL INFORME FINAL/TRIBUNAL** v](#_Toc122426347)

[**DEDICATORIA** vi](#_Toc122426348)

[**AGRADECIMIENTOS** vii](#_Toc122426349)

[**ÍNDICE DE CONTENIDOS** 8](#_Toc122426350)

[**LISTA DE TABLAS** 12](#_Toc122426351)

[**LISTA DE FIGURAS** 12](#_Toc122426352)

[**LISTA DE ANEXOS** 12](#_Toc122426353)

[**RESUMEN** 13](#_Toc122426354)

[**ABSTRACT** 14](#_Toc122426355)

[**CAPÍTULO I** 15](#_Toc122426356)

[**1.** **INTRODUCCIÓN** 15](#_Toc122426357)

[**CAPÍTULO II** 16](#_Toc122426358)

[**2.** **OBJETIVOS** 16](#_Toc122426359)

[**2.1.** **Objetivo General** 16](#_Toc122426360)

[**2.2.** **Objetivos Específicos** 16](#_Toc122426361)

[**2.3.** **Hipótesis** 16](#_Toc122426362)

[**CAPÍTULO III** 17](#_Toc122426363)

[**3.** **MARCO TEÓRICO** 17](#_Toc122426364)

[**3.1.** **Generalidades** 17](#_Toc122426365)

[**3.2.** **Anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal de las aves** 18](#_Toc122426366)

[**3.3.** **Histomorfometría** 19](#_Toc122426367)

[***3.3.1.*** ***Histología del intestino delgado de las aves*** 19](#_Toc122426368)

[**3.3.1.1.** **Capa mucosa.** 20](#_Toc122426369)

[**3.3.1.2.** **Vellosidades intestinales.** 20](#_Toc122426370)

[**3.3.1.3.** **Criptas de Lieberkühn.** 20](#_Toc122426371)

[**3.3.1.4.** **Células Goblet o Caliciformes.** 20](#_Toc122426372)

[***3.3.2.*** ***Generalidades de Salmonella* spp** 21](#_Toc122426373)

[***3.3.3.*** ***Interacciones de Salmonella con el huésped*** 21](#_Toc122426374)

[***3.3.4.*** ***Salmonella* Infantis** 22](#_Toc122426375)

[***3.3.5.*** ***Impacto de Salmonella Infantis en la Salud Pública y la Avicultura*** 23](#_Toc122426376)

[**3.4.** **Tratamientos alternativos para mejorar parámetros productivos e histomorfometría intestinal.** 23](#_Toc122426377)

[***3.4.1.*** ***Probióticos y prebióticos.*** 24](#_Toc122426378)

[**3.4.1.1.** ***Lactobacillus fermentum*.** 25](#_Toc122426379)

[**3.4.1.2.** ***Porphyridium cruentum*.** 25](#_Toc122426380)

[**CAPÍTULO IV** 27](#_Toc122426381)

[**4.** **MATERIALES Y MÉTODOS** 27](#_Toc122426382)

[**4.1.** **MATERIALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL** 27](#_Toc122426383)

[***4.1.1.*** ***Método y modelo para el análisis*** 27](#_Toc122426384)

[**4.2.** **Diseño de investigación** 28](#_Toc122426385)

[**4.3.** **Comité de ética** 28](#_Toc122426386)

[**4.4.** **Factores de estudio** 28](#_Toc122426387)

[**4.5.** **Descripción de la zona de estudio** 28](#_Toc122426388)

[**4.6.** **Población objetivo** 29](#_Toc122426389)

[**4.7.** **Cepas bacterianas y biomoasa de microalga** 29](#_Toc122426390)

[**4.8.** **Adecuación del galpón** 31](#_Toc122426391)

[**4.9.** **Diseño de investigación** 31](#_Toc122426392)

[***4.9.1.*** ***Organización de los grupos experimentales*** 31](#_Toc122426393)

[***4.9.2.*** ***Condiciones de alojamiento y manejo de animales*** 33](#_Toc122426394)

[***4.9.3.*** ***Administración de los tratamientos*** 33](#_Toc122426395)

[**4.10.** **METODOLOGÍA** 36](#_Toc122426396)

[***4.10.1.*** ***Parámetros zootécnicos*** 36](#_Toc122426397)

[**4.10.1.1.** **Intervalos de tiempo.** 36](#_Toc122426398)

[**4.10.1.2.** **Peso corporal.** 36](#_Toc122426399)

[**4.10.1.3.** **Consumo de alimento.** 36](#_Toc122426400)

[**4.10.1.4.** **Mortalidad** 37](#_Toc122426401)

[**4.10.1.5.** **Índice de Eficiencia Europeo** 37](#_Toc122426402)

[***4.10.2.*** ***Toma de muestras de tejido*** 38](#_Toc122426403)

[**4.10.2.1.** **Eutanasia.** 38](#_Toc122426404)

[**4.10.2.2.** **Muestreo.** 38](#_Toc122426405)

[**4.10.2.3.** **Limpieza.** 39](#_Toc122426406)

[***4.10.3.*** ***Análisis Histomorfométrico*** 39](#_Toc122426407)

[**4.10.3.1.** **Preparación de las placas histológicas.** 39](#_Toc122426408)

[**4.10.3.2.** **Medición de vellosidades.** 39](#_Toc122426409)

[**4.10.3.3.** **Cálculo de la superficie intestinal**. 40](#_Toc122426410)

[**4.10.3.4.** **Conteo de las células goblet.** 40](#_Toc122426411)

[**4.10.3.5.** **Recolección de los datos histomorfométricos.** 40](#_Toc122426412)

[**4.11.** **Análisis estadístico** 40](#_Toc122426413)

[**CAPÍTULO V** 41](#_Toc122426414)

[**5.** **RESULTADOS** 41](#_Toc122426415)

[**5.1.** **Análisis de los parámetros zootécnicos** 41](#_Toc122426416)

[**5.1.** **Análisis de Histomorfometría** 42](#_Toc122426417)

[**CAPÍTULO VI** 46](#_Toc122426418)

[**6.** **DISCUSIÓN** 46](#_Toc122426419)

[**CAPÍTULO VII** 50](#_Toc122426420)

[**7.** **CONCLUSIONES** 50](#_Toc122426421)

[**CAPÍTULO VIII** 51](#_Toc122426422)

[**8.** **RECOMENDACIONES** 51](#_Toc122426423)

[**9.** **BIBLIOGRAFÍA** 52](#_Toc122426424)

[**10.** **ANEXOS** 67](#_Toc122426425)

# **LISTA DE TABLAS**

**Tabla 1. *Esquema de distribución de los grupos experimentales y sus respectivos subgrupos……………………………………………….……pág* 32**

**Tabla 2. *Esquema de administración de tratamientos a los grupos experimentales….…….………………………………………………….…pág* 34**

**Tabla 3. *Componentes del alimento y composición de las dietas de inicio (0-8 días) y crecimiento (9-14 días) para pollos COBB 500…………………..…..pág 35***

# **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1 . *Crecimiento positivo en agar MRS*. *……………………..…pág* 29**

**Figura 2. *Crecimiento positivo en agar XLD*. *……………………..…..pág* 30**

**Figura 3. *Polvo liofilizado de la microalga P. cruentum de Necton***

**……………………………………………………………….……………….…*pág* 31**

**Figura 4. *Cálculo del Índice de Eficiencia Europeo de los grupos experimentales ………...…………………………………………………….pág 42***

***Figura 5. Análisis de histomorfometría intestinal y conteo de células goblet de duodeno, yeyuno e íleon, de los cinco grupos experimentales…………………………………………………………….…pág 45***

# **LISTA DE ANEXOS**

**Anexo 1. *Peso corporal en gramos de los grupos experimentales del día 1 al 4 de la crianza previo al desafío con S.* Infanits………………….... pág 67**

**Anexo 2. *Peso corporal en gramos de los grupos experimentales del día 5 (1 dpi) al 14 (10 dpi) de la crianza después del desafío con S.* Infantis*……………………………………………………………………..…..pág* 67**

**Anexo 3. *Parámetros zootécnicos........................................................pág* 68**

**Anexo 4. Mortalidad %...........................................................................pág 69**

**Anexo 5. *Análisis de histomorfometría intestinal AV y PfCr de duodeno, yeyuno e íleon, de los cinco grupos experimentales........................pág 70***

**“Efecto de la aplicación de probióticos y prebióticos sobre parámetros zootécnicos e integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *Salmonella* Infantis.”**

**Autor:** Katherine Victoria Guapás Obando

**Tutor:** Dr. Christian Vinicio Vinueza Burgos PhD.

# **RESUMEN**

El presente estudio se basó en estudiar los efectos de utilizar el probiótico *L. fermentum* y el prebiótico *P. cruentum* sobre los parámetros zootécnicos peso vivo, ganancia de peso diario, consumo diario promedio de alimento, conversión alimenticia, mortalidad e índice de eficiencia europeo; y sobre la arquitectura intestinal de pollos broiler desafiados a *S.* Infantis. El estudio duró 14 días y se utilizaron 250 pollos broiler de la línea Cobb 500 distribuidos de forma aleatoria en 5 grupos experimentales con 5 réplicas de 10 pollos cada una. Se utilizó la prueba estadística ANOVA y TUKEY con un valor de significancia de p < 0.05. El estudio demostró que los parámetros zootécnicos GPD, CDPA, CA e IEE tuvieron mejores resultados en los grupos experimentales donde se aplicaron los tratamientos de probióticos y prebióticos comparados con el grupo control. Adicionalmente, los resultados de la histomorfometría evidenciaron que hubo una mejor relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas, mayor superficie y mayor número de células goblet en los grupos tratados con el probiótico y el prebiótico comparado con el control. En conclusión, el probiótico *L. fermentum* y la combinación con la microalga *P. cruentum* puede ser conveniente para desarrollar nuevos tratamientos probióticos/prebióticos destinados al control de los efectos generados por *Salmonella*.

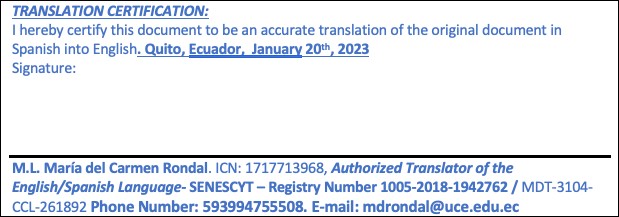
**"Effect of the application of probiotics and prebiotics on zootechnical parameters and intestinal integrity of broiler chickens infected with *Salmonella* Infantis"**

**Autor:** Katherine Victoria Guapás Obando

**Tutor:** Dr. Christian Vinicio Vinueza Burgos PhD.

# **ABSTRACT**

The present study analyzed the effects of using the probiotic *L. fermentum* and the prebiotic *P. cruentum* on the zootechnical parameters of live weight, daily weight gain, average daily feed intake, feed conversion ratio, mortality, and the European Efficiency Index, as well as on the intestinal morphometry of broiler chickens infected with *S.* infantis. The study lasted 14 days, and 250 broiler chickens from the Cobb 500 line were randomly distributed into five experimental groups with five replicates of 10 chickens each. The ANOVA and TUKEY statistical tests were used with a significance level of p < 0.05. The study showed that the zootechnical parameters GPD, CDPA, CA, and IEE had better results in the experimental groups where the probiotic and prebiotic treatments were applied compared to the control group. Furthermore, histomorphometry results revealed that the probiotic and prebiotic treated groups had a better relationship between villus height and crypt depth, a larger surface area, and more goblet cells than the control group. In conclusion, the probiotic *L. fermentum* and its combination with the microalgae *P. cruentum* may be suitable for developing new probiotic/prebiotic treatments to control the effects of *Salmonella*.



Firmado electrónicamente por:

**MARIA DEL CARMEN RONDAL GUANOTASIG**

# **CAPÍTULO I**

# **INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), son producidas por agentes infecciosos (virus, bacterias, parásitos) y tóxicos que se alojan en alimentos o agua de bebida y son causales de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (WHO, 2015). En Ecuador, se describe a *Salmonella entérica* serovariedad Infantiscomo uno de los patógenos más relevantes que causan ETAS (Mejía et al., 2020a). En el país, con corte al 2022, el consumo anual per cápita de aves de corral, incluido pollos broiler, es de 27kg (CONAVE, 2022). Es así como, reducir la diseminación de *S.* Infantis es imperativo para mantener la inocuidad de los productos avícolas.

Los reservorios comunes de este patógeno son las carcasas de pollo y otros subproductos de origen animal (Mejía et al., 2020; OMS, 2020). Así mismo, las carcasas pueden contaminarse, en cualquier etapa de la cadena de procesamiento, incluso durante la preparación y cocción (OMS, 2020).

Ante esta problemática, se busca estrategias para disminuir la contaminación de *Salmonella* sin usar antibióticos. Algunas de estas alternativas son el uso de probióticos y/o prebióticos que permitan controlar y reducir la contaminación por este patógeno en las granjas avícolas (Redweik et al., 2020) . Dentro de estas opciones se describe la administración de biomasa de microalga como prebiótico, favoreciendo el crecimiento de la microbiota intestinal (Camacho et al., 2019). De igual manera, el uso de probióticos en aves, ha demostrado tener una respuesta favorable en el crecimiento de los pollos de engorde, potenciando la respuesta inmune contra *Salmonella* y mejorando su arquitectura intestinal (J. M. Herrera et al., 2018; Redweik et al., 2020).

# **CAPÍTULO II**

# **OBJETIVOS**

# **Objetivo General**

Identificar el efecto de la aplicación de probióticos (*L. fermentum*) y prebióticos (*P. cruentum*) en pollos broiler desafiados con *S.* Infantis.

# **Objetivos Específicos**

* Cuantificar el impacto del uso de probióticos (*L. fermentum*) y prebióticos (*P. cruentum*) en los parámetros zootécnicos (peso, conversión alimenticia y consumo de alimento) de pollos broiler desafiados a *S.* Infantis.
* Determinar el grado de integridad intestinal de pollos broiler desafiados a *S.* Infantisa través de un estudio histopatológico.

