



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS DOSIFICACIONES DE UN
ACIDIFICANTE EN POLLOS BROILER, VALORANDO PARÁMETROS
ZOOTÉCNICOS Y CARGA DE PATÓGENOS INTESTINALES
(*SALMONELLA SPP.*, *ESCHERICHIA COLI*), EN SAN JOSÉ DE MINAS.

AUTOR

JUAN JOSÉ CARVAJAL PROAÑO

AÑO

2020



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS DOSIFICACIONES DE UN
ACIDIFICANTE EN POLLOS BROILER, VALORANDO PARÁMETROS
ZOOTÉCNICOS Y CARGA DE PATÓGENOS INTESTINALES
(*SALMONELLA SPP.*, *ESCHERICHIA COLI*), EN SAN JOSÉ DE MINAS.

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor guía

Dr. Martín Alonso Ortíz Vinueza

Autor

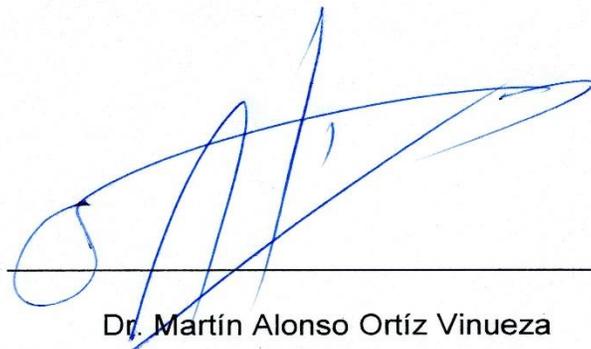
Juan José Carvajal Proaño

Año

2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Evaluación del efecto de dos dosificaciones de un acidificante en pollos broiler, valorando parámetros zootécnicos y carga de patógenos intestinales (*salmonella spp.*, *escherichia coli*), en San José de Minas, a través de reuniones periódicas con el estudiante Juan José Carvajal Proaño, en el semestre 2019-20, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



Dr. Martín Alonso Ortiz Vinueza

CI: 0601272925

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Evaluación del efecto de dos dosificaciones de un acidificante en pollos broiler, valorando parámetros zootécnicos y carga de patógenos intestinales (*salmonella spp.*, *escherichia coli*), en San José de Minas, del estudiante Juan José Carvajal Proaño, en el semestre 2019-20, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

María José Amores

María José Amores Villacrés

Ingeniera Agropecuaria, Mg. Sc.

CI: 171185713-4

DECLARACIÓN AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized, circular shape with internal lines, positioned above a horizontal line.

Juan José Carvajal Proaño

CI: 1718251109

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por no dejarme bajar los brazos, en todas las actividades que he realizado, y todo su cariño en las partes más complicadas que he tenido que afrontar.

A mis hermanos, quienes siempre me han ayudado a mejorar en cada faceta de mi vida.

A mis amigos, con quienes compartí los mejores momentos de mi vida universitaria.

Al Dr. Paz, quién estimuló mi aprendizaje.

A mi tutor quien me guio en mi estudio.

DEDICATORIA

A toda mi familia quien ha sido un pilar fundamental,
para lograr llegar a este momento y culminar esta
etapa de mi vida.

RESUMEN

A nivel mundial el consumo de pollos sigue incrementándose, el uso de aditivos en la nutrición animal cada vez se generaliza en todo el mundo y se reduce el uso de antibióticos como promotores de crecimiento.

A nivel nacional existen pocos estudios de pollos boiler con el uso de acidificantes, de los cuáles apenas dos de ellos profundizan su estudio utilizando pruebas de histología y microbiología. El objetivo del presente estudio es la evaluación del desempeño productivo mediante el uso de parámetros zootécnicos, y la carga patógena de la microbiota intestinal mediante cultivos bacterianos, para comparar el efecto de las dos dosificaciones del acidificante.

El estudio tuvo una población de 450 pollos broiler línea Cobb, divididos aleatoriamente en 3 grupos, con una muestra poblacional de 150 aves. Los tres grupos fueron divididos con una dosis del acidificante en el agua de bebida: Tratamiento Control (TC), Tratamiento 1 (T1) con 1 ml/l, Tratamiento 2 (T2) con 2ml/l. La duración del estudio en campo fue de 42 días.

Para el análisis estadístico en las muestras de microbiología se utilizó Anova y Tukey. En los parámetros zootécnicos como Consumo Semanal, Ganancia de Peso Semanal, Conversión Alimenticia, Consumo de Agua, Pesos semanales, se utilizó la prueba de Shapiro Wilk para conocer su distribución: 1) en distribución normal se utilizó Anova, Tukey; y, 2) no sigue la distribución normal se utilizó Kruskal Wallis.

La investigación concluye que estadísticamente el T2 (2 ml/l) redujo el conteo de unidades formadoras de colonias de *E. coli*, en la tercera dilución (42d), frente al resto de tratamientos, además no se encontró la presencia de *Salmonella spp.* en el estudio.

El T1 (1 ml/l), es el más eficiente en la conversión alimenticia, rentabilidad, y más cercano al criterio 2 l/kg por ave, mientras que el pH del agua fue de 6, y en T2 fue de 5 pudiendo afectar la ganancia de peso de las aves.

Se acepta la hipótesis alternativa: Los acidificantes líquidos en diferentes dosis mejoran los parámetros zootécnicos y reducen la carga patógena de la microbiota intestinal de aves de engorde.

Palabras claves: Acidificantes, parámetros zootécnicos, *E. coli*, pH

ABSTRACT

Worldwide, the poultry meat consumption continues increase, the use of feed additives in animal nutrition are generalized over the world and the use of antibiotics as growth promoters are decreasing.

Nationally there are few studies of broiler who use acidifiers, which only two of them deepen their study using histology and microbiology tests. The objective of the present study is the evaluation of the productive performance through the use of zootechnical performance, and the pathogenic load of the gut microbiota by means of bacterial cultures, to compare the effect of the two dosages of the acidifier.

The study had a population of 450 broiler cobb, randomly divided into 3 groups, with a population sample of 150 birds. The three groups were divided with a dose of the acidifier in the drinking water: Control Treatment (CT), Treatment 1 (T1) with 1 ml/l, and Treatment 2 (T2) with 2ml/l. The field study had 42 days.

For statistical analysis in microbiology samples, Anova test, and Tukey's test were used. In the zootechnical performance such as Weekly Feed Intake, Weekly Body Weight Gain, Food Conversion Ratio, Water Consumption, Weekly Body Weight, the Shapiro Wilk test was used to determine its distribution: 1) in normal distribution Anova test, Tukey's test was used; and, 2) Kruskal Wallis test does not follow the normal distribution.