# **Hipótesis**

La administración de probióticos (*L. fermentum*) y prebióticos (*P. cruentum*),tiene un efecto favorable en la integridad intestinal y en los parámetros zootécnicos de pollos broiler que han sido desafiados con *S.* Infantis*.*

# **CAPÍTULO III**

# **MARCO TEÓRICO**

# **Generalidades**

La industria avícola ha tomado relevancia en las últimas décadas, tiempo en el cual la crianza de traspatio de pollos broiler ha experimentado una transición hasta su actual estado como la industria de animales de abasto más importante a nivel mundial (FAO, 2022). Esto es evidente, sobre todo en países en vías de desarrollo como el Ecuador, donde la carne de pollos broiler se ubica como la principal fuente de proteína animal (CONAVE, 2021).

Sin embargo, a la par del crecimiento de esta industria, desde el enfoque productivo y de ¨One Health¨, también se incrementan los desafíos como: intensificar la producción con animales de rápido crecimiento (líneas genéticas), controlar las enfermedades propias de las aves y aquellas zoonóticas asociadas a la producción avícola, mejorar el bienestar animal y también disminuir el desarrollo de la resistencia antimicrobiana por el uso de promotores de crecimiento antibióticos (RAM) (FAO, 2013; M. Herrera et al., 2021).

Es así que, para identificar cómo reacciona el organismo del ave a la interacción con su entorno y los patógenos del mismo, se estandarizó una serie de mediciones o parámetros para evaluar el desempeño de las aves durante su producción. Adicionalmente, la creciente investigación sobre factores que influyen en el desarrollo y funcionamiento del intestino (dieta, probióticos, promotores del crecimiento, patógenos), situó al estudio de la histomorfometría como una técnica útil para dar una aproximación más específica de la arquitectura del intestino. Además, tendría una alta correlación con la eficiencia digestiva, la absorción y la exclusión contra microorganismos (Yamauchi, 2007). Esta evaluación conjunta, es lo que permite que los resultados de estas mediciones se utilicen en estudios de investigación como referencia para cuantificar la eficacia de dietas, tratamientos, entre otros (Abudabos et al., 2018, 2019; M. A. Šefcová, Santacruz, et al., 2021).

# **Anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal de las aves**

El tracto digestivo de las aves se compone de una serie corta de órganos muy eficientes en el procesamiento de alimentos y absorción de nutrientes (Rodrigues & Choct, 2018a). Se cumplen tres funciones principales: la digestión, la peristalsis y la absorción (Gillespie & Flanders, 2010a). La conformación morfo-fisiológica de las aves comienza con el pico, una estructura queratinizada que recubre los maxilares y que prensa el alimento entero con la ayuda de la lengua, las glándulas salivales y el paladar duro, debido a la ausencia de dientes en la cavidad (Hynd, 2019). El pico se continúa con el esófago y el buche, dos estructuras con presencia de glándulas mucosas que humedecen el alimento, manteniendo lubricado el bolo alimenticio a la vez que proveen un medio para la reserva y regulación del tránsito (Rodrigues & Choct, 2018b).

El proceso se continúa en el proventrículo, que es el análogo al estómago de los monogástricos (Hristov, 2021a), contiene células cúbicas secretoras de pepsina que realizan una digestión inicial de las proteínas (Al-Saffar & Al-Samawy, 2015; Hristov, 2021b). El alimento prosigue hacia la molleja, o estómago muscular, un órgano grueso y redondo, cuyas paredes producen fuertes movimientos de contracción y trituración, apoyados por el epitelio formado por una capa de tejido córneo en crestas, que maximiza la eficacia del rol de este órgano (Gillespie & Flanders, 2010a). Además, en la molleja también suele encontrarse “arenilla”, un aglomerado de piedras u otros materiales sólidos que contribuye al proceso mecánico en forma similar a dientes. El quimo que pasa hacia el intestino tiene un carácter ácido por las secreciones presentes en el estómago muscular, pero el pH es amortiguado por el bicarbonato proveniente del páncreas (Hynd, 2019). El estómago aviar regula la ingesta de alimentos al influir en el centro de saciedad con señales vagales y humorales (Denbow & Whitton G.C, 2015).

La digestión continúa en el intestino delgado, que se divide en tres segmentos: duodeno donde se reciben una serie de secreciones (bicarbonato, proteasas, lipasas y polisacaridasas) desde el páncreas. La porción del yeyuno, que termina con el divertículo de Meckel, y el segmento entre el divertículo de Meckel y el comienzo del colon se llama íleon (Hynd, 2019). En el intestino delgado ocurre mayoritariamente la digestión como tal, obteniéndose aminoácidos, azúcares simples y ácidos grasos que también son absorbidos en esta porción anatómica, junto con otros nutrientes como minerales y vitaminas (Gillespie & Flanders, 2010a).

Hacia los lados del íleon se encuentra la primera porción del intestino grueso, los sacos ciegos, en los que tiene lugar la degradación microbiana del bolo y la fermentación de ácidos grasos de cadena larga a ácidos grasos de cadena corta, los cuales sirven como fuente de energía para el cuerpo, y aquí también se absorben agua y electrolitos, principalmente sodio (Svihus et al., 2013).

La porción colónica es corta y prácticamente solo es una fracción de tránsito hacia la cloaca, un órgano alargado que representa la porción final del sistema digestivo, urinario y del oviducto, siendo una salida común para la excreción de heces, orina y huevos (cuando corresponde) (Gillespie & Flanders, 2010a).

# **Histomorfometría**

Para el estudio histológico de la arquitectura intestinal, se toman en cuenta parámetros como la medición de las vellosidades (alto, ancho, superficie) y la profundidad de las criptas. Estas medidas, son un reflejo del área celular disponible para los procesos enzimáticos y de absorción de nutrientes, que están directamente relacionados con el desarrollo del ave (Incharoen et al., 2010). Así también, el conteo de las células Goblet (o caliciformes) es útil para complementar el estudio histológico (Duangnumsawang et al., 2021; Militaru et al., 2019).

# ***Histología del intestino delgado de las aves***

El intestino delgado se compone de tres partes. El duodeno, que se extiende desde la parte proximal del estómago hasta el final del páncreas. El yeyuno, que es el área desde el final del duodeno hasta el divertículo de Meckel. Y, el íleon que está entre el divertículo de Meckel y el comienzo del colon.

Según (Konig, 2008) la organización histológica del intestino consta de cuatro capas, que desde su parte interna a la externa son: mucosa, submucosa muscular y serosa.

# **Capa mucosa.**

Formada por su capa epitelial, lámina propia y una capa muscular. La capa epitelilal está compuesta por una sola capa de células cilíndricas llamadas enterocitos. Cada enterocito tiene un núcleo ubicado en la base y está cubierto con numerosas microvellosidades ubicadas en la superficie luminal, que forma el borde del borde en cepillo, el cual aumenta la superficie de absorción de las células (Zhang et al., 2019).

# **Vellosidades intestinales.**

La capa mucosa del intestino está organizada en vellosidades y criptas. Las vellosidades están formadas por enterocitos maduros provenientes de las criptas, están orientadas hacia la luz del intestino y son una prolongación de la propia capa mucosa. Estas se van encogiendo a lo largo del intestino y desaparecen por completo al nivel de la cloaca (Zhang et al., 2019).

La relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas es un parámetro efectivo para evaluar el funcionamiento intestinal y se considera como indicador crucial de la salud gastrointestinal, ya que está vinculado a una mayor capacidad de absorción de nutrientes, lo que podría ser reflejado en etapas posteriores de la vida de los pollos ya que cuando esta relación aumenta la digestión y la absorción mejoran (Wilson et al., 2018).

# **Criptas de Lieberkühn.**

Las criptas de Lieberkühn se forman por la invaginación del epitelio de las vellosidades y están conformadas en su base por células madre con alta capacidad de proliferación para auto renovación del epitelio, ya que después de la división mitótica, estas células migran a la superficie de las vellosidades y después de cumplir su función, se desprenden hacia la luz intestinal (Pandit et al., 2018). Además, de estas células madre también se diferencian las celúlas de Paneth, goblet y enteroendócrinas (Pandit et al., 2018).

# **Células Goblet o Caliciformes.**

Las células goblet o caliciformes, están dispersas entre el revestimiento epitelial. Tienen una parte superior expandida en forma de barril y una parte basal estrecha en la que se encuentra el núcleo (Zhang et al., 2019). El citoplasma está lleno de gotitas de mucina, una glicoproteína de alto peso molecular. Estas mucinas forman un gel intestinal que actúa como capa protectora viscosa y se sabe que juega un papel importante durante la infección por microorganismos patógenos (McGuckin et al., 2011, Biasato et al., 2018)Haga clic o pulse aquí para escribir texto.Al observar preparaciones histológicas teñidas con tinción estándar de hematoxilina-eosina, las células goblet son visibles como vacuolas vacías (Zhang et al., 2019).

* + 1. ***Generalidades de Salmonella* spp**

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Morfológicamente son bacilos sin cápsula, anaerobios facultativos y móviles, a excepción *S.* Pullorum y *S.* Gallinarum, que son las dos especies generalmente reconocidas como más patogénicas en aves (Jabib et al., 2015; Velhner et al., 2018). En cuanto a su taxonomía, *Salmonella* tiene solamente dos especies, *S. enterica* y *S. bongori* (esta última afecta únicamente a animales acuáticos). A su vez, *S. enterica* tiene seis subespecies, siendo “entérica” la más importante debido a que agrupa la mayoría de los serotipos existentes. A fin de facilitar la nomenclatura, solo se emplea el género y el serotipo, por ejemplo *S.* Infantis en lugar de *S. enterica* subsp. *enterica* serotipo Infantis (Gul et al., 2016; Jabib et al., 2015).

# ***Interacciones de Salmonella con el huésped***

El género *Salmonella* no forma parte de la microbiota de las aves y generalmente ingresa a los planteles avícolas por contaminación cruzada o por transmisión desde otras especies (aves silvestres, palomas, roedores) (Cocciolo et al., 2020; Gast, 2013). Una vez que el microorganismo se instaura en el ambiente, la transmisión horizontal se mantiene a través de la vía oro-fecal por contaminación del agua o alimento con heces de aves infectadas (Cocciolo et al., 2020; Gast, 2013).

Esta bacteria es capaz de colonizar el intestino del ave cuando se encuentra en grandes concentraciones y supone una interacción con los receptores tipo Toll de los enterocitos y células dendríticas, estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias, incluyendo IL-1B, IL 8, IL7, TNFα, entre otras (Crhanova et al., 2011)

Esta activación del sistema inmune influye de forma negativa en los procesos fisiológicos del ave, teniendo en cuenta que el tracto gastrointestinal tiene la función de digestión y absorción de nutrientes (ácidos grasos, minerales y vitaminas). Cualquier alteración a este nivel repercutirá en el desarrollo del ave ya que, altera la permeabilidad del enterocito, afectando el transporte iónico y aumentando el consumo de energía endógena para mantener dichos procesos inmunológicos (Awad et al., 2017; Gillespie & Flanders, 2010b).

Sin embargo, con serotipos distintos al *Pullorum* y *Galliranum*, esta respuesta inicial decrece paulatinamente hasta volverse ineficiente, permitiendo al patógeno alojarse en el intestino, convirtiendo al ave en un reservorio. Esto refleja el hecho de que el sistema inmune del ave puede volverse tolerante a la exposición a varios serovares de *Salmonella* que no se consideran patógenos para ellas (Crhanova et al., 2011)

Así también, *Salmonella* puede alterar la arquitectura histológica de las vellosidades del intestino delgado, disminuyendo la superficie de absorción para nutrientes y afectando la conversión alimenticia de forma negativa (Abudabos et al., 2018). Esto a su vez, afecta la capacidad de desarrollo y crecimiento del ave, inducido por el daño en la mucosa intestinal, llegando a causar pérdidas mortales, afectando el rendimiento del lote y diseminándose al ambiente a través de la materia fecal o desechos biológicos mal manejados (McNaughton et al., 2020).

* + 1. ***Salmonella* Infantis**

El serovar Infantis no se considera un patógeno para las aves y por ende no se ha descrito cómo interactúa específicamente con estas. Sin embargo, se podría considerar que tiene efectos perjudiciales para la producción (Japón, 2019) ya que, utiliza a los planteles avícolas como reservorio y biorreactor para su población alcanzando una prevalencia en Ecuador del 83.9% en pollos de engorde (Gul et al., 2016; Velhner et al., 2018; Vinueza-Burgos et al., 2016).

Una de las principales formas de diseminación de este patógeno es en las carcasas de pollos broiler, llegando a la población que lo consume, causando desde cuadros digestivos autolimitantes, infecciones de piel y tejidos blandos, hasta infecciones sistémicas en humanos (Abebe et al., 2020). El problema se complica en la terapéutica de estos casos debido a la RAM asociada a este serotipo, porque incluye a antibióticos de primera línea, antibióticos de uso intrahospitalario como las cefalosporinas de tercera generación y desinfectantes (FAO, 2013). Por este motivo, el control de la salmonelosis y del uso de promotores de crecimiento antimicrobiano en la industria avícola, es crucial para evitar las pérdidas productivas, además de reducir el posible impacto zoonótico que acarrean la diseminación de sus serotipos, principalmente *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis y en el medio ecuatoriano el serotipo Infantis (Mejía et al., 2020b; Vinueza-Burgos et al., 2019b).

# ***Impacto de Salmonella Infantis en la Salud Pública y la Avicultura***

*Salmonella spp.* se encuentra distribuida a nivel mundial. En Europa y Brasil los serovares más prevalentes son *S*. enteritidis (Campioni et al., 2021; EFSA & ECDC, 2019), en Colombia se reporta prevalencia de *S*. entérica IIIb (19%) , Virchow (9.5%) y Bredeney (14.3%) (Castañeda-Salazar et al., 2019) y en Ecuador, el serovar Infantis representa el 83,9% de aislados en pollos de engode. (Drauch et al., 2020; Mejía et al., 2020; Vinueza-Burgos et al., 2016).