The investigation concludes that statistically the T2 (2 ml/l) reduce the count of colony forming units of *E. Coli*, in the third dilution (42d), respect the rest of treatments, furthermore *Salmonella spp.* was not found in the study.

The T1 (1 ml/l), is the most efficient in food conversion ratio, profitability, and closest to the criterion 2 l/kg per bird, while the pH of the water was 6, and T2 of 5 it could affect the weight body gain.

The alternative hypothesis is accepted: Liquid acidifiers in different doses improve zootechnical parameters and reduce the pathogenic load of the gut microbiota.

Key Words: Acidifiers, zootechnical parameters, *E. coli*, pH

INDICE

Capítulo I. Introducción	1
1.1 Objetivos	2
1.1.1 Objetivo General	2
1.1.2 Objetivos Específicos.....	2
1.2 Hipótesis de la Investigación	3
Capítulo II. Marco Teórico.....	4
2.1 La Avicultura Mundial y en el Ecuador	4
2.2 Microbiota Intestinal en las aves de engorde	6
2.3 Promotores de Crecimiento y Aditivos utilizados en la alimentación de aves de engorde	8
2.3.1 Antibióticos como Promotores de Crecimiento (APC).....	9
2.3.2 Aditivos utilizados en la alimentación de aves de engorde	10
2.4 El pH en el agua de bebida	12
Capítulo III. Metodología.....	13
3.1 Ubicación	13
3.2 Población y Muestra	14
3.3 Materiales.....	16
3.3.1 De campo.....	16
3.3.2 De laboratorio	17
3.3.3 Oficina.....	18
3.4 Metodología	19
3.4.1 Diseño Experimental.....	19
3.4.2 Variables en el estudio.....	22
3.4.3 Manejo del estudio – Fase de Campo	25
3.4.4 Fase de Laboratorio.....	35
3.4.5 Análisis estadístico	42
Capítulo IV. Resultados y Discusión	44

4.1 Resultados	44
4.1.1 Consumo semanal de alimento de cada lote	44
4.1.2 Consumo de agua.....	45
4.1.3 Conversión alimenticia de los lotes.....	46
4.1.4 Ganancia de peso semanal por cada lote.....	48
4.1.5 Mortalidad	54
4.1.6 Comparación de los resultados de las unidades formadoras de colonias (UFC) de los días 1 y 42	56
4.1.7 Resultados totales	60
4.1.8 Análisis de Costos	62
4.2 Discusión	63
Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones	66
5.1 Conclusiones.....	66
5.2 Recomendaciones	67
REFERENCIAS	68
ANEXOS	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Producción de pollos (millones) en América Latina en el año 2018</i>	5
Tabla 2 <i>Criterios de Inclusión y Exclusión</i>	14
Tabla 3 <i>Tratamientos en el estudio en campo</i>	20
Tabla 4 <i>Tratamientos en el estudio en el laboratorio</i>	21
Tabla 5 <i>Variables en el estudio</i>	22
Tabla 6 <i>Etapas de alimentación y relación comedero/ave</i>	26
Tabla 7 <i>Consumo acumulado por semana (g)</i>	27
Tabla 8 <i>Consumo de agua durante el estudio (l)</i>	28
Tabla 9 <i>Sistema de vacunación</i>	29
Tabla 10 <i>Consumo semanal de alimento de cada lote (kg)</i>	44
Tabla 11 <i>Test de Kruskal Wallis del consumo semanal de alimento de cada lote</i>	45
Tabla 12 <i>Consumo de agua (l)</i>	45
Tabla 13 <i>Test Kruskal Wallis en el consumo del agua</i>	46
Tabla 14 <i>Conversión alimenticia de los lotes</i>	47
Tabla 15 <i>Prueba de Anova en la conversión del alimento</i>	48
Tabla 16 <i>Ganancia de peso semanal por cada lote durante las 6 semanas del estudio (kg)</i>	48
Tabla 17 <i>Prueba de Anova en la Ganancia de peso</i>	49
Tabla 18 <i>Pesos semanales por lote (kg)</i>	50
Tabla 19 <i>Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 1</i>	50
Tabla 20 <i>Prueba de Tukey en los pesos en la semana 1</i>	51
Tabla 21 <i>Kruskal Wallis en los pesos en la semana 2</i>	51
Tabla 22 <i>Kruskal Wallis en los pesos en la semana 3</i>	52
Tabla 23 <i>Prueba de Tukey en los pesos en la semana 3</i>	52
Tabla 24 <i>Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 4</i>	53
Tabla 25 <i>Prueba de Tukey en los pesos en la semana 4</i>	53
Tabla 26 <i>Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 5</i>	54
Tabla 27 <i>Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 6</i>	54
Tabla 28 <i>Mortalidad (%)</i>	55
Tabla 29 <i>Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la primera dilución en los días 1 y 42</i>	56
Tabla 30 <i>Prueba de Anova de los resultados de las unidades formadoras de colonias en la segunda dilución en los días 1 y 42</i>	57
Tabla 31 <i>Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la tercera dilución en los días 1 y 42</i>	57
Tabla 32 <i>Prueba de Tukey de los resultados de unidades formadoras de colonias en la tercera dilución en los días 1 y 42</i>	58
Tabla 33 <i>Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias de la cuarta dilución en los días 1 y 42</i>	59

Tabla 34 <i>Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la quinta dilución en los días 1 y 42</i>	59
Tabla 35 <i>Resultados totales de los tratamientos</i>	61
Tabla 36 <i>Costos de alimentación</i>	62

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1</i> Partes del Huevo.....	7
Figura 2 Funcionamiento de ácidos orgánicos en bacterias Gram Negativas.....	11
<i>Figura 3</i> Finca Ashoka.....	13
<i>Figura 4</i> Instalaciones en el galpón.....	24
<i>Figura 5</i> Esquema del manejo del alimento en el estudio	25
<i>Figura 6</i> Medición del pH.....	27
<i>Figura 7</i> Pesaje del ave.....	30
<i>Figura 8</i> Toma de muestra cloacal en el día 42	34
<i>Figura 9</i> Rotulación de la caja Petri.....	36
<i>Figura 10</i> Rotulación de Tubos de Ensayo.....	39
<i>Figura 11</i> Porcentaje de mortalidad en el estudio	55

Capítulo I. Introducción

En este nuevo siglo se han presentado nuevos casos de infecciones por bacterias resistentes a antibióticos (OMS, 2017), siendo señalado como una de las causas el uso de antibióticos utilizados como promotores de crecimiento (APC), y de tratamientos terapéuticos en animales de producción (Hume, 2011), razón por lo que la Unión Europea en el año 2006 prohibió el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en producción animal (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2003).