Desde la perspectiva de la salud pública y la avicultura, esta incidencia emergente de *S.* Infantis es una problemática compleja ya que está asociada a un manejo sanitario ineficiente en los planteles avícolas y en las plantas de faenamiento, llegando también a encontrarse en las carcasas de pollo listas para el consumo humano. (Japón, 2019; Kalaba et al., 2017).

# **Tratamientos alternativos para mejorar parámetros productivos e histomorfometría intestinal.**

Dentro de las estrategias a analizar en la producción aviar, se destacan el uso de prebióticos, probióticos y simbióticos (asociación de pre y probióticos). Dentro de las ventajas que presentan, se destaca la facilidad y bajo costo de la producción de biomasa de prebiótico, sobre todo si se emplea organismos autótrofos unicelulares (algas), asociadas al mejoramiento de la producción y la inmunidad aviar (Al-Khalaifah, 2018; Rodriguez & Molina, 2021). Caso similar con la producción de probióticos (bacterias) que presentan rápido crecimiento y requerimientos nutricionales mínimos. Por otra parte, al ganar nicho, el probiótico disminuye la adherencia de bacterias potencialmente patógenas mejorando el aprovechamiento y la respuesta inmune (Al-Khalaifah, 2018; Jeni et al., 2021)

# ***Probióticos y prebióticos.***

Los probióticos se definen como microorganismos vivos que, en concentraciones adecuadas, son capaces de tener efectos beneficiosos (Walker, 2008). Su efectividad puede estar atribuida a las especies bacterianas utilizadas (FAO & WHO, 2006). Los principales tipos de probióticos utilizados en la industria avícola incluyen a los *géneros Lactobacillus, Bacillus*, *Pediococcus*, Enterococcus, Streptococcus, *Weissella* entre otros (Hernandez-Patlan et al., 2020; Khan et al., 2020).

Los mecanismos de acción de los probióticos incluyen la producción de ácidos orgánicos de cadena corta, modulación del sistema inmune y producción de metabolitos que impiden la colonización y/o replicación de patógenos (Mohamed E. et al., 2020). En este sentido, reducen la carga bacteriana no deseada sin inducir una presión selectiva que acelere la RAM (Awad et al., 2009; Torres & Zarazaga, 2002). También modula positivamente el sistema inmune e induce cambios morfológicos en el intestino ya que estimula el proceso mitótico de las células en diferenciación en la región entre la vellosidad y la cripta (Puente et al., 2019). Este efecto hiperplásico aumenta la altura de las vellosidades y a su vez aumenta la superficie de absorción de nutrientes, siendo prometedor para el ámbito productivo (Yaqoob et al., 2021).

Los prebióticos son aquellos aditivos naturales o ingredientes alimenticios que no pueden ser digeridos en la parte superior del tracto gastrointestinal (estómago glandular y muscular), pero que pueden ser utilizados por el microbioma y también por probióticos como *Lactobacillus spp*. favoreciendo la salud del hospedador al regular la respuesta inmune y disminuir la colonización de patógenos (Ricke, 2021).

Algunos de los prebióticos utilizados en la producción avícola son: Fructooligosacáridos; Galactooligosacáridos ; Mananoligosacáridos; Cultivos de Levaduras, Fuentes de fibra como la alfalfa y las biomasas de microalgas (Ginzberg et al., 2000a; Rodriguez & Molina, 2021).

# ***Lactobacillus fermentum*.**

Es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza. Son bacilos gram positivos, anaeróbicos o microaerófilos, no formadores de esporas que pertenecen al género *Lactobacillus*. Pueden ser aislados de materiales vegetales fermentados, productos lácteos y contenidos intestinales de aves de corral (Nielsen et al., 2007).

Para el estudio del efecto in vivo de *L. fermentum*, se utilizan modelos experimentales con animales (ratones de laboratorio, aves de corral), donde se ha descrito que: disminuye la capacidad de colonización de patógenos, modula la inhibición de mediadores proinflamatorios (Rodríguez-Nogales et al., 2017). En estudios más recientes enfocados a la producción avícola, se ha descrito que favorece la ganancia de peso de las aves durante la crianza y también que es capaz de mantener los parámetros productivos dentro de valores estándar de aves desafiadas a *Campylobacter coli y C.jejuni* (M. A. Šefcová, Larrea-álvarez, et al., 2021; Šefcová 2020 ).

# ***Porphyridium cruentum*.**

El prebiótico *P. cruentum* es organismo acuático fotosintético denominado microalga roja (Guiry, 2012). Estos organismos han sido considerados relevantes dada su capacidad de sintetizar compuestos como: ácidos grasos polinsaturados, polifenoles, aminoácidos esenciales, proteínas, pigmentos y varios polisacáridos, sin embargo, aún no hay información suficiente que indique los efectos de su uso en pollos broiler ya que en su mayoría han sido utilizados como materia prima para la formulación de balanceados para alimentación de peces y otros animales. (Coudert et al., 2020).

Según el reporte de M. A. Šefcová, et al., (2021), el alga roja *Porphyridium cruentum* es considerada la más prometedora para su uso en balanceados ya que, puede sintetizar y secretar altas cantidades de polisacáridos sulfatados, lípidos y ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son reconocidos como importantes antioxidantes, antiinfalamatorios y agentes citotóxicos (Erol et al., 2020a; Ricke, 2021)

En este estudio analizaremos los efectos de la biomasa de *Porphyridium cruentum* como prebiótico y *Lactobacillus fermentum* como probiótico sobre las características morfológicas del intestino de pollos broiler y sus parámetros de zootécnicos (ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia) ante una infección con *S.* Infantis.

# **CAPÍTULO IV**

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

# **MATERIALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

# ***Método y modelo para el análisis***

Los datos fueron recolectados en esquema análogo y digital de la siguiente forma:

* + Peso corporal (PC): se utilizaron 5 carpetas de diferentes colores, en las cuales constaron plantillas con el número del ave y pesos corporales recolectados: el día de la llegada, día 1, día 2, día 3, día 4, y los días posteriores a la infección (dpi): día 5 (1 dpi), día 7 (3 dpi), día 11 (7 dpi), día 14 (10 dpi).
  + Temperatura y Humedad: se usó un cuaderno de anotaciones con datos generales y registros individuales de cada grupo, donde constaron ítems como temperatura, humedad y observaciones adicionales.
  + Administración y pesaje de alimento: se usó un cuaderno de anotaciones general donde se registró la cantidad de alimento que debía administrarse por día junto con cantidad de biomasa de microalga pre calculada y el pesaje del sobrante del día anterior.
  + Mortalidad: se utilizaron 5 carpetas de diferentes colores que pertenecían a cada grupo experimental, en las cuales constaron plantillas con el número de replicado y un espacio designado para registrar la mortalidad diaria.
  + Platilla Excel donde se recolectaron los siguientes datos:
    - Peso corporal (PC).
    - Ganancia de Peso Corporal (GPC).
    - Consumo de Alimento Promedio (CAP).
    - Conversión alimenticia (CA).
    - Ganancia de peso diaria (GPD).
    - Consumo diario promedio de alimento (CDPA)
    - Mortalidad (M)
    - Índice de eficiencia europeo (IEE)
  + Registro fotográfico de las actividades de campo.
  + Registro fotográfico de histomorfometría y contaje de células goblet.
  + Platilla Excel donde se recolectaron los siguientes datos:
    - Alto de las vellosidades (AV) en µm.
    - Ancho de las vellosidades (AnV) en µm
    - Superficie (S) en mm 2.
    - Profundidad de las criptas (PfCr) en µm.
    - Contaje de células goblet (CG) por cada 100 células epiteliales.

# **Diseño de investigación**

El diseño de la investigación fue de tipo experimental y transversal.

# **Comité de ética**

Todos los procedimientos experimentales se realizaron siguiendo las pautas de manejo animal especificadas por la Agencia de Regulación y Control Fitosanitario y de Sanidad Animal (AGROCALIDAD, resolución técnica n. 0017). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética sobre el Uso de Animales en Investigación y Docencia de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) (número de referencia: 2020-008).

# **Factores de estudio**

* **VD:** Parámetros zootécnicos: peso corporal, ganancia de peso diaria, consumo diario promedio de alimento y conversión alimenticia) e histomorfometría, incluyendo el conteo de las células goblet.
* **VI:** Aplicación deprobióticos (*L. fermentum* CCM 7514) y prebióticos (*P. cruentum*) a los pollos de los diferentes grupos experimentales que fueron desafiados a *S*. Infantis.

# **Descripción de la zona de estudio**

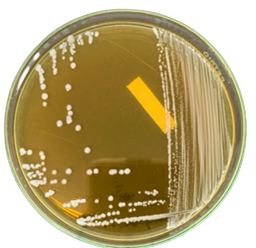
El estudio se llevó a cabo por un total de 15 días en el Centro Experimental Uyumbicho “CEU” de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Central del Ecuador (UCE), ubicado en la parroquia de Uyumbicho perteneciente al cantón Mejía provincia de Pichincha, Ecuador (23 km al sudeste de Quito). Y en el laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Central del Ecuador (UCE), mismo que se encuentra ubicado en las calles Jerónimo Leiton y Gilberto Gato Sobral, cantón Quito, provincia de Pichincha, Ecuador**.**

# **Población objetivo**

Se obtuvieron un total de 250 pollos de engorde (COBB 500) de 1 día de edad, de un proveedor nacional. A su llegada, los pollos fueron pesados ​​y distribuidos aleatoriamente en cinco grupos experimentales, asegurándose de que el peso fuera similar en todos.

# **Cepas bacterianas y biomoasa de microalga**

La cepa liofilizada de *L. fermentum* CCM7514 (suministrada por la Czech Culture Collection, Brno, República Checa), aislada de intestino de pollos domésticos, se suspendió en 1 ml de solución salina y se cultivó a 37 °C durante 48 h en De Mann–Rogosa–Sharpe (MRS) agar (Merck, Alemania) a pH 5,65 en una cámara de anaerobiosis (BBL GasPak Plus, Albany, NY, EE. UU.). Después de la incubación, colonias positivas, presentaron una coloración blanquecina (Figura Xi). Seis colonias de la placa fueron seleccionadas e inoculadas en 50 ml de caldo MRS para ser incubadas a 37 °C por 24 horas. Subsecuentemente, se agregaron al cultivo 450 ml de caldo MRS repitiendo el paso de incubación. Posteriormente, se realizó la centrifugación del cultivo a 4°C, 2268 x g por 45 minutos. La resuspensión del sedimento se realizó en 50 ml de solución salina y la determinación del número de bacterias se realizó preparando diluciones decimales.



**Figura 1 .** Crecimiento positivo en agar MRS.

**Fuente:** (M. Šefcová, et al., 2020).

La cepa U1068s *de Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis (*S*. Infantis), aisladas del contenido cecal proveniente de ciegos de pollos, fue obtenido del cepario de la Unidad de Investigación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (UNIETAR). La cepa se la reconstituyó en agar selectivo diferencial Xylosa, Lysina, Desoxicolato (XLD), a 37 °C por 24 horas. Un crecimiento positivo se evidenció con un crecimiento de colonias con un centro negro y bordes regulares y delgados (Figura Yi). Para la generación de la biomasa, se incubó una colonia típica en agua tamponada con peptona (como cultivo líquido) a 37 °C durante 18-24 h con agitación constante. La biomasa recuperada se centrifugó a 500 × g durante 45 minutos para su concentración. La resuspensión del sedimento se realizó en solución salina (NaCl, 5%) hasta obtener una OD600 de 1,0.



**Figura 2.** Crecimiento positivo en agar XLD.

**Fuente:** (Corrales-Martinez et al., 2022)

El polvo liofilizado de la microalga *P. cruentum*, fue adquirido de Necton S.A., Olhão, Portugal (<https://necton.pt>/consultado el 2 de junio de 2021). P. cruentum pertenece al Filo Rhodophyta, que contiene clorofila a como α y β carotenos, luteína y zeaxzantina. Adicionalmente, estos organismos producen pigmentos hidrosolubles como ficobilinas. CITA 28 29. Esta biomasa posee 35% de proteína bruta, 5% de grasa bruta y 31% de ceniza bruta, lo que le sugiere un valor nutricional potencialemente alto para las aves.

Imagen que contiene interior, taza, tabla, café

Descripción generada automáticamente

**Figura 3.** Polvo liofilizado de la microalga *P. cruentum* de Necton.

**Fuente:** (La autora,2022).

# **Adecuación del galpón**

A cada grupo experimental se le asignó a un corral separado y se dividió en cinco subgrupos (denominados I, II, III, IV y V) de diez pollos cada uno. Se utilizó viruta de madera dura para cubrir el piso de los corrales, la cual fue sometida a un proceso de desinfección con formol.

De acuerdo con la disposición estructural del mismo, se utilizó 5 cuadrantes aislados entre sí, adecuados con criadoras de gas conectadas con mangueras a una red de tuberías cerrada, alimentada por 3 tanques de 15kg c/u.

Para garantizar la bioseguridad y la esterilidad de los galpones, se realizó un proceso de limpieza y desinfección que consistió en barrer y retirar cualquier resto de materia orgánica, posteriormente se desinfectó el piso y paredes con amonio cuaternario y cloro, 7 días y 1 día antes de la recepción de los animales.

# **Diseño de investigación**

# ***Organización de los grupos experimentales***

Los individuos se organizaron en grupos, dependiendo del tratamiento aplicado y sus controles correspondientes de la siguiente manera (**Tabla 1**).