Siendo importante el incremento del consumo de carne de pollo a nivel mundial y nacional, existe preocupación por buscar alternativas al uso de antibióticos con otros aditivos, como por ejemplo el uso de acidificantes. Así, el meta análisis realizado por Polycarpo et al (2017) que evaluó los resultados en 121 artículos científicos publicados entre los años 1991 al 2016, demuestra que existe diferencia significativa sobre la ganancia diaria de peso del antibiótico sobre el acidificante, mientras que, no existe diferencia significativa entre la conversión alimenticia. Todos los estudios utilizaron un control, acidificante y antibiótico. Los ácidos orgánicos y antibióticos utilizados en el estudio son los siguientes:

- Ácidos Orgánicos: Acético, benzoico, butírico, caprílico, cítrico, etilendiaminotetraacético (EDTA), fórmico, fumárico, gálico, glucónico, láctico, málico, fenilacético, propiónico, sórbico, tánico, tartárico.
- Antibióticos: Avilamicina, bacitracina, clopidol, enramicina, flavomicina, furazolidona, oxitetraciclina, salinomicina y virginiamicina.

A nivel nacional se encontraron 12 estudios de aves de engorde con el uso de acidificantes, de los cuáles dos de ellos profundizan su estudio, como los realizados

por Iñiguez (2018), que utilizó la prueba de histología y por Guevara (2004) con un conteo de unidades formadoras de colonias (microbiología).

Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2019), la industria avícola ecuatoriana genera aproximadamente 1,272 millones de dólares anuales, con una participación del 18% en el Producto Interno Bruto Agropecuario.

Ecuador tuvo un decrecimiento entre el año 2017 al 2018, de 140.395 a 139.345 millones de pollos (ESPAC, 2019; ESPAC, s.f.).

El desempeño productivo se valoró mediante la ganancia diaria de peso, conversión alimenticia y mortalidad. Además, se evaluó la carga patógena de *Salmonella*, *E. coli* en muestras de hisopado de cloacas de las aves de los tres tratamientos, para comparar los resultados de las dosificaciones frente al control.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de dos dosificaciones de un acidificante en pollos broiler, valorando parámetros zootécnicos y la carga patógena en la microbiota intestinal (*Salmonella*, *Escherichia coli*), en la parroquia de San José de Minas.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Valorar el desempeño productivo utilizando los parámetros zootécnicos tales como Ganancia de Peso, Conversión Alimenticia Total, Peso Total, para comparar dos dosificaciones de un acidificante.

- Evaluar la carga patógena de la microbiota intestinal mediante cultivos bacterianos en agar Eosina Azul de Metileno (EMB), para medir el efecto de las dos dosificaciones de un acidificante.

1.2 Hipótesis de la Investigación

Los acidificantes líquidos en diferentes dosis generan cambios en los parámetros zootécnicos además de la reducción de la carga patógena de la microbiota intestinal en pollos broiler

Hipótesis Estadística:

- H0: Los acidificantes líquidos en diferentes dosis no mejoran los parámetros zootécnicos y reducen la carga patógena en la microbiota intestinal de pollos broiler.
- H1: Los acidificantes líquidos en diferentes dosis mejoran los parámetros zootécnicos y reducen la carga patógena en la microbiota intestinal de pollos broiler.

Capítulo II. Marco Teórico

2.1 La Avicultura Mundial y en el Ecuador

Según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2018), describen a la industria avícola con algunos problemas que solventar, como por ejemplo la patología de influenza aviar, que en el año 2017 se presentaron brotes en las producciones de China y Estados Unidos, provocando daños (FAO, 2019); aun así, se proyecta que se incremente recayendo en países de economías emergentes o en vías de desarrollo.

Según FAO (2019) la producción de pollos se incrementó en 1.3% en el 2018 sobre el año anterior, llegando a 123,9 mil millones de kilogramos, siendo los países con mayor producción Brasil, Estados Unidos, la Unión Europea, India, China, Argentina, México, Rusia, y Japón.

La producción de pollos en los países en vías de desarrollo es de gran importancia a nivel mundial, según proyecciones para el 2027 representará el 76% del incremento total (OEDEC/FAO, 2018). América Latina presenta grandes productores como Brasil, México, Argentina, Perú Colombia, ubicándose el Ecuador como el décimo productor para el año 2018 con 139.345 millones (WATT GLOBAL MEDIA, 2019; ESPAC, 2019), como se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1

Producción de pollos (millones) en América Latina en el año 2018

Nº	PAÍS	MILLONES DE POLLOS
1	Brasil	5,829.12
2	México	1,836.70
3	Colombia	804
4	Perú	764.18
5	Argentina	711.5
6	Chile	300
7	Bolivia	226.86
8	República Dominicana	215
9	Guatemala	189.67
10	Ecuador	139.34
11	Panamá	107.57
12	Venezuela	105.37
13	Honduras	100
14	Costa Rica	75
15	Paraguay	71.21
16	Nicaragua	63.8
17	El Salvador	55
18	Uruguay	29.84

Modificado de WATT GLOBAL MEDIA, 2019; ESPAC, 2019

Ecuador tuvo un decrecimiento entre el año 2017 al 2018, de 140.395 a 139.345 millones de pollos (ESPAC, 2019; ESPAC, s.f.).

2.2 Microbiota Intestinal en las aves de engorde

La cáscara es una barrera de protección física para evitar la contaminación del exterior y proteger al disco germinal que se convertirá en embrión (Instituto de Estudios del Huevo, 2009; Guamán, *et al.*, 2017; Cason *et al.*, 1994; Roto *et al.*, 2016). La primera línea de defensa que es la cutícula (Figura 2) puede dañarse, por lo que la cáscara está expuesta a que cualquier microorganismo pueda ingresar (Cook, 2003), incrementándose las posibilidades de una transmisión vertical desde la gallina al pollo.