**Tabla 1.**

*Esquema de distribución de los grupos experimentales y sus respectivos subgrupos.*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Control** | **Lf** | **SI** | **Lf+SI** | **Lf+SI+Pb** |
| Subgrupo I.  N° P. = 10 | Subgrupo I.  N° P. = 10 | Subgrupo I.  N° P. = 10 | Subgrupo I.  N° P. = 10 | Subgrupo I.  N° P. = 10 |
| Subgrupo II.  N° P. = 10 | Subgrupo II.  N° P. = 10 | Subgrupo II.  N° P. = 10 | Subgrupo II.  N° P. = 10 | Subgrupo II.  N° P. = 10 |
| Subgrupo III.  N° P. = 10 | Subgrupo III.  N° P. = 10 | Subgrupo III.  N° P. = 10 | Subgrupo III.  N° P. = 10 | Subgrupo III.  N° P. = 10 |
| Subgrupo IV.  N° P. = 10 | Subgrupo IV.  N° P. = 10 | Subgrupo IV.  N° P. = 10 | Subgrupo IV.  N° P. = 10 | Subgrupo IV.  N° P. = 10 |
| Subgrupo V.  N° P. = 10 | Subgrupo V.  N° P. = 10 | Subgrupo V.  N° P. = 10 | Subgrupo V.  N° P. = 10 | Subgrupo V.  N° P. = 10 |

*Nota.* Lf, *Lactobacillus fermentum;* SI*, Salmonella* Infantis*,* Pb*, P. cruentum;* N°P, número de pollos.

Cada grupo constó de 5 subgrupos de 10 pollos cada uno, dando un total de 50 individuos por grupo, lo que a su vez resulta en 250 individuos para la totalidad del estudio.

La unidad experimental (UE) tuvo que cumplir correspondientes condiciones:

* Estar colocada de forma independiente en las condiciones experimentales.
* Las condiciones experimentales tuvieron que ser aplicadas a cada UE.
* La UE no debió ser influenciada entre sí misma.

Por esta razón, para los datos de peso corporal, ganancia de peso diaria, consumo diario promedio de alimento y conversión alimenticia se consideró cada subgrupo como UE, n=5. Ya que, las variables que se midieron para evaluar los parámetros zootécnicos pudieron ser influenciadas por otro individuo del mismo grupo (Ej. durante el consumo de alimento en el comedero).

En tanto que, para los datos de histomorfometría intestinal y contaje de células goblet se consideró a un individuo como UE, correspondiente a los 10 animales por grupo (2 pollos por cada subgrupo escogidos al azar) n=10. Ya que, las variables a evaluar histomorfométricamente hacen referencia a un órgano interno (intestino delgado), el cual no pudo ser influenciado por otro individuo del mismo subgrupo (Lazic et al., 2018).

# ***Condiciones de alojamiento y manejo de animales***

La humedad relativa se mantuvo alrededor de 50 a 70%. Se implementó un régimen de luz continua (intensidad 30–40 Lux) durante las primeras 24 horas del experimento. A partir del día 2, hasta que los animales pesaron entre 130 y 180 g, el régimen de luz cambió a 23 horas de luz y 1 hora de oscuridad. Posteriormente, se mantuvo un régimen de 18 horas de luz (intensidad 5-10 Lux) seguidas de 6 horas de oscuridad hasta el final del experimento. El galpón fue regularmente ventilado y la temperatura se tomó cada 6 horas de todos los grupos y sus subgrupos con un termómetro infrarrojo y 2 termómetros de piso, uno en el primer cuadrante y otro en el último cuadrante, los cuales también recolectaban los datos de humedad ambiental. La temperatura se mantuvo entre 30 a 32 °C durante la primera semana; a partir del día 7 se disminuyó 2 °C por semana. El día 7 se mantuvo entre 28 y 30 °C y el día 14 entre 25 y 27 °C. Para todos los procesos se tomó como guía, los lineamientos del manual de crianza de la línea genética COBB 500 (Cobb-Vantress 2021).

# ***Administración de los tratamientos***

Se administró individualmente por vía oral, una suspensión de la bacteria probiótica *L. fermentum* CCM 7514 (109 UFC por 0,2 ml de la solución salina) a los individuos de los grupos Lf, Lf+SI y Lf+SI+Pb del día 1 hasta el día 7 del período experimental, como previamente fue descrito (M. Šefcová, Larrea-Álvarez, Larrea-Álvarez, Karaffová, et al., 2020; M. Šefcová, Larrea-Álvarez, Larrea-Álvarez, Revajová, et al., 2020; M. A. Šefcová, Larrea-álvarez, et al., 2021). (citas).

El día 4, se administró individualmente por vía oral, una suspensión de *S.* Infantis (107 UFC por 0,1 ml de la solución salina) a los individuos de los grupos SI, Lf+SI y Lf+SI+Pb. La concentración de la cepa bacteriana y su la administración fue basada en el estudio previo de Berndt etal., (2007). Se aplicó solución salina (0,1 ml) individualmente por vía oral a los animales del grupo control en cada etapa del tratamiento. Para la administración de la biomasa de microalga *P. cruentum*, se calculó 1% por 1 kg de dieta basal y se administró junto con la dieta en el grupo Lf+SI+Pb durante los primeros siete días del experimento. La cantidad de biomasa de microalga fue basada en los estudios previos de El-Bahr et al., (2020) y Šefcová et al., (2021). El esquema está detallado en la **Tabla 2.**

**Tabla 2.**

*Esquema de administración de tratamientos a los grupos experimentales.*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Día** | **Control**  **(N° P 50)** | **Lf**  **(N° P 50)** | **SI**  **(N° P 50)** | **Lf+SI**  **(N° P 50)** | **Lf+SI+Pb**  **(N° P 50)** |
| Llegada | NT | NT | NT | NT | NT |
| 1 – 3 d | 0,1 ml  Solución salina | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum* | 0,1 ml  Solución salina | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum* | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum*  +  1% de *P. cruentum* en DB |
| 4 d | 0,1 ml  Solución salina | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum* | 0,1 ml  Solución salina  +  107 UFC/0,1 ml  *S.* Infantis | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum*  +  107 UFC/0,1 ml  *S.* Infantis | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum*  +  107 UFC/0,1 ml  *S.* Infantis  +  1% de *P. cruentum* en DB |
| 5 – 7 d  (1 – 3 dpi) | 0,1 ml  Solución salina | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum* | 0,1 ml  Solución salina | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum* | 109 UFC/0,2ml  *L. fermentum*  +  1% de *P. cruentum* en DB |
| 8 – 14 d  (4 – 10 dpi) | NT | NT | NT | NT | NT |
| 15 d  (11 dpi)  Muestreo | N° P 10 | N° P 10 | N° P 10 | N° P 10 | N° P 10 |
| *Nota.* Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb,  *P. cruentum;* N° P, número de pollos; NT, ningún tratamiento; UFC, unidades formadoras de colonias; dpi, días post infección; DB, dieta basal. | | | | | |

Los animales recibieron alimento comercial obtenido de un proveedor de alimentos nacional, sin antibióticos, probióticos ni coccidiostáticos (**Tabla 3**). Las aves tuvieron acceso constante a alimento y agua ad libitum durante todo el período experimental. Se limpiaron comederos y bebederos, todos los días, una vez al día en la mañana y posteriormente a la infección con *S.* Infantis se añadió a la desinfección de los comederos el amonio cuaternario.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Tabla 3.** | | |
| *Componentes del alimento y composición de las dietas de inicio (0-8 días) y crecimiento (9-14 días) para pollos COBB 500.* | | |
| **Ingredientes (%)** | **Iniciador** | **Crecimiento** |
| Maíz molido | 52.99 | 57.23 |
| Harina de soya | 36.3 | 32.07 |
| Carbonato cálcico | 1.52 | 1.49 |
| Fosfato monocálcico | 1.07 | 0.82 |
| Cloruro de sodio | 0.31 | 0.26 |
| Grasa cruda (vegetal) | 7.4 | 7.71 |
| Antimicótico | 0.10 | 0.08 |
| Secuestrador de Micotoxinas | 0.05 | 0.05 |
| Antioxidantes | 0.02 | 0.02 |
| Fitasa | 0.01 | 0.01 |
| 1Premezcla de vitaminas y minerales | 0.23 | 0.26 |
| **Especificaciones nutricionales** | | |
| 2ME Kcal/kg dieta | 2975 | 3025 |
| Lisina digestible (%) | 1.22 | 1.12 |
| Metionina digestible + cisteína (%) | 0.91 | 0.85 |
| Metionina digestible (%) | 0.46 | 0.45 |
| Treonina digestible (%) | 0.83 | 0.73 |
| Valina digestible (%) | 0.89 | 0.85 |
| Isoleucina digestible (%) | 0.77 | 0.72 |
| Arginina digestible (%) | 1.28 | 1.18 |
| Triptófano digestible (%) | 0.20 | 0.18 |
| Proteína bruta (%) | 21.50 | 20.00 |
| Ca (%) | 0.90 | 0.84 |
| P disponible (%) | 0.45 | 0.42 |
| El (%) | 0.23 | 0.16 |
| Cl (%) | 0.22 | 0.19 |
| K (%) | 0.95 | 0.72 |
| Colina (mg/kg) | 500 | 400 |
| Ácido linoléico (%) | 1.00 | 1.00 |

*Nota.**1Premezcla vitamínica incorporada en cada kg de dietas basales: Vitamina A 10.000 UI; vitamina D3 5000 UI; vitamina E 80 UI (inicial), 50 UI (crecimiento); vitamina K 3 mg; vitamina B1 3 mg (iniciador), 2 mg (crecimiento); vitamina B2 9 mg (iniciador), 8 mg (crecimiento); vitamina B6 4 mg (iniciador), 3 mg (crecimiento); vitamina B12 0,02 mg (iniciador), 0,015 mg (crecimiento); Biotina 0.15 mg (iniciador), 0.12 mg (crecimiento); Ácido pantoténico 15 mg (iniciador), 12 mg (crecimiento); Ácido fólico 2 mg. Premezcla mineral incorporada en cada kg de dietas basales: Mn, 100 mg; Zn, 100 mg; Fe, 40 mg, Cu, 15 mg, I, 1 mg, Se, 0,35 mg. 2ME, energía metabolizable.*

# **METODOLOGÍA**

# ***Parámetros zootécnicos***

# **Intervalos de tiempo.**

Se tomaron en cuenta los días después del desafío con la bacteria *S*. Infantis:

1. Intervalo: inicio el día 5 (1 dpi); final el día 7 (3 dpi).
2. Intervalo: inicio del día 7 (3 dpi); final el día 11 (7 dpi).
3. Intervalo: inicio el día 11 (7 dpi); final el día 14 (10 dpi).
4. Intervalo: inicio el día 5 (1 dpi) y final el día 14 (10 dpi).

# **Peso corporal.**

El peso corporal de todos los individuos se midió en gramos y fue registrado el día de la llegada al galpón, asegurando que no había diferencias significativas entre ellos para así conformar los cinco grupos con sus cinco subgrupos respectivos. Posteriormente se registraron los pesos del día 1, 2, 3, 4, 5 (1 dpi), 7 (3 dpi), 11 (7 dpi) y 14 (10 dpi) utilizando una balanza digital. Se obtuvo un promedio diario y uno general de los datos de peso de los grupos experimentales (n=5) y, aquellos pertenecientes a los días post infección (dpi) fueron usados para el cálculo de la ganancia de peso corporal (GPC) durante el intervalo de tiempo correspondiente.



La ganancia de peso diaria (GPD) en cada intervalo de tiempo se calculó usando la siguiente fórmula.

# **Consumo de alimento.**

En base al Manual de crianza de la línea genética COBB 500 (Cobb Vantress, 2018), se calculó la ración de alimento diario necesario para los animales alojados en cada grupo. A través del uso de una balanza digital se pesó el alimento en gramos al inicio del día y se lo colocó en los comederos. Al día siguiente, se pesó el residuo o sobrante y a través de una resta, se obtuvo el consumo de alimento diario (CAD) en gramos. Estos datos, a su vez fueron utilizados para calcular el consumo de alimento promedio (CAP) por animal en cada subgrupo, dividiendo el CAD por el número de animales en cada subgrupo.

El consumo diario promedio de alimento (CDPA) se calculó utilizando los valores del consumo de alimento acumulado, el cual se obtiene sumando la ingesta diaria por subgrupo durante los días del intervalo correspondiente. Luego, este valor se dividió para el número de animales en cada subgrupo y se multiplicó por el número de días correspondientes al intervalo.

La conversión alimenticia (CA) en cada intervalo de tiempo se calculó a través de la siguiente fórmula.



Las fórmulas usadas para calcular los parámetros zootécnicos fueron basadas en el estudio previo (Omar et al., 2020).

# **Mortalidad**

La mortalidad se registró en las plantillas físicas de cada grupo durante la duración del estudio. Esa información fue colocada en una plantilla digital para ser evaluados estadísticamente. Los cadáveres de los pollos muertos fueron mantenidos en fundas rojas para ser autoclavados y posteriormente desechados.

# **Índice de Eficiencia Europeo**

Con los valores de peso, conversión alimenticia y mortalidad, se calculó el Índice de Eficiencia Europeo (IEE). Esta información se colocó dentro de la base de datos digital para evaluarla estadísticamente. El IEE se calculó con la siguiente fórmula:

# ***Toma de muestras de tejido***

# **Eutanasia.**

Se designó un área en el Centro Experimental Uyumbicho, donde al día 15 (11 dpi), en la mañana, se seleccionaron dos individuos al azar de cada subgrupo, en total diez individuos por grupo experimental (n=10). Se les otorgó un código y pasaron al procedimiento de eutanasia. Se utilizó aturdimiento por electrocución y posterior desangramiento, cortando las venas yugulares. Luego, se procedió a colocar las carcasas en un baño de amonio cuaternario para eliminar contaminantes externos y continuar con la toma de muestras.

# **Muestreo.**

Los individuos fueron colocados de cúbito dorsal y a través de la incisión con un bisturí se abrió la piel a la altura de la línea media ventral desde la intersección de las mandíbulas hasta la sección pelviana (Rojas Mencio, 2014). Una vez se retiró la piel, se expusieron los músculos pectorales y otras estructuras anatómicas. Se incidió el borde ventral del esternón en dirección bilateral externa hasta llegar a las intersecciones costocondrales (Martínez Acevedo L., 2012). Después, se retiró el esternón a través del corte de las costillas para poder observar los órganos internos. Se separó el intestino del omento y se lo expuso en su totalidad sobre la bandeja de necropsia. Una vez identificados los segmentos, se cortaron muestras de duodeno, yeyuno e íleon, utilizando una tijera iris (Rojas Mencio, 2014).

Para la muestra de duodeno, se cortó un pedazo de 3cm de la curvatura duodenal. En la muestra de yeyuno, se tomó un pedazo de 3 cm, justo antes de llegar al divertículo de Meckel. Finalmente, la muestra de íleon se tomó de un pedazo de 3cm, de la porción que se encuentra entre los dos ciegos (J. M. Herrera et al., 2018).

Con la tijera iris se cortó longitudinalmente los pedazos seccionados para poder lavarlos en solución salina (0.9%) estéril y así poder eliminar cualquier residuo. Posteriormente se colocaron estos segmentos en formol al 10% para conservar las estructuras durante 48 horas (J. M. Herrera et al., 2018).

# **Limpieza.**

Terminada la fase experimental, se recolectaron los desechos en dos grupos: Infectados y no infectados. Dentro del grupo de desechos infecciosos, se incluyó la cama, sangre, carcasas de pollos infectados con *S.* Infantis, fundas, bandejas, batas, guantes y cualquier implemento utilizado para manipular a los pollos inoculados. Estos fueron autoclavados y desechados de manera segura. Adicionalmente, las instalaciones e insumos (bebederos y comederos), se desinfectaron cada 2 días con amonio cuaternario y cloro durante 3 sesiones, eliminando así el riesgo biológico para futuras crianzas. Posteriormente se realizó un cultivo de las superficies para confirmar la ausencia de *Salmonella*.

# ***Análisis Histomorfométrico***

# **Preparación de las placas histológicas.**

Las placas histológicas se procesaron en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Central del Ecuador.

Las muestras se deshidrataron mediante lavados en serie con alcohol etílico (70-100 %), se diafanizaron con xilol y finalmente se incluyeron en bloques de parafina. Estos bloques se cortaron en tres secciones longitudinales de cuchillas de 5 μm de espesor utilizando un micrótomo rotatorio (Leica RM2235, Wetzlar y Mannheim, Alemania) y se tiñeron con hematoxilina y eosina (tinción HE) (M. A. Šefcová, Santacruz, et al., 2021).

# **Medición de vellosidades.**

Con el uso del microscopio con lente objetivo 4x y su cámara con aumento de 10x, se tomaron 4 fotos con 6 vellosidades de cada una de las placas histológicas y sus correspondientes segmentos, duodeno, yeyuno e íleon. Posteriormente, con el programa Motic Images Plus 2.0 (Motic, Hong Kong, China) se midió el alto de la vellosidad, desde la punta hasta la base y el ancho de estas con una medición transversal en la punta y la base, seguido por la medición de la profundidad de las criptas desde la base de la punta de la cripta, hasta su base (Nain et al., 2012).

# **Cálculo de la superficie intestinal**.

Teniendo en cuenta que la vellosidad es una estructura anatómica tridimensional, en forma de cilindro, se calculó su superficie a través de la siguiente fórmula (Nain et al., 2012).

# **Conteo de las células goblet.**

Con el uso del microscopio con el lente objetivo de 40x y su cámara con aumento de 10x, se tomó la foto de la base de una microvellosidad donde se puedan diferenciar las células goblet. Se realizó un conteo de células goblet por cada 100 células epiteliales (Militaru et al., 2019).

# **Recolección de los datos histomorfométricos.**

Se prepararon placas de los segmentos duodeno, yeyuno e íleon de las unidades experimentales de sus respectivos grupos (n=10). De cada placa se identificaron y midieron 24 vellosidades. De todas las mediciones realizadas se guardaron las imágenes para organizar una galería de fotos. Conjuntamente se identificó la base de las mismas vellosidades medidas anteriormente y se contabilizó el número de células goblet por cada 100 células epiteliales. Los valores numéricos con los valores de las respectivas mediciones y el conteo de las células goblet se organizaron en una plantilla Excel para realizar un promedio por individuo y usar estos datos para el análisis estadístico (n=10).

# **Análisis estadístico**

El análisis estadístico fue realizado a través de la prueba estadística ANOVA y TUKEY, utilizando el programa de análisis estadístico R®.

# **CAPÍTULO V**

# **RESULTADOS**

# **Análisis de los parámetros zootécnicos**

El peso corporal de los pollos se registró antes y después de la infección con *S.* Infantis. Se evidenció que en el día 1 sí hubo una variación significativa (p<0.05) del grupo Lf+SI con el grupo Control y Lf, y a su vez el grupo con la microalga tuvo diferencias comparado con el grupo control y SI. Así mismo, al día 14 (10 dpi) del experimento, se encontró que el grupo Lf+SI+Pb tuvo un peso significativamente menor (p<0.05) que los grupos control, Lf, y SI. El análisis del peso de todos los días del experimento se encuentra detallado en el **Anexo 1** y **2**.

De igual manera, se analizaron los parámetros GPD, CDPA y CA en 4 intervalos de tiempo, los cuales se encuentran detallados en el **Anexo 3.** En este análisis, donde el intervalo 4 recopila todo el periodo post infección, no hubo cambios significativos entre los grupos control, Lf, SI y Lf+SI en ningún parámetro zootécnico analizado. En tanto que, en el grupo Lf+SI+Pb se determinó menor ganancia de peso diaria comparando con el grupo SI, mientras los demás parámetros se mantuvieron sin cambios (**Anexo 3**).

La mortalidad también se evaluó y se encontró que no hubo cambios significativos durante del periodo antes de la infección (del día 1 hasta el día 4 del experimento). Sin embargo, después del desafío con *S*. Infantis (de 1 dpi al 10 dpi) se evidenció que hubo mayor mortalidad en el grupo SI, comparado con todos los demás grupos experimentales (**Anexo 4**).

Se analizó el IEE de los grupos durante el periodo post infección (del 1 dpi al 10 dpi) donde se evidenció que no existe una diferencia estadísticamente significativamente entre los grupos experimentales y el grupo control (**Figura 4**)**.**

**Figura 4.**

*Cálculo del Índice de Eficiencia Europeo (IEE).*

Gráfico, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

*Nota.* El gráfico representa el IEE de las aves pertenecientes a cada grupo experimental desde el día 5 (1 dpi) al 14 (10 dpi), después de la infección con *S.* Infantis. El análisis estadístico se realizó con la prueba ANOVA Y TUKEY con un nivel de significancia de p < 0.05, obteniendo un *p- value* d*e 0.17. La simbología: Lf, L.fermentum; SI, S. Infantis; Pb, P. cruentum, dpi: días post infección.*

# **Análisis de Histomorfometría**

En los segmentos del intestino delgado, la interacción con *S*. Infantis no influenció la altura de las vellosidades comparado con el grupo control. La administración del *L. fermentum*, por otra parte, aumentó la altura de las vellosidades en los segmentos de duodeno y yeyuno. Los pollos expuestos al probiótico tuvieron vellosidades más altas comparado con el grupo Control y el grupo infectado con *S*. Infantis (SI). En el yeyuno, se pudo evidenciar los beneficios del probiótico, incluso en la presencia de *S*. Infantis. El grupo tratado con los dos microorganismos (Lf+SI), aumentó la altura de las vellosidades en el íleon, sin embargo, no se observaron efectos cuando la bacteria probiótica fue administrada de forma individual (Lf) (**Anexo 5**).

En el duodeno y yeyuno, las aves del grupo Lf, mostraron una mayor superficie comparado con el grupo Control y el grupo infectado con *S*. Infantis. En el yeyuno, esta mejora fue observada también en el grupo con probiótico y prebiótico incluso en la presencia de *S*. Infantis. En el íleon, la aplicación simultánea del probiótico y, prebiótico más probiótico, ambos con *S*. Infantis, resultó en valores más altos de superficie comparados con el Control. Así mismo el grupo con ambas bacterias también tuvo mayor superficie que el grupo Lf (**Figura 5**).

La profundidad de las criptas, en el duodeno, fue mayor en el grupo SI, comparado con el grupo Control y Lf. En el íleon, el grupo Control, tuvo mayor profundidad de criptas comparado con los grupos infectados con SI (**Anexo 5**).

El ratio AV/PfCr en el duodeno e íleon, fue menor para el grupo SI comparado con el Control y los grupos con *L. fermentum* y *P, cruentum.* Además, en el duodeno el grupo con las dos bacterias tuvo mayor ratio comparado con el grupo Lf+SI+Pb (**Figura 5**).

Del mismo modo, el número de células goblet en el duodeno, yeyuno e íleon aumentó en animales con ambas bacterias comparado con grupo SI. En el duodeno y yeyuno, se registraron valores más altos en el grupo con el probiótico y también con el prebiótico que en Control. En el yeyuno e íleon el grupo con microalga tuvo mayor contaje de células goblet que los grupos C, Lf y SI (**Figura 5).** Estos resultados, en conjunto estarían asociados a un efecto protector y beneficioso de los tratamientos probióticos y prebióticos en la arquitectura intestinal de las aves, ante una infección con *Salmonella.*

**Figura 5**

*Análisis de histomorfometría intestinal: Superficie (S), Ratio entre Altura de vellosidades y Profundidad de las criptas (AV/PfCr Ratio) y conteo de células goblet (CG) de duodeno, yeyuno e íleon, de los cinco grupos experimentales.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Gráfico, Gráfico de barras  Descripción generada automáticamente | Gráfico, Gráfico de barras  Descripción generada automáticamente | Gráfico, Gráfico de barras  Descripción generada automáticamente |
|  |  | Gráfico, Gráfico de barras  Descripción generada automáticamente |
|  |  |  |

*Nota.* Resultados del efecto de la aplicación de *L. fermentum*, *P. cruentum* y *S.* Infantis sobre la arquitectura del intestino delgado. Los valores de los promedios de los grupos experimentales y su error estándar están representados en un diagrama de barras y pestañas. La simbología: \* indica diferencia significativa con el grupo Control, ▬ indica diferencia con el grupo Lf ;▲ indica diferencia con el grupo SI; ○ indica diferencia con el grupo Lf+SI. Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb, *P. cruentum*, AV, Altura de vellosidades; PfCr Profundidad de criptas; S, Superficie; AV/ PfCr Ratio, Ratio entre Altura de vellosidades y Profundidad de las criptas; CG, Células goblet.

# **CAPÍTULO VI**

# **DISCUSIÓN**

*S*. Infantis se ha convertido en un serovar de importancia en el sector de la producción avícola en Ecuador y su diseminación es considerada relevante para la salud pública (Japón, 2019). Varios estudios ya se han enfocado en probar diferentes opciones para disminuir la colonización de *S*. Infantis en aves, a través del uso de probióticos y prebióticos*,* buscando reemplazar a los promotores de crecimiento de tipo antimicrobiano y que además puedan aportar al desarrollo del crecimiento del ave. Sin embargo, no se encontró información disponible que evalúe el efecto de *S.* Infantis sobre la arquitectura intestinal, debido a que no es considerada un patógeno invasivo específico de las aves en comparación con otros serovares. No obstante, en Ecuador esta serovariedad representa el 83,9% de aislados en pollos de engorde, por lo que su estudio se considera relevante (Berndt et al., 2007; Vinueza-Burgos et al., 2016). En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos del uso conjunto de probióticos (*L. fermentum*) y prebióticos (biomasa de microalgas *P. cruentum*) sobre los parámetros zootécnicos y la arquitectura intestinal de pollos broiler desafiados con *S*. Infantis.

Durante el tiempo de este estudio, la combinación entre *Lactobacillus fermentum*, *Salmonella* y *P.cruentum* aplicada en los primeros días de vida de pollos de engorde, no tuvo ningún efecto al final del experimento sobre la ganancia diaria de peso, consumo diario promedio de alimento y conversión alimenticia, comparados con el grupo control. Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos por Šefcová, Larrea, et al. (2021), quienes también utilizaron el probiótico mencionado y no tuvieron efectos sobre los parámetros zootécnicos evaluados. Sin embargo, el grupo con microalga tuvo menor peso vivo al final del experimento comparado con el grupo control, lo que concuerda con el estudio de Ginzberg et al., (2000) que también utilizó la biomasa de *P. cruentum* al 5% y 10% obteniendo pesos menores al grupo control. Esto podría estar asociado a la alta cantidad de polisacáridos que produce la microalga, que actúan como fibra dietética pudiendo inducir saciedad en el ave y también por el consumo de energía endógena producto de un sistema inmune activo por la infección con *Salmonella* (Awad et al., 2017; Ginzberg et al., 2000).

Sin embargo, el tiempo del estudio también puede haber influido, ya que Šefcová, Santacruz, et al. (2021), en una investigación previa, utilizaron el prebiótico *P. cruentum* durante 30 días obteniendo resultados favorables sobre el peso corporal comparado con el grupo control a partir del día 21.

Al evaluar la mortalidad de los grupos experimentales se evidenció que durante el periodo post infección, las aves del grupo SI tuvieron mayor mortalidad que el grupo control y que el grupo con probiótico y prebiótico, lo cual no ocurrió durante el periodo anterior al desafío con *S.* Infantis. Esto se relaciona con lo descrito en la literatura, la cual indica que si bien *S.* Infantis no se considera un patógeno aviar, es capaz de activar el sistema inmune de las aves a través de su adhesión a las células epiteliales del intestino y su interacción con la microbiota (Awad et al., 2017). Esta interacción, aumenta el consumo de energía endógena y puede disminuir la capacidad de desarrollo de las aves, llegando incluso a causar la muerte en individuos con un sistema inmune ineficiente o dejándolos débiles al punto de no poder competir con sus congéneres por los recursos (Crhanova et al., 2011), lo cual fue evidente en la evaluación de este parámetro en el actual estudio.