En la investigación de Okamura *et al.* (2007) los resultados presentados demuestran la transmisión vertical en una granja de reproductoras broiler por parte de *Salmonella Gallinarum* (serovariedad) *Pullorum* (biovariedad), sin embargo existen más investigaciones (Bailey *et al.*, 1996; Doyle y Erickson, 2006; Cox, Berrang, y Cason, 2000; Methner *et al.*, 1995; Higenyi, y Kabasa, 2014) que demuestran este tipo de contaminación (Gantois *et al.*, 2009), además de la posibilidad de infectarse con *Campylobacter*, *Salmonella* (otras serovariedades), *Mycoplasma*, *E. coli*.

Se encontró que los huevos contaminados con heces en su superficie van a tener los microorganismos que se encontraban en la superficie dentro de su microbiota, sin embargo la estructura no es la misma (Donaldson *et al.*, 2017), porque también existe contaminación en el oviducto (Gantois *et al.*, 2009), por lo que al nacimiento del pollo, este va a tener una estructura muy parecida a la de su progenitora (Kers *et al.*, 2018), además de alguna contaminación ambiental principalmente por la incubadora comercial (Cason *et al.*, 1994; Cox *et al.*, 1991).

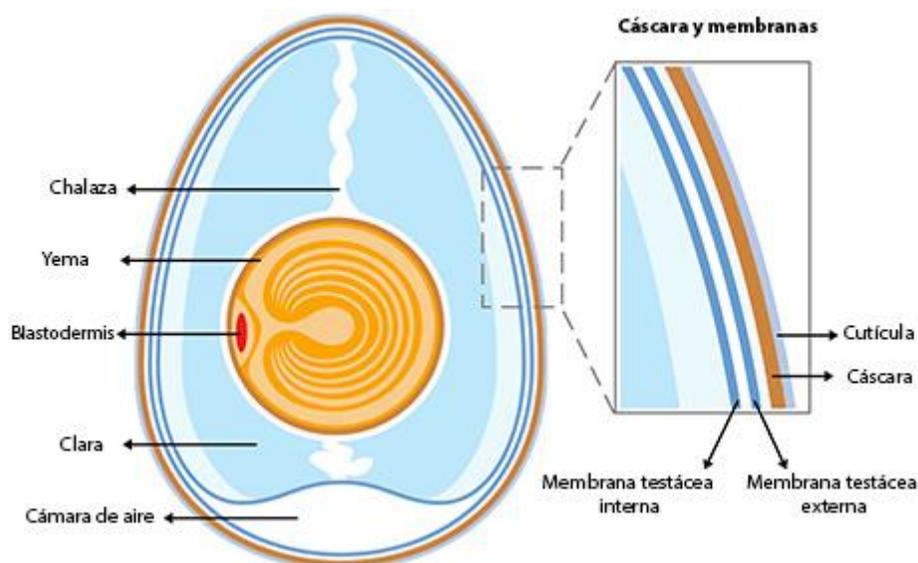


Figura 1. Partes del Huevo. Tomado de Horst, 2007.

El saco vitelino se va introduciendo en el intestino embrionario, sin embargo, la exposición a las bacterias puede llegar a ser fatal ya que estas pueden atacar al embrión (Rosario *et al.*, 2004; Maurer *et al.*, 2002; Pedroso *et al.*, 2006; Dlugolenski *et al.*, 2008), y, según lo encontrado por Raji *et al.*, (2007) la tasa de aislamiento de *E. coli* fue del 4.67% al 7.50% de los embriones muertos de las incubadoras de Simtu Agricultural Company y el Instituto Nacional de Investigación de Producción Animal (NAPRI). La presencia de microorganismos en el tracto digestivo se da desde la conexión del saco vitelino al tracto digestivo (Cortés *et al.*, 2004; Rosario *et al.*, 2004).

Desde las primeras 24 hasta las 48 horas de vida, la colonización bacteriana puede llegar a concentraciones de 1×10^9 Unidades Formadoras de Colonias/gramo (UFC/g) o 1×10^{10} UFC/g de heces, encontrándose *Lactobacillus*, *Clostridium perfringens*, cocos gram positivos, *E. coli* (Robertson, 2015; Blajman *et al.*, 2015), además durante el transporte y la vacunación se presenta una evolución de la microbiota intestinal (Guamán *et al.*, 2017), al llegar a la granja avícola, se encuentran con una microbiota estructurada (Pedroso *et al.*, 2005), como lo encontrado en la investigación de Astudillo y Zhingre (2016), que en una población

de 20 aves de un día, de dos líneas diferentes (Cobb 500 y Ross 308), se encontró a un ave de cada grupo con la bacteria *Escherichia coli* en el saco vitelino.

Según mencionan algunos estudios, se puede encontrar una microbiota intestinal con el 90% de bacterias anaerobias facultativas, como las bacterias ácido lácticas (*Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) y bacterias anaerobias estrictas (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*); mientras que el 10% lo comprenden *E. coli*, *Proteus*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Blastomyces* y *Pseudomonas*, entre otras (Blanch, 2016; Blajman *et al.*, 2015; Huvepharma; 2017).

2.3 Promotores de Crecimiento y Aditivos utilizados en la alimentación de aves de engorde

En la actualidad existen aditivos que se usan para la producción animal, tanto en el alimento balanceado, como en el agua de bebida, como los siguientes:

Probióticos: Son organismos vivos, que permiten reducir a la microbiota patógeno, siendo estos levaduras o bacterias (Franceschi, Iglesias y Pinto, 2011; Tellez, 2018; Robertson, 2015).

Prebióticos: Son elementos no digestibles (azúcares fermentables), y su función es la estimulación selectiva de bacterias saprófitas, se utiliza principalmente carbohidratos, siendo los más usados el Manano Oligosacáridos (Mos), Fructooligosacáridos (FOS), Oligosacárido, Galactooligosacárido, y Xilooligosacáridos (XOS) (Franceschi *et al.*, 2011; Tellez, 2018; Robertson, 2015).

Enzimas: Permiten mejorar la digestibilidad, y se clasifican según su uso como las Carbohidrasas para los carbohidratos, Fitasas para dejar libre al fósforo fítico de la alimentación y pueda ser digestible, Lipasas para los lípidos, Proteasas para las proteínas (Franceschi *et al.*, 2011; Tellez, 2018).

Absorbentes de toxinas: Permite unirse a micotoxinas provocadas por hongos o moho en el alimento, evitando que se genere una disbiosis (Franceschi *et al.*, 2011; Tellez, 2018).

2.3.1 Antibióticos como Promotores de Crecimiento (APC)

En la década de los 40, se conoció que al añadir elementos fermentados de *Streptomyces aureofaciens* en el alimento balanceado mejoraban los rendimientos de producción, y al investigarlo era debido a la presencia de residuos de Clortetraciclina (Torres y Zarazaga, 2002; Greger, 2006), encontrando una relación entre, los antibióticos y mejores resultados en la producción pecuaria, lo que dio origen a la utilización de los antibióticos como promotores de crecimiento (APC) en dosis sub terapéuticas como en los casos de sulfasuxidina, clortetraciclina, estreptotricina y estreptomomicina (Torres y Zarazaga, 2002; Hume, 2011).

En los años 50, se comenzó a utilizar los promotores de crecimiento en el pienso animal y en 1951 la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) aprueba el uso de APC para animales sin receta veterinaria (Congress of the United States, 1979); en esa misma década se dan los primeros casos de resistencia a antibióticos en humanos (Hume, 2011).

En los años 60, comenzó a existir preocupación sobre la relación el uso de APC y el aumento de casos de resistencias a los antibióticos en humanos, sin embargo el uso de APC era muy difundido (Briz, 2006; Ramírez, 2017). Así, en 1969 se publicó el Informe Swann, el cual recomendaba no utilizar los mismos antibióticos en la producción animal que los utilizados en los humanos, ya que se incrementaría el riesgo de resistencias cruzadas (Briz, 2006; Ramírez, 2017).

En los años 70 la Comunidad Económica Europea (CEE) creó la directiva 70/524 (1970) que prohibió el uso de antibióticos para uso animales de producción, que generen residuos en la carne animal, y además que sean usados en humanos como

β -lactámicos, tetraciclinas (Torres y Zarazaga, 2002); los antibióticos aceptados fueron: tilosina, avilamicina, flavofosfolipol, monensina, salinomycin, bacitracina, virginiamicina, espiramicina, y avoparcina (Ramírez, 2017).

La resistencia de las bacterias a los efectos de los antibióticos en humanos generó que en 1997 la Organización Mundial de Salud (2001) publicará una lista de antibióticos que sólo debían usarse para los humanos, posteriormente a este informe, la Unión Europea en el año 2003 creó el Reglamento No 1831/2003, en que se daba hasta el 1 de enero de 2006 como fecha límite para la prohibición del uso de antibióticos como promotores de crecimiento (APC) en producción animal (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2003).

Según la OMS (2017), existen países donde el 80% del consumo total de antibióticos de importancia médica se encuentra como promotores de crecimiento animal.

2.3.2 Aditivos utilizados en la alimentación de aves de engorde

2.3.2.1 Ácidos orgánicos o acidificantes

Son tanto ácidos carboxílicos débiles como ácidos grasos de cadena corta, y se pueden encontrar de dos formas: i) sin disociar (H-COOH), ii) disociada (HCOO⁻ + H⁺); su función es la reducción de bacterias que pueden ser patógenas como por ejemplo *Salmonella* o *E. coli* (Franceschi *et al.*, 2011; Tellez, 2018).

Una ventaja de usar los ácidos orgánicos es el incremento de la parte enzimática en la digestión (Franceschi *et al.*, 2011; Tellez, 2018).

a. Acción sobre las bacterias

La acción sobre la microbiota bacteriana intestinal, se puede describir con cuatro acciones (González *et al.*, 2013; Lituma, 2017; FEFANA, 2014), como se puede observar en la figura 2, y se puede describir de la siguiente manera:

1. La primera acción se da al entrar las moléculas del ácido orgánico no disociado (H-COOH) en la pared celular.
2. La segunda acción es la disociación (forma disociada: $\text{HCOO}^- + \text{H}^+$) del protón (H^+) de la molécula del ácido orgánico dentro de la pared celular, reduciendo el pH.
3. La tercera parte es la eliminación de protones (H^+) por parte de la bacteria, mediante el uso de energía.
4. La cuarta acción se divide en dos etapas: la primera es la interrupción de procesos metabólicos bacterianos, además de la síntesis de ADN; la segunda es el daño del ADN mediante la reducción de pH dentro de la bacteria.

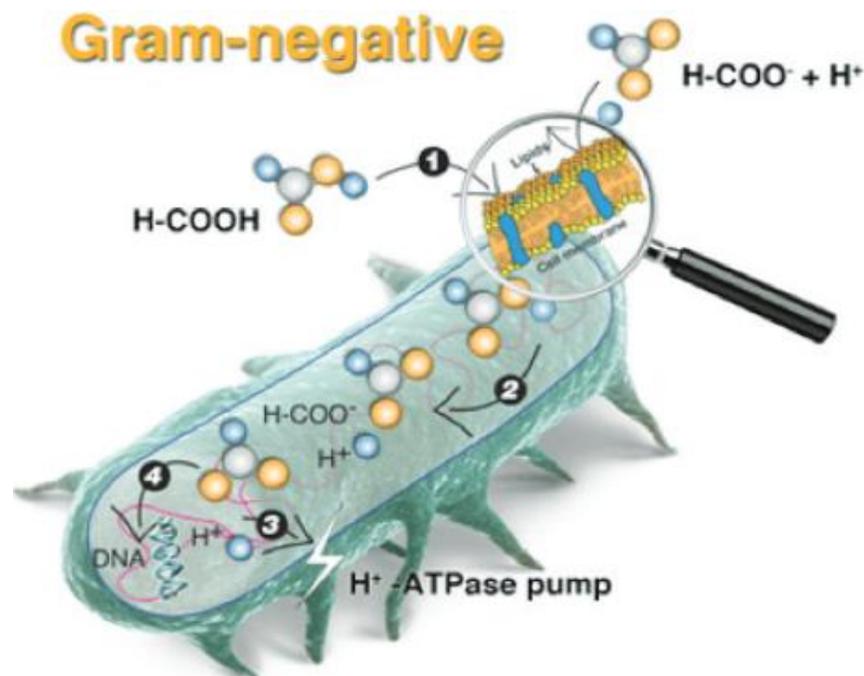


Figura 2. Funcionamiento de ácidos orgánicos en bacterias Gram Negativas. Tomado de FEFANA, 2014.

2.4 El pH en el agua de bebida

El pH, permite conocer la acidez del agua, y va de un rango desde el 1 a 14; calificándose de entre 1 a 6 como pH ácido, 7 como pH neutro, y del 8 al 14 como pH alcalino (UCM, 2015). El pH recomendado es de 6.5 - 8.5 (Bertsh, 2019; Rubio, 2005; Carter y Sneed, 1996).