Para sopesar el efecto de la mortalidad en cada réplica del estudio sobre el resto de los parámetros zootécnicos se utilizó el Índice de Eficiencia Europeo (IEE). Los promedios de este índice no tuvieron diferencias estadísticamente significativas comparadas con el grupo control, lo cual también se pudo evidenciar en el estudio de Osorio et al,(2010), donde el IEE de aves tratadas con probióticos (*Enterococcus faecium, Pediococcus acidilactici, Bifidobacterium animalis, Lactobacillus salivarius y Lactobacillus reuteri*) no tuvieron diferencias significativas con el grupo control. A pesar de que en el estudio de Osorio et al, (2010), las aves fueron evaluadas a los 42 días de edad, esta investigación no realizó desafíos con patógenos como *Salmonella*. Por este motivo, el impacto del desafío con *S*. Infantis podría ser mejor evaluado en aves de mayor edad (probablemente edad de finalización de producción).

En el análisis de la histomorfometría intestinal, *L. fermentum*, como muchas otras especies de *Lactobacillus*, ha demostrado ser útil para mejorar la arquitectura intestinal de pollos de engorde (Gyawali et al., 2022; Šefcová, Larrea-álvarez, et al., 2021; Wang et al., 2021). De hecho, en el presente estudio esta especie probiótica mejoró la relación de la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas en el duodeno, yeyuno e íleon . Esto está asociado a que la síntesis microbiana de productos fermentados (p. ej., ácidos grasos), modula la proliferación del epitelio intestinal (Koh et al., 2016), y la exposición a las bacterias ácido-lácticas han demostrado acelerar el movimiento del eje cripta-vellosidades de los enterocitos intestinales mediante la activación de integrinas receptoras de colágeno, aumentando así el tamaño de las vellosidades intestinales (Matur, 2012). Así también se ha demostrado que los ácidos grasos ꞷ-3 de *P. cruentum* son capaces de mejorar la morfología intestinal en pollos broiler al intensificar los efectos descritos por probióticos como *Lactobacillus* (Alagawany et al., 2019).

Por otra parte, *S.* Infantis tuvo un efecto negativo en la arquitectura de las criptas intestinales del duodeno e íleon (Awad et al., 2006). Las criptas más profundas se han relacionado con una regeneración activa de las vellosidades, producto de la destrucción de estas ante la colonización de *Salmonella* (Bogucka et al., 2019). Este proceso resulta en un aumento del metabolismo, necesario para la renovación del epitelio. (Criado-Mesas et al., 2021) Es así que, criptas más profundas indican un menor número de células maduras, disminuyendo la utilización del alimento (Deng et al., 2021).

En el análisis de la superficie intestinal, *S.* Infantis no modificó este parámetro en comparación con los animales del grupo control. Por otro lado, los valores medidos del grupo SI, fueron más bajos que los encontrados en los pollos tratados con el probiótico y prebiótico, lo que concuerda con otros estudios en los que se ha desafiado aves con *Salmonella* (Aljumaah et al., 2020; M. Šefcová, Larrea-Álvarez, Larrea-Álvarez, Karaffová, et al., 2020; M. A. Šefcová et al., 2021; Thiam et al., 2021).

Este efecto beneficioso encontrado en el grupo con los tratamientos está asociado a las propiedades antes mencionadas de las bacterias ácido-lácticas y así también a los efectos que tienen las grasas, proteínas y oligosacáridos de *P. cruentum*. Esta microalga acumula ácidos grasos ꞷ-3 como el ácido decosahexaenóico (C22:ꞷ-6) e isopentaenoico (C22:ꞷ-5) (Alagawany et al., 2019; Asgharpour et al., 2015); compuestos que son conocidos por su alto valor nutricional en la producción animal. Adicionalmente, *P. cruentum* produce, zeaxantinas y luteínas (Casas-Arrojo et al., 2021; Erol et al., 2020b). Las luteínas activan la absorción intestinal, aumentando la superficie de la vellosidad. Así también las zeaxantinas promueven procesos metabólicos que ayudan a la altura de las vellosidades intestinales (Csernus et al., 2020).

En este estudio, también se evidenció que la administración de *L. fermentum* y *P.cruentum* aumentó el número de células goblet en el yeyuno e íleon en comparación con el grupo control, a pesar de la infección por *S.* Infantis. Estos hallazgos concuerdan por lo descrito en otros estudios donde el uso de *L. reuteri* que promueve el recuento de células epiteliales, y a partir de esta proliferación y diferenciación, se da un aumento de células goblet (Xie et al., 2019). Así mismo *P. cruentum* ha demostrado aumentar el recuento de células goblet en el intestino delgado (Šefcová, et al., 2021).

De hecho, en pollos expuestos a ambas bacterias (Lf+SI), el recuento de células goblet observado fue elevado; pudiendo asociarse este resultado a la capacidad proliferativa y de diferenciación ya mencionada de *Lactobacillus,* lo que demuestra la utilidad de estos tratamientos para evitar una posible disfunción de la barrera intestinal causada por la colonización de *Salmonella*. Este hallazgo es de importancia ya que las células goblet forman parte de la superficie luminal y producen grandes cantidades de una glicoproteína llamada mucina 2 (Johansson, 2016; Kong et al., 2018).

# **CAPÍTULO VII**

# **CONCLUSIONES**

En los parámetros zootécnicos GPD, CDPA, CA e IEE a esta edad no se identificó un efecto superior de los tratamientos propuestos comparados con el control, los efectos a nivel histológico si son visibles, por lo cual, la evaluación de todo en conjunto podría analizarse también a una edad mayor de las aves.

La inclusión de probióticos y prebióticos mejoró la arquitectura intestinal evaluada según el ratio entre la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas, superficie intestinal y contaje de células goblet.

El tratamiento de pollos broiler con probióticos y prebióticos tiene un efecto benéfico a nivel global sobre el crecimiento de estos.

# 

# **CAPÍTULO VIII**

# **RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar estudios experimentales con una duración de tiempo mayor o igual a 30 días, que permita simular mejor las condiciones reales de producción aviar.

Se recomienda sopesar la mortalidad natural que existe en los grupos de aves sin necesidad de estar asociado a los factores experimentales.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Abebe, E., Gugsa, G., & Ahmed, M. (2020). Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. In *Journal of Tropical Medicine* (Vol. 2020). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2020/4674235

Abudabos, A. M., Aljumaah, M. R., Alkhulaifi, M. M., Alabdullatif, A., Suliman, G. M., & R. AL Sulaiman, A. (2020). Comparative effects of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis on live performance, blood metabolites and intestinal features in broiler inoculated with Salmonella infection during the finisher phase. *Microbial Pathogenesis*, *139*. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103870

Abudabos, A. M., Alyemni, A. H., Dafalla, Y. M., & Khan, R. U. (2018a). The effect of phytogenics on growth traits, blood biochemical and intestinal histology in broiler chickens exposed to Clostridium perfringens challenge. *Journal of Applied Animal Research*, *46*(1), 691–695. https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1383258

Abudabos, A. M., Alyemni, A. H., Dafalla, Y. M., & Khan, R. U. (2018b). The effect of phytogenics on growth traits, blood biochemical and intestinal histology in broiler chickens exposed to Clostridium perfringens challenge. *Journal of Applied Animal Research*, *46*(1), 691–695. https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1383258

Abudabos, A. M., Hussein, E. O. S., Ali, M. H., & Al-Ghadi, M. Q. (2019). The effect of some natural alternative to antibiotics on growth and changes in intestinal histology in broiler exposed to Salmonella challenge. *Poultry Science*, *98*(3), 1441–1446. https://doi.org/10.3382/ps/pey449

Alagawany, M., Elnesr, S. S., Farag, M. R., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Taha, A. E., Tiwari, R., Iqbal Yatoo, M., Bhatt, P., Khurana, S. K., & Dhama, K. (2019). Omega-3 and omega-6 fatty acids in poultry nutrition: Effect on production performance and health. In *Animals* (Vol. 9, Issue 8). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ani9080573

Aljumaah, M. R., Alkhulaifi, M. M., Abudabos, A. M., Alabdullatifb, A., El-Mubarak, A. H., al Suliman, A. R., & Stanley, D. (2020). Organic acid blend supplementation increases butyrate and acetate production in Salmonella enterica serovar Typhimurium challenged broilers. *PLoS ONE*, *15*(6). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232831

Al-Khalaifah, H. S. (2018). Benefits of probiotics and/or prebiotics for antibiotic-reduced poultry. *Poultry Science*, *97*(11), 3807–3815. https://doi.org/10.3382/ps/pey160

Al-Saffar, F., & Al-Samawy, R. (2015). Histomorphological and Histochemical Studies of the Mallard (Anas platyrhynchos)Stomach of the. *Asian Journal of Animal Sciences*.

Asgharpour, M., Rodgers, B., & Hestekin, J. A. (2015). Eicosapentaenoic acid from Porphyridium cruentum: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. *Energies*, *8*(9), 10487–10503. https://doi.org/10.3390/en80910487

Atabaigi Elmi, V., Moradi, S., Ghazi, S., & Rahimi, M. (2020). Effects of Lactobacillus acidophilus and natural antibacterials on growth performance and Salmonella colonization in broiler chickens challenged with Salmonella enteritidis. *Livestock Science*, *233*. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103948

Awad, W. A., Ghareeb, K., Abdel-Raheem, S., & Böhm, J. (2009). Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poultry Science*, *88*(1), 49–55. https://doi.org/10.3382/ps.2008-00244

Awad, W. A., Hess, C., & Hess, M. (2017). Enteric pathogens and their toxin-induced disruption of the intestinal barrier through alteration of tight junctions in chickens. In *Toxins* (Vol. 9, Issue 2). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/toxins9020060

Berndt, A., Wilhelm, A., Jugert, C., Pieper, J., Sachse, K., & Methner, U. (2007). Chicken cecum immune response to Salmonella enterica serovars of different levels of invasiveness. *Infection and Immunity*, *75*(12), 5993–6007. https://doi.org/10.1128/IAI.00695-07

Biasato, I., Ferrocino, I., Biasibetti, E., Grego, E., Dabbou, S., Sereno, A., Gai, F., Gasco, L., Schiavone, A., Cocolin, L., & Capucchio, M. T. (2018). Modulation of intestinal microbiota, morphology and mucin composition by dietary insect meal inclusion in free-range chickens. *BMC Veterinary Research*, *14*(1). https://doi.org/10.1186/s12917-018-1690-y

Bogucka, J., Ribeiro, D. M., Bogusławska-Tryk, M., Dankowiakowska, A., da Costa, R. P. R., & Bednarczyk, M. (2019). Microstructure of the small intestine in broiler chickens fed a diet with probiotic or synbiotic supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *103*(6), 1785–1791. https://doi.org/10.1111/jpn.13182

Camacho, F., Macedo, A., & Malcata, F. (2019). Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review. In *Marine Drugs* (Vol. 17, Issue 6). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/md17060312

Campioni, F., Gomes, C. N., Rodrigues, D. dos P., Bergamini, A. M. M., & Falcão, J. P. (2021). Phenotypic analyses of Salmonella enterica serovar Enteritidis strains isolated in the pre- and post-epidemic period in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *52*(1), 173–183. https://doi.org/10.1007/s42770-020-00392-0

Casas-Arrojo, V., Decara, J., Arrojo-Agudo, M. de los Á., Pérez-Manríquez, C., & Abdala-Díaz, R. T. (2021). Immunomodulatory, antioxidant activity and cytotoxic effect of sulfated polysaccharides from porphyridium cruentum. (s.f.gray) nägeli. *Biomolecules*, *11*(4). https://doi.org/10.3390/biom11040488

Castañeda-Salazar, R., Pereira-Bazurdo, A. N., del Pilar Pulido-Villamarín, A., & Mendoza-Gómez, M. F. (2019). Prevalence of Salmonella spp. in chicken breasts for human consumption in four districts in Bogotá – Colombia. *Infectio*, *23*(1), 27–32. https://doi.org/10.22354/in.v23i1.752

Cobb Vantress. (2018). *Broiler Management Guide*.

Cocciolo, G., Circella, E., Pugliese, N., Lupini, C., Mescolini, G., Catelli, E., Borchert-Stuhlträger, M., Zoller, H., Thomas, E., & Camarda, A. (2020). Evidence of vector borne transmission of Salmonella enterica enterica serovar Gallinarum and fowl typhoid disease mediated by the poultry red mite, Dermanyssus gallinae (De Geer, 1778). *Parasites and Vectors*, *13*(1). https://doi.org/10.1186/s13071-020-04393-8

CONAVE. (2021). *Estadísticas de la producción aviar* .