Si el pH es ácido disminuye la absorción de nutrientes, además pudiendo dañar el sistema de distribución de agua y si el pH es alcalino reduce el efecto de la cloración del agua y permite la formación de adherencias de minerales en el sistema de distribución, permitiendo el crecimiento bacteriano (Bertsch, 2019; Gruyters, 2019).

Según la investigación de Grizzle *et al.* (1996) concluye que pH entre 6.25 a 5.75 generan un riesgo debido a que un pH bajo inhibe la actividad de la pepsina en el estómago, reduciendo la ganancia de peso, además de disminuir la absorción de nutrientes y actividad enzimática (Freitag, 2009; Bertsh, 2019).

Capítulo III. Metodología

3.1 Ubicación

La investigación se llevó a cabo en la finca Ashoka, ubicada en el barrio El Naranjo, parroquia San José de Minas, del Distrito Metropolitano de Quito, provincia de Pichincha.

La temperatura se encuentra entre los 8 a 22°C en el año (GAD San José de Minas, 2015).

La pluviosidad en la zona tiene dos épocas muy marcadas en el año: i) la época conocida como invierno, y que responde a la de mayor pluviosidad, concentrada en los meses de octubre a mayo, con un rango de pluviosidad entre 156.2 a 279.8 mm; y, ii) la época seca conocida como verano, donde se encuentra una menor pluviosidad en los meses de junio a septiembre, con un rango de pluviosidad entre 37 a 111.3 mm (IEE-MAGAP, 2013).

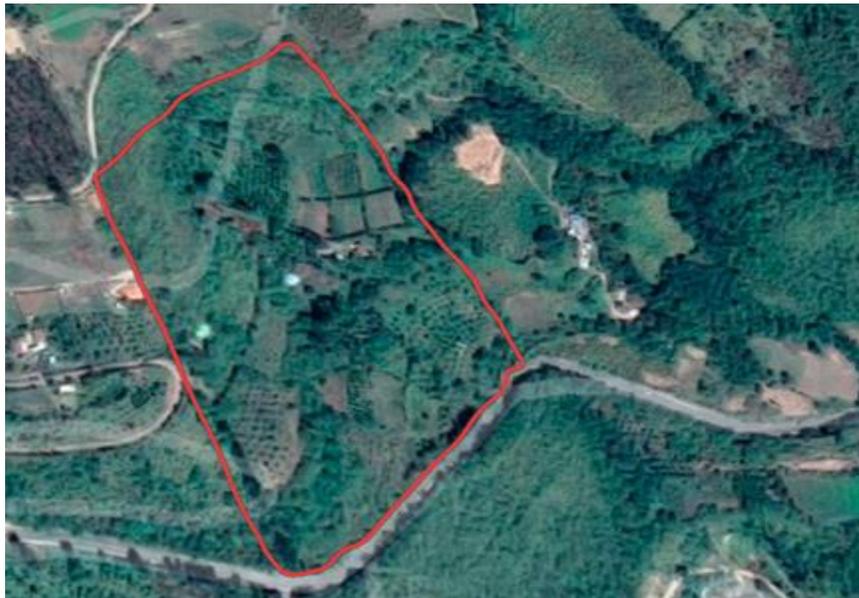


Figura 3 Finca Ashoka. Sus coordenadas geográficas son X: 0.1417969; Y: 78.415943. Recopilado de Google Maps, 2019.

3.2 Población y Muestra

La población para este estudio fue de 450 aves de engorde, que fueron divididos al azar en 3 grupos, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión. Como se puede observar en la tabla 2:

Tabla 2

Criterios de Inclusión y Exclusión

Inclusión	Exclusión
Aves de engorde de un día de nacido	Aves de engorde mayor a 1 día
Aves de engorde línea Cobb	Aves muertas
	Aves de la zona
	Aves de engorde que no sean línea Cobb

Se trabajó con aves de engorde de la estirpe Cobb, la cual es una de las especializadas en producción de carne.

La muestra utilizada fue de 150 aves por cada grupo. El estudio se desarrolló con dos tratamientos experimentales en los que se utilizó acidificantes en el agua de bebida en diferentes dosis y el tratamiento control, en el que no se añadió nada al agua de bebida.

La muestra biológica para el análisis de microorganismos intestinales fue de 8 aves escogidas al azar en cada grupo, de las cuales se extrajeron muestras de heces fecales y con cada muestra se realizaron 5 diluciones y su respectiva siembra en agar EMB.

Cada muestreo (día 1 y día 42):

Control: 8 (aves elegidas al azar) * 5 (diluciones) = 40 Cajas Petri

T1: 8 (aves elegidas al azar) * 5 (diluciones) = 40 Cajas Petri

T2: 8 (aves elegidas al azar) * 5 (diluciones) = 40 Cajas Petri

Total: 120 Cajas Petri

Por lo que, en cada muestreo se evaluaron 120 cajas Petri, y en todo el estudio se evaluaron 240 cajas Petri, que contenían cultivos de bacterias de heces fecales en el medio EMB.

3.3 Materiales

3.3.1 De campo

- Botas
- Overol
- Alimento Comercial (NUTRI UP ALLI MIKUNA®)
- 450 Aves de Engorde
- Balanza Electrónica calibrada por estándares INEN
- 1 Frasco de Vacunas Hipra® New Castle + Bronquitis Infecciosa 500 dosis
- 2 Frasco de Vacunas Hipra® Gumboro Infecciosa 500 dosis
- 1 Frasco de Vacunas Hipra® New Castle Infecciosa 500 dosis
- 55 Medios de Transporte Stuart Copan®
- Pallet
- Caja de Guantes de Nitrilo y Látex
- 300 Cajas Petri Estériles
- Cortinas
- 25 metros de malla
- 1 Litro de PROAQUAT 50
- Aserrín
- Bomba de Fumigación
- Balde Graduado de 15 l
- Vaso Graduado de 1 l
- 3 Criadoras
- 12 Bebederos de 3l
- 6 Bebederos automáticos
- 12 Comederos de 5kg
- 12 Comederos de tolva
- 3 Tanques de 250 l
- 1 Caja de Tiras de pH
- Sobre de 10g de VITAPIO®

3.3.2 De laboratorio

- Frascos de vidrio de 200ml
- 4 Frascos de vidrio BOECO® de 1L
- Vaso de Precipitación BOECO® de 250 ml
- Tubos de vidrio con tapa
- Micropipeta
- Asas de Digralsky
- Hoja de Registro de Colonias
- Mandil
- Tapabocas
- Libreta
- Esferos
- Incubadora
- Dos cajas de fundas Ziploc grandes
- Marcador resistente al agua
- Mechero
- Bandeja
- Refrigeradora
- Cámara de Flujo Laminar
- Rollo de Papel Ecológico
- Microondas
- Fósforos
- Autoclave
- Vortex
- 3 Gradillas
- 300 Cajas Petri
- 1000 Puntas amarillas de 20-200 μ L BOECO®
- 1000 Puntas azules de 100-1000 μ L BOECO®