Corrales-Martinez, J., Ortega-Paredes, D., Šefcová, M. A., Larrea-Álvarez, C. M., de Janon, S., Medina-Santana, J., Molina-Cuasapaz, G., Vinueza-Burgos, C., Revajová, V., Larrea-Álvarez, M., & Calero-Cáceres, W. (2022). A PMAxxTM qPCR Assay Reveals That Dietary Administration of the Microalgae Tetraselmis chuii Does Not Affect Salmonella Infantis Caecal Content in Early-Treated Broiler Chickens. *Veterinary Sciences*, *9*(9). https://doi.org/10.3390/vetsci9090487

Coudert, E., Baéza, E., & Berri, C. (2020). Use of algae in poultry production: a review. In *World’s Poultry Science Journal* (Vol. 76, Issue 4, pp. 767–786). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1830012

Crhanova, M., Hradecka, H., Faldynova, M., Matulova, M., Havlickova, H., Sisak, F., & Rychlik, I. (2011). Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to Salmonella enterica serovar enteritidis infection. *Infection and Immunity*, *79*(7), 2755–2763. https://doi.org/10.1128/IAI.01375-10

Criado-Mesas, L., Abdelli, N., Noce, A., Farré, M., Pérez, J. F., Solà-Oriol, D., Martin-Venegas, R., Forouzandeh, A., González-Solé, F., & Folch, J. M. (2021). Transversal gene expression panel to evaluate intestinal health in broiler chickens in different challenging conditions. *Scientific Reports*, *11*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-021-85872-5

Csernus, B., Biró, S., Babinszky, L., Komlósi, I., Jávor, A., Stündl, L., Remenyik, J., Bai, P., Oláh, J., Pesti-Asbóth, G., & Czeglédi, L. (2020). Effect of carotenoids, oligosaccharides and anthocyanins on growth performance, immunological parameters and intestinal morphology in broiler chickens challenged with Escherichia coli lipopolysaccharide. *Animals*, *10*(2). https://doi.org/10.3390/ani10020347

Denbow, D. M., & Whitton G.C. (2015). *Gastrointestinal Anatomy and Physiology* (Sturkie’s Avian Physiology, Ed.). Academic Press.

Deng, Z., Han, D., Wang, Y., Wang, Q., Yan, X., Wang, S., Liu, X., Song, W., & Ma, Y. (2021a). Lactobacillus casei protects intestinal mucosa from damage in chicks caused by Salmonella pullorum via regulating immunity and the Wnt signaling pathway and maintaining the abundance of gut microbiota. *Poultry Science*, *100*(8). https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101283

Deng, Z., Han, D., Wang, Y., Wang, Q., Yan, X., Wang, S., Liu, X., Song, W., & Ma, Y. (2021b). Lactobacillus casei protects intestinal mucosa from damage in chicks caused by Salmonella pullorum via regulating immunity and the Wnt signaling pathway and maintaining the abundance of gut microbiota. *Poultry Science*, *100*(8). https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101283

Drauch, V., Ibesich, C., Vogl, C., Hess, M., & Hess, C. (2020). In-vitro testing of bacteriostatic and bactericidal efficacy of commercial disinfectants against Salmonella Infantis reveals substantial differences between products and bacterial strains. *International Journal of Food Microbiology*, *328*, 108660. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108660

Duangnumsawang, Y., Zentek, J., & Goodarzi Boroojeni, F. (2021). Development and Functional Properties of Intestinal Mucus Layer in Poultry. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.745849

Dyo, Y. M., & Purton, S. (2018). The algal chloroplast as a synthetic biology platform for production of therapeutic proteins. In *Microbiology (United Kingdom)* (Vol. 164, Issue 2, pp. 113–121). Microbiology Society. https://doi.org/10.1099/mic.0.000599

EFSA, & ECDC. (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, *17*(12). https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926

El-Bahr, S., Shousha, S., Shehab, A., Khattab, W., Ahmed-Farid, O., Sabike, I., El-Garhy, O., Albokhadaim, I., & Albosadah, K. (2020). Effect of dietary microalgae on growth performance, profiles of amino and fatty acids, antioxidant status, and meat quality of broiler chickens. *Animals*, *10*(5). https://doi.org/10.3390/ani10050761

Erol, H. B. U., Menegazzo, M. L., Sandefur, H., Gottberg, E., Vaden, J., Asgharpour, M., Hestekin, C. N., & Hestekin, J. A. (2020a). Porphyridium cruentum grown in ultra-filtered swine wastewater and its effects on microalgae growth productivity and fatty acid composition. *Energies*, *13*(12). https://doi.org/10.3390/en13123194

Erol, H. B. U., Menegazzo, M. L., Sandefur, H., Gottberg, E., Vaden, J., Asgharpour, M., Hestekin, C. N., & Hestekin, J. A. (2020b). Porphyridium cruentum grown in ultra-filtered swine wastewater and its effects on microalgae growth productivity and fatty acid composition. *Energies*, *13*(12). https://doi.org/10.3390/en13123194

FAO. (2013). *Revisión del desarrollo avícola*. www.fao.org/publications

FAO. (2022, August 23). *Producción y productos avícolas*.

FAO, & WHO. (2006). *Probiotics in food : health and nutritional properties and guidelines for evaluation.* Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Gast, R. K. (2013). *Diseases of Poultry*.

Gillespie, J., & Flanders, F. (2010a). *Modern Livestock & Poultry Production* (Octava). Delmar Learning.

Gillespie, J., & Flanders, F. (2010b). *Modern Livestock & Poultry Production* (Delmar Learning, Ed.; Octava).

Ginzberg, A., Cohen, M., Sod-Moriah, U. A., Shany, S., Rosenshtrauch, A., Malis, S. (, & Arad, ). (2000a). Chickens fed with biomass of the red microalga Porphyridium sp. have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 12).

Ginzberg, A., Cohen, M., Sod-Moriah, U. A., Shany, S., Rosenshtrauch, A., Malis, S. (, & Arad, ). (2000b). Chickens fed with biomass of the red microalga Porphyridium sp. have reduced blood cholesterol level and modified fatty acid composition in egg yolk. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 12).

Guiry, M. D. (2012). How many species of algae are there? In *Journal of Phycology* (Vol. 48, Issue 5, pp. 1057–1063). https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x

Gul, K., Singh, P., & Wani, A. A. (2016). Safety of Meat and Poultry. In *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods* (pp. 63–77). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800605-4.00004-9

Gyawali, I., Zeng, Y., Zhou, J., Li, J., Wu, T., Shu, G., Jiang, Q., & Zhu, C. (2022). Effect of novel Lactobacillus paracaesi microcapsule on growth performance, gut health and microbiome community of broiler chickens. *Poultry Science*, *101*(8). https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101912

Hernandez-Patlan, D., Solis-Cruz, B., M. Hargis, B., & Tellez, G. (2020). The Use of Probiotics in Poultry Production for the Control of Bacterial Infections and Aflatoxins. In *Prebiotics and Probiotics - Potential Benefits in Nutrition and Health*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.88817

Herrera, J. M., Huberman, Y., & Felipe, A. (2018). *Evaluación de la protección conferida por Lactobacillus reuteri como probiótico en pollos mediante histomorfometría intestinal.*

Herrera, M., Barrera, A., Torres, E., & Álvarez, G. (2021). *Desarrollo de sistemas de producción que promuevan el uso eficiente de los recursos para la sostenibilidad de aves de corral.* 10–27.

Hristov, H. (2021a). Avian stomach anatomy - A mini review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, *24*, 461–468. https://doi.org/10.15547/bjvm.2311

Hristov, H. (2021b). Avian stomach anatomy - A mini review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, *24*, 461–468. https://doi.org/10.15547/bjvm.2311

Hynd, P. (2019). *Animal Nutrition: From Theory to Practice*. CSIRO Publishing.

Incharoen, T., Yamauchi, K., Erikawa, T., & Gotoh, H. (2010). Histology of intestinal villi and epithelial cells in chickens fed low-crude protein or low-crude fat diets. *Italian Journal of Animal Science*, *9*(4), e82. https://doi.org/10.4081/ijas.2010.e82

Jabib, R., Herrera, L., & Yonairo, B. (2015). Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenia muy particular. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, *16*(1), 1–19.

Japón, M. (2019). *Aislamiento y Serotipificación de Salmonella en carcasas en percha en la ciudad de Quito.* Universidad Central del Ecuador.

Jeni, R. el, Dittoe, D. K., Olson, E. G., Lourenco, J., Corcionivoschi, N., Ricke, S. C., & Callaway, T. R. (2021). Probiotics and potential applications for alternative poultry production systems. *Poultry Science*, *100*(7). https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101156

Johansson, M. E. V., & Hansson, G. C. (2016). Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 16, Issue 10, pp. 639–649). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/nri.2016.88

Kalaba, V., Golić, B., Sladojević, Ž., & Kalaba, D. (2017). Incidence of Salmonella Infantis in poultry meat and products and the resistance of isolates to antimicrobials. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *85*, 012082. https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012082

Khan, S., Moore, R. J., Stanley, D., & Chousalkar, K. K. (2020). The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety. In *Applied and Environmental Microbiology* (Vol. 86, Issue 13). American Society for Microbiology. https://doi.org/10.1128/AEM.00600-20

Koh, A., de Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. In *Cell* (Vol. 165, Issue 6, pp. 1332–1345). Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041

Kong, S., Zhang, Y. H., & Zhang, W. (2018). Regulation of intestinal epithelial cells properties and functions by amino acids. In *BioMed Research International* (Vol. 2018). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2018/2819154

Konig, H. E. (2008). *Anatomie der Vögel: Klinische Aspekte und Propädeutik*.

Lazic, S. E., Clarke-Williams, C. J., & Munafò, M. R. (2018). What exactly is ‘N’ in cell culture and animal experiments? *PLoS Biology*, *16*(4). https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005282

Martínez Acevedo L. (2012). *TÉCNICA DE NECROPSIA EN AVES*. www.veterinariosvs.org

Matur, E., & Eraslan, E. (2012). *The Impact of Probiotics on the Gastrointestinal Physiology*. www.intechopen.com

McGuckin, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, *9*(4), 265–278. https://doi.org/10.1038/nrmicro2538

McNaughton, J., Roberts, M., Smith, B., Carlson, A., Mathesius, C., Roper, J., Zimmermann, C., Walker, C., Huang, E., & Herman, R. (2020). Evaluation of broiler performance and carcass yields when fed diets containing maize grain from transgenic product DP-2Ø2216-6. *Journal of Applied Poultry Research*, *29*(3), 700–711. https://doi.org/10.1016/j.japr.2020.05.004

Mejía, L., Medina, J. L., Bayas, R., Salazar, C. S., Villavicencio, F., Zapata, S., Matheu, J., Wagenaar, J. A., González-Candelas, F., & Vinueza-Burgos, C. (2020a). Genomic Epidemiology of Salmonella Infantis in Ecuador: From Poultry Farms to Human Infections. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547891

Mejía, L., Medina, J. L., Bayas, R., Salazar, C. S., Villavicencio, F., Zapata, S., Matheu, J., Wagenaar, J. A., González-Candelas, F., & Vinueza-Burgos, C. (2020b). Genomic Epidemiology of Salmonella Infantis in Ecuador: From Poultry Farms to Human Infections. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547891

Mejía, L., Medina, J. L., Bayas, R., Salazar, C. S., Villavicencio, F., Zapata, S., Matheu, J., Wagenaar, J. A., González-Candelas, F., & Vinueza-Burgos, C. (2020c). Genomic Epidemiology of Salmonella Infantis in Ecuador: From Poultry Farms to Human Infections. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547891

Militaru, M., Rizac, R. I., Paraschiv, I. A., Panaite, T. D., Vlaicu, P. A., & Ciobotaru, E. (2019). Ileum goblet cell count in chickens fed with rich cellulose diets. *Journal of Comparative Pathology*, *166*, 145. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2018.10.145

Mitjans, M., Barniol, G., & Ferrer, R. (1997). *Mucosal surface area in chicken small intestine during development*.

Mohamed E., Mohamed T., Manal E., Qattan, S. Y. A., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abdel-Moneim, A. M. E., & Alagawany, M. (2020). Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (Vol. 104, Issue 6, pp. 1835–1850). Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/jpn.13454

Nain, S., Renema, R. A., Zuidhof, M. J., & Korver, D. R. (2012). Effect of metabolic efficiency and intestinal morphology on variability in n-3 polyunsaturated fatty acid enrichment of eggs. *Poultry Science*, *91*(4), 888–898. https://doi.org/10.3382/ps.2011-01661

Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzapfel, W. H. (2007). The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, *114*(2), 168–186. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.010

Omar, A. E., Al-Khalaifah, H. S., Mohamed, W. A. M., Gharib, H. S. A., Osman, A., Al-Gabri, N. A., & Amer, S. A. (2020). Effects of Phenolic-Rich Onion (Allium cepa L.) Extract on the Growth Performance, Behavior, Intestinal Histology, Amino Acid Digestibility, Antioxidant Activity, and the Immune Status of Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.582612

OMS. (2020). *Inocuidad de los alimentos*. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety

Pandit, K., Dhote, B. S., Mahanta, D., Sathapathy, S., Tamilselvan, S., Mrigesh, M., & Mishra, S. (2018). Histological, Histomorphometrical and Histochemical Studies on the Large Intestine of Uttara Fowl. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(03), 1477–1491. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.176

Poloni, V., Magnoli, A., Fochesato, A., Cristofolini, A., Caverzan, M., Merkis, C., Montenegro, M., & Cavaglieri, L. (2020). A Saccharomyces cerevisiae RC016-based feed additive reduces liver toxicity, residual aflatoxin B1 levels and positively influences intestinal morphology in broiler chickens fed chronic aflatoxin B1-contaminated diets. *Animal Nutrition*, *6*(1), 31–38. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.11.006

Puente, J., Carcelén, F. C., Miguel Ara, G., Sandra Bezada, Q., Amparo Huamán, C., Santillán, G., Perales, R., Jorge Guevara, V., & Ana Asencios, M. (2019). Effect of supplementation with increasing levels of probiotics on the histomorphometry of the small intestine of Guinea pig (Cavia porcellus). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *30*(2), 624–633. https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16086

Redweik, G. A. J., Stromberg, Z. R., van Goor, A., & Mellata, M. (2020). Protection against avian pathogenic Escherichia coli and Salmonella Kentucky exhibited in chickens given both probiotics and live Salmonella vaccine. *Poultry Science*, *99*(2), 752–762. https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.038

Ricke, S. C. (2021). Prebiotics and alternative poultry production. In *Poultry Science* (Vol. 100, Issue 7). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101174

Rodrigues, I., & Choct, M. (2018a). The foregut and its manipulation via feeding practices in the chicken. *International Journal of Poultry Science*, *97*(9), 3188–3206.

Rodrigues, I., & Choct, M. (2018b). The foregut and its manipulation via feeding practices in the chicken. *International Journal of Poultry Science*, *97*(9), 3188–3206.

Rodriguez, J., & Molina, G. (2021). *Aplicación de una dieta enriquecida con biomasa de microalgas como fuente de prebióticos en pollos broiler*. Universidad Técnica de Cotopaxi.

Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., Garrido-Mesa, J., Vezza, T., Utrilla, M. P., Chueca, N., Garcia, F., Olivares, M., Rodríguez-Cabezas, M. E., & Gálvez, J. (2017). Differential intestinal anti-inflammatory effects of Lactobacillus fermentum and Lactobacillus salivarius in DSS mouse colitis: impact on microRNAs expression and microbiota composition. *Molecular Nutrition and Food Research*, *61*(11). https://doi.org/10.1002/mnfr.201700144

Rojas Mencio, P. (2014). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE CLÍNICA DE AVES*.

Sánchez A., Vayas Tatiana, Mayorga Fernando, & Freire Carolina. (2019). *Sector avícola Ecuador*. 1–4.

Šefcová, M. A., Santacruz, F., Larrea-álvarez, C. M., Vinueza-Burgos, C., Ortega-Paredes, D., Molina-Cuasapaz, G., Rodríguez, J., Calero-Cáceres, W., Revajová, V., Fernández-Moreira, E., & Larrea-álvarez, M. (2021). Administration of dietary microalgae ameliorates intestinal parameters, improves body weight, and reduces thawing loss of fillets in broiler chickens: A pilot study. *Animals*, *11*(12). https://doi.org/10.3390/ani11123601

Šefcová, M., Larrea, M., Larrea, C., Karaffová, V., Ortega-Paredes, D., Vinueza-Burgos, C., Ševčíková, Z., Levkut, M., Herich, R., & Revajová, V. (2021). The probiotic lactobacillus fermentum biocenol CCM 7514 moderates campylobacter jejuni-induced body weight impairment by improving gut morphometry and regulating cecal cytokine abundance in broiler chickens. *Animals*, *11*(1), 1–16. https://doi.org/10.3390/ani11010235

Šefcová, M., Larrea-Álvarez, M., Larrea-Álvarez, C., Karaffová, V., Revajová, V., Gancarčíková, S., Ševčíková, Z., & Herich, R. (2020). Lactobacillus fermentum Administration Modulates Cytokine Expression and Lymphocyte Subpopulation Levels in Broiler Chickens Challenged with Campylobacter coli. *Foodborne Pathogens and Disease*, *17*(8), 485–493. https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2739

Šefcová, M., Larrea-Álvarez, M., Larrea-Álvarez, C., Revajová, V., Karaffová, V., Koščová, J., Nemcová, R., Ortega-Paredes, D., Vinueza-Burgos, C., Levkut, M., & Herich, R. (2020). Effects of Lactobacillus Fermentum supplementation on body weight and pro-inflammatory cytokine expression in Campylobacter Jejuni-challenged chickens. *Veterinary Sciences*, *7*(3). https://doi.org/10.3390/vetsci7030121

Svihus, B., Choct, M., & Classen, H. L. (2013). Function and nutritional roles of the avian caeca: a review. *World’s Poultry Science Journal*, *69*(2), 249–264. https://doi.org/10.1017/S0043933913000287

Thiam, M., Wang, Q., Sánchez, A. L. B., Zhang, J., Zheng, M., Wen, J., & Zhao, G. (2021). Association of heterophil/lymphocyte ratio with intestinal barrier function and immune response to salmonella enteritidis infection in chicken. *Animals*, *11*(12). https://doi.org/10.3390/ani11123498

Torres, C., & Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino? *Gaceta Sanitaria*, *16*, 1–3.

Velhner, M., Milanov, D., & Kozoderovic, G. (2018). Salmonella spp. in poultry: a constant challenge and new insights. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *69*(2), 899. https://doi.org/10.12681/jhvms.18012

Vinueza-Burgos, C., Baquero, M., Medina, J., & de Zutter, L. (2019a). Occurrence, genotypes and antimicrobial susceptibility of Salmonella collected from the broiler production chain within an integrated poultry company. *International Journal of Food Microbiology*, *299*, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.014

Vinueza-Burgos, C., Baquero, M., Medina, J., & de Zutter, L. (2019b). Occurrence, genotypes and antimicrobial susceptibility of Salmonella collected from the broiler production chain within an integrated poultry company. *International Journal of Food Microbiology*, *299*, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.014

Vinueza-Burgos, C., Cevallos, M., Ron-Garrido, L., Bertrand, S., & De Zutter, L. (2016). Prevalence and Diversity of Salmonella Serotypes in Ecuadorian Broilers at Slaughter Age. *PLOS ONE*, *11*(7), e0159567. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567

Walker, W. A. (2008). Mechanisms of action of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, *46*(SUPPL. 2). https://doi.org/10.1086/523335

Wang, B., Gong, L., Zhou, Y., Tang, L., Zeng, Z., Wang, Q., Zou, P., Yu, D., & Li, W. (2021). Probiotic Paenibacillus polymyxa 10 and Lactobacillus plantarum 16 enhance growth performance of broilers by improving the intestinal health. *Animal Nutrition*, *7*(3), 829–840. https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.03.008

WHO. (2015). *WHO ESTIMATES OF THE GLOBAL BURDEN OF FOODBORNE DISEASES*. http://www.who.int/foodsafety/areas\_work/foodborne-diseases/ferg/en/

Wilson, F. D., Cummings, T. S., Barbosa, T. M., Williams, C. J., Gerard, P. D., & Peebles, E. D. (2018). Comparison of two methods for determination of intestinal villus to crypt ratios and documentation of early age-associated ratio changes in broiler chickens1,2,3. *Poultry Science*, *97*(5), 1757–1761. https://doi.org/10.3382/ps/pex349

Xie, S., Zhao, S., Jiang, L., Lu, L., Yang, Q., & Yu, Q. (2019). Lactobacillus reuteri Stimulates Intestinal Epithelial Proliferation and Induces Differentiation into Goblet Cells in Young Chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(49), 13758–13766. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06256

Yamauchi, K.-E. (2007). Review of a histological intestinal approach to assessing the intestinal function in chickens and pigs: REVIEW ARTICLE. *Animal Science Journal*, *78*(4), 356–370. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2007.00448.x

Yaqoob, M. U., El-Hack, M. E. A., Hassan, F., El-Saadony, M. T., Khafaga, A. F., Batiha, G. E., Yehia, N., Elnesr, S. S., Alagawany, M., El-Tarabily, K. A., & Wang, M. (2021). The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology. In *Poultry Science* (Vol. 100, Issue 7). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101143

Zhang, H., Li, D., Liu, L., Liu, Y., Xu, L., Zhu, M., & He, X. (2019). Cellular composition and differentiation signaling in chicken small intestinal epithelium. In *Animals* (Vol. 9, Issue 11). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ani9110870

Zhen, W., Shao, Y., Gong, X., Wu, Y., Geng, Y., Wang, Z., & Guo, Y. (2018). Effect of dietary Bacillus coagulans supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens challenged by Salmonella enteritidis. *Poultry Science*, *97*(8), 2654–2666. https://doi.org/10.3382/ps/pey119

# **ANEXOS**

**Anexo 1.**

*Peso corporal en gramos (g) de los grupos experimentales del día 1 al 4 de la crianza previo al desafío con S.* Infanits.

Gráfico, Gráfico de barras

Descripción generada automáticamente

*Nota.* El gráfico representa el peso corporal de las aves pertenecientes a cada grupo experimental del día 1 al 4 de la crianza, antes de la infección con *S.* Infantis. El análisis estadístico se realizó con las pruebas estadísticas ANOVA y TUKEY con un nivel de significancia de p 0.05. La simbología: \* indica diferencia significativa con el grupo Control; ▬ indica diferencia con el grupo Lf ;▲ indica diferencia con el grupo SI; Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb,  *P. cruentum.*

**Anexo 2.**

*Peso corporal en gramos (g) de los grupos experimentales del día 5 (1 dpi) al 14 (10 dpi) de la crianza después del desafío con S. Infantis.*

*Nota.* El gráfico representa el peso corporal de las aves pertenecientes a cada grupo experimental del día 5 (1 dpi) al 14 (10 dpi), después de la infección con *S.* Infantis. El análisis estadístico se realizó con las pruebas estadísticas ANOVA y TUKEY con un nivel de significancia de p < 0.05. La simbología: \* indica diferencia significativa con el grupo Control, ▬ indica diferencia con el grupo Lf ;▲ indica diferencia con el grupo SI; ○ indica diferencia con el grupo Lf+SI. Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb,  *P. cruentum; dpi,* días post infección*.*

**Anexo 3.**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *Parámetros zootécnicos* | | | | | | | | |
| **Intervalo de tiempo** | | **Parámetros Zootécnicos** | **Control** | **Lf** | **SI** | **Lf+SI** | **Lf+SI+Pb** | ***p -value*** |
| **I1** | **Día 5 (1dpi) al 7 (3dpi)** | **GPD (g)** | 25,3 ± 0,88 | 22,3 ± 0,47**\*** | 32,0 ± 0,76**\***▬ | 25,3 ± 0,49▬▲ | 23,0 ± 0,27▲ | 2,26E-08 |
| **CDPA (g)** | 33,7 ± 0,27 | 34,8 ± 0,87 | 35,2 ± 0,83 | 34,7 ± 0,58 | 31,8 ± 0,44▲ | 0,020522 |
| **CA** | 1,34 ± 0,04 | 1,6 ± 0,05**\*** | 1,1 ± 0,02\*▬ | 1,4 ± 0,03▬ | 1,4 ± 0,02▬▲ | 2,66 E-6 |
| **I2** | **Día 7 (3dpi) al 11 (7dpi)** | **GPD (g)** | 32,9 ± 0,44 | 34,4 ± 0,59 | 26,57 ± 1,01\*▬ | 32,23 ± 32,23▲ | 31,37 ± 31,37▲ | 0.00007 |
| **CDPA (g)** | 46,6 ± 0,21 | 46,9 ± 0,85 | 48,7 ± 1,89 | 46,2 ± 0,38 | 44,9 ± 0,32 | 0,2086 |
| **CA** | 1,4 ± 0,02 | 1,4 ± 0,01 | 1,8 ± 0,03\*▬ | 1,4 ± 0,05▲ | 1,4 ± 0,02▲ | 0,0002 |
| **I3** | **Día 11 (7dpi) al 14 (10dpi)** | **GPD (g)** | 44,0 ± 0,52 | 44,0 ± 0,71 | 50,3 ± 1,63\*▬ | 43,6 ± 1,97▲ | 42,3 ± 1,08▲ | 0,00813 |
| **CDPA (g)** | 61,2 ± 0,56 | 61,1 ± 1,30 | 61,2 ± 1,37 | 60,0 ± 0,62 | 59,5 ± 0,76 | 0,716968 |
| **CA** | 1,4 ± 0,01 | 1,4 ± 0,04 | 1,2 ± 0,05 | 1,4 ± 0,06 | 1,4 ± 0,02▲ | 0,035736 |
| **I4** | **Día 5 (1dpi) al 14 (10dpi)** | **GPD (g)** | 34,9 ± 0,25 | 34,91 ± 0,16 | 35,69 ± 0,63 | 34,48 ± 0,60 | 33,16 ± 0,48▲ | 0,033101 |
| **CDPA (g)** | 48,6 ± 0,19 | 48,9 ± 0,97 | 49,9 ± 1,41 | 48,2 ± 0,37 | 46,9 ± 0,32 | 0,234324 |
| **CA** | 1,4 ± 0,01 | 1,4 ± 0,02 | 1,4 ± 0,03 | 1,4 ± 0,02 | 1,4 ± 0,01 | 0,9693 |

*Nota.* Resultados de la evaluación del efecto de la aplicación de probiótico, prebiótico y *S.* Infantis en los parámetros zootécnicos de los cinco grupos experimentales, divididos en cuatro intervalos de tiempo. El análisis estadístico realizó con las pruebas estadísticas ANOVA y TUKEY con un nivel de significancia de p 0.05. La simbología: \* indica diferencia significativa con el grupo Control; ▬ indica diferencia con el grupo Lf ;▲ indica diferencia con el grupo SI; I1, Intervalo 1; I2, Intervalo 2; I3, Intervalo 3, I4, intervalo 4; Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb,  *P. cruentum;* GDP, ganancia diaria de peso; CDPA, consumo diario promedio de alimento; CA, conversión alimenticia; dpi, días post infección.

**Anexo 4.**

Mortalidad %

*Nota.* Mortalidad encontrada en los grupos experimentales, evaluado del día 1 al 4 y del día 5 (1dpi) al 14 (10dpi). El análisis estadístico se realizó con las pruebas estadísticas ANOVA y TUKEY con un nivel de significancia de p 0.05. La simbología: \* indica diferencia significativa con el grupo Control;▲ indica diferencia con el grupo SI. Lf, *L.fermentum*; SI, *S*. Infantis; Pb, *P. cruentum*; dpi, días post infección.

**Anexo 5.**

*Análisis de histomorfometría intestinal Altura de Vellosidades (AV) y Profundidad de las criptas (PfCr) de duodeno, yeyuno e íleon, de los cinco grupos experimentales.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
|  |  |  |

*Nota.* Resultados del efecto de la aplicación de *L. fermentum*, *P. cruentum* y *S.* Infantis sobre la arquitectura del intestino delgado analizados a través de las pruebas estadísticas ANOVA y TUKEY a un nivel de significancia de p 0.05. Los valores de los promedios de los grupos experimentales y su error estándar están representados en un diagrama de barras y pestañas.\* indica diferencia significativa con el grupo C, ▬ indica diferencia con el grupo Lf ;▲ indica diferencia con el grupo SI. Lf, *L.fermentum*; SI, *S.* Infantis; Pb, *P. cruentum*, AV, Altura de vellosidades; PfCr Profundidad de criptas.