- 120 tubos de Vidrio con tapa
- 500 gr. Medio de Cultivo EMB, BD®
- 500 gr. Agua Peptonada, BD®
- Agua Destilada
- Etanol 70%

3.3.3 Oficina

- Computadora
- Calculadora

3.4 Metodología

3.4.1 Diseño Experimental

Se llevó a cabo un estudio prospectivo longitudinal experimental. Es prospectivo por que los muestreos se desarrollaron en el día 1 y el 42; longitudinal debido a la medición repetitiva de parámetros zootécnicos desde el día 1 al 42; experimental porque se está administrando un acidificante durante 42 días en varias dosis.

El acidificante usado en el estudio se compone de: ácido acético, ácido láctico, ácido propiónico, ácido tánico, ácido caprílico, zic, cu (Anexo 3.1)

Las aves de engorde fueron divididas en tres grupos, como ya fue mencionado anteriormente y cada grupo tuvo un tratamiento diferente en el agua de bebida como se puede ver en la tabla 3:

Tabla 3

Tratamientos en el estudio en campo

Grupo	Descripción	Dosis Acidificante
Grupo 1 "Control"	Agua de bebida + Alimento Balanceado NUTRI UP ALLI MIKUNA. Día 1 al 12 (semana 1 y 2): Inicial 1. Día 13 al 28 (semana 2 y 4): Crecimiento. Día 29 al 42 (semana 5 y 6): Engorde I.	No se colocó acidificante
Grupo 2 "Tratamiento 1"	Agua de bebida + Alimento Balanceado NUTRI UP ALLI MIKUNA. Día 1 al 12 (semana 1 y 2): Inicial 1. Día 13 al 28 (semana 2 y 4): Crecimiento. Día 29 al 42 (semana 5 y 6): Engorde I.	Acidificante 1 ml/l
Grupo 3 "Tratamiento 2"	Agua de bebida + Alimento Balanceado NUTRI UP ALLI MIKUNA. Día 1 al 12 (semana 1 y 2): Inicial 1. Día 13 al 28 (semana 2 y 4): Crecimiento. Día 29 al 42 (semana 5 y 6): Engorde I.	Acidificante 2 ml/l

En la fase de laboratorio se utilizó el diseño de la tabla 4:

Tabla 4

Tratamientos en el estudio en el laboratorio

Tratamiento	Muestras	Diluciones	Unidades experimentales
Grupo 1 "Control"	8 Muestreos cloacales mediante el medio de transporte Stuart el día 1 y 42.	5 Diluciones por cada muestra	40 Diluciones experimentales por muestreo
Grupo 2 "Tratamiento 1"	8 Muestreos cloacales mediante el medio de transporte Stuart el día 1 y 42	5 Diluciones por cada muestra	40 Diluciones experimentales por muestreo
Grupo 3 "Tratamiento 2"	8 Muestreos cloacales mediante el medio de transporte Stuart el día 1 y 42	5 Diluciones por cada muestra	40 Diluciones experimentales por muestreo

Nota: En cada muestreo se realizó 120 unidades experimentales, y en todo el estudio 240.

3.4.2 Variables en el estudio

Las variables en el estudio son los elementos estudiados en la presente investigación, y se observan en la siguiente tabla:

Tabla 5

Variables en el estudio

Variables	Tipo de variable	Definición	Indicador	Unidad de medida	Instrumento
Consumo Semanal de Alimento	Cuantitativa Dependiente	Cantidad del alimento que se consume por semana	Peso del consumo de balanceado	kg	Medición directa
Consumo de Agua	Cuantitativa Dependiente	Cantidad de agua consumida	Cuantificación de litros de agua consumidos	l	Medición directa
Conversión Alimenticia Semanal	Cuantitativa Dependiente	Es la relación que existe entre el consumo de alimento y el peso del ave por semana	Relación del consumo de balanceado VS el peso ganado por semana	N/A	Medición directa
Conversión Alimenticia Total	Cuantitativa Dependiente	Es la relación que existe entre el consumo de alimento y el peso de las aves, por	Relación del consumo de balanceado VS el peso ganado en todo el estudio	N/A	Medición directa

		cada tratamiento en todo el estudio			
Ganancia de Peso Semanal	Cuantitativa Dependiente	Es el peso que gana cada semana	Diferencia del peso ganado en la semana con el de la semana anterior	kg	Medición directa
Ganancia de Peso Acumulado	Cuantitativa Dependiente	Es el peso ganado en todo el estudio	Diferencia del peso inicial con el final en el estudio	kg	Medición directa
Mortalidad	Cuantitativa Independiente	Aves que murieron durante el estudio	Porcentaje de aves muertas en relación al total de vivas	%	Medición directa
Unidades Formadoras de Colonias Patógenas - UFC	Cuantitativa Dependiente	Unidad mínima para formar una colonia de bacteriana	Cuantificación del número de unidades formadoras de colonias	UFC/g	Medición directa
pH del agua de bebida	Cuantitativa Dependiente	Medición de la acidez	La acidez que tiene el agua de bebida en cada tratamiento.	Escala de pH	Medición directa
Relación agua y alimentación	Cuantitativa Dependiente	Es la relación que existe entre el consumo de agua y del alimento	Relación del consumo de agua VS el consumo de alimento en todo el estudio	l/kg	Medición directa

Nota: N/A - No aplica

3.4.4 Instalaciones en el estudio

La investigación se llevó a cabo en un galpón con una dimensión de 15 x 4 metros con una superficie de 60 m², el cual se dividió una población de 450 aves para los tres tratamientos (Control, T1 - Acidificante 1ml/L, T2 – Acidificante 2ml/L), con una densidad de 7.5 pollos/ m². Como se observa a continuación se encuentran las instalaciones en todo el estudio:

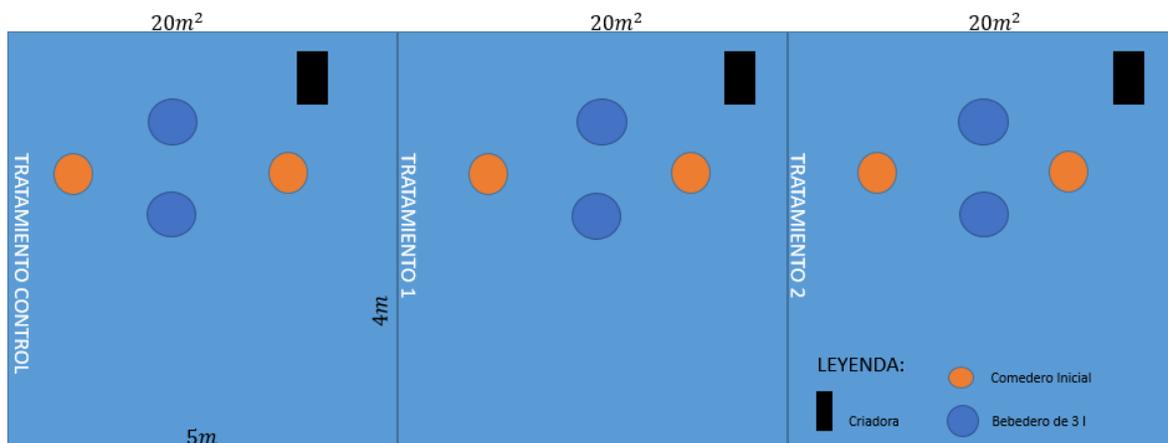


Figura 4. Instalaciones en el galpón

La criadora se utilizó hasta la cuarta semana. En la primera semana se utilizaron dos comederos iniciales, y dos bebederos de 3 l. En la segunda semana se utilizaron cuatro comederos iniciales y cuatro bebederos de 3 l. En la tercera semana se utilizaron cuatro comederos de tolva y cuatro bebederos de 3l. Desde la cuarta hasta la sexta semana se utilizaron cuatro comederos de tolva y dos bebederos automáticos.

Acondicionamiento previo del galpón

Para el acondicionamiento en el galpón se realizó los siguientes pasos: (1) Se hizo la limpieza con escoba de todas las superficies (piso y paredes) del galpón; (2) Se lavó con escoba, agua y jabón para sacar toda la suciedad posible del galpón; (3) Luego de secarse el galpón, se utilizó PROAQUAT 50 (amonio cuaternario) para la desinfección del galpón en una dosis de 1ml/l; (4) Se utilizó viruta para hacer una cama de 5 cm, por lo que se ocuparon 20 sacos de aserrín (desinfectados con PROAQUAT 50), con un peso de 9 kg por saco, con un total de 180 kg de viruta para 60 m².

3.4.3 Manejo del estudio – Fase de Campo

1. Manejo del alimento

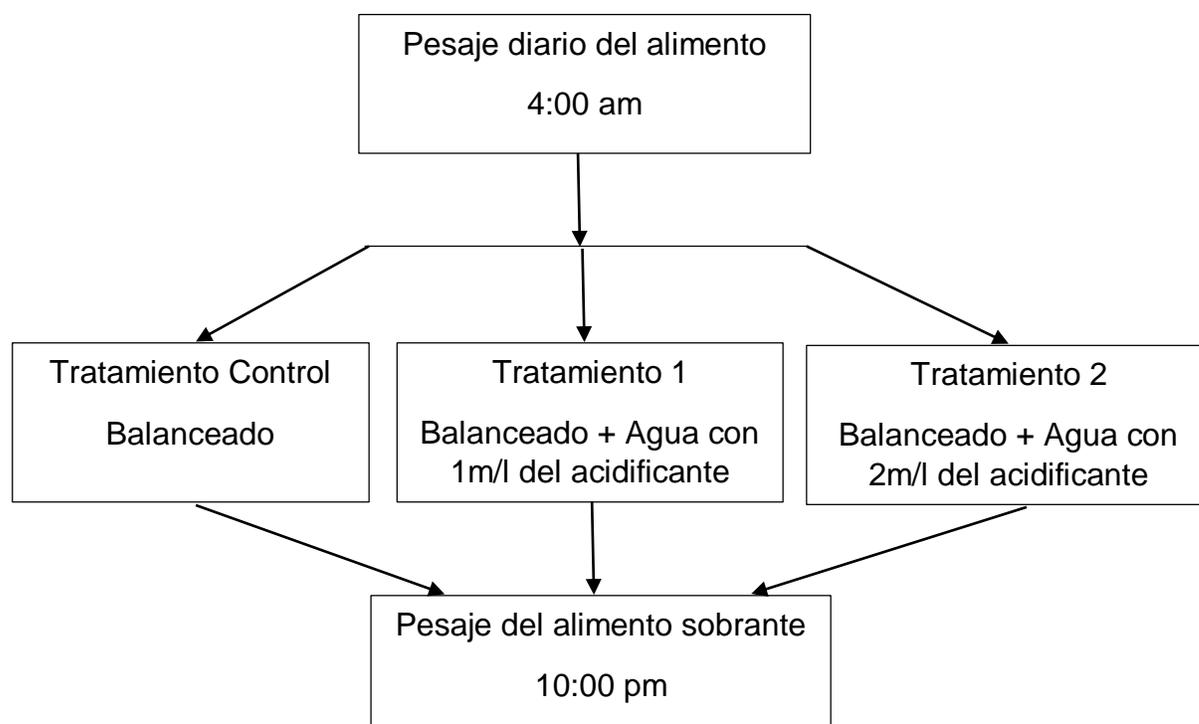


Figura 5. Esquema del manejo del alimento en el estudio

En la alimentación se manejaron tres etapas, como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 6

Etapas de alimentación y relación comedero/ave

Etapas de Alimentación	Días	Tipo de comedero y la relación comedero por ave
Etapa 1 Balanceado Inicial 1	1 – 12	Semana 1: 2 Comederos iniciales de 5kg, con una relación de 75 aves/comedero
		Semana 2: 4 Comederos iniciales de 5kg, con una relación de 38 aves/comedero
Etapa 2 Balanceado de Crecimiento	13 – 28	Semana 3 y 4: 4 Comederos de tolva, con una relación de 38 aves/comedero
Etapa 3 Balanceado de Engorde	29 – 42	Semana 5 y 6: 4 Comederos de tolva, con una relación de 38 aves/comedero

Tomado de Cobb-Vantress, 2018; Anexo 3.3

El manejo de la alimentación en el estudio comenzó desde el pesaje diario del balanceado (Anexo 1.1.7) en la balanza electrónica calibrada por estándares INEN, en la mañana y en la noche (figura 5) diariamente por todo el estudio, además de que los sacos de balanceado no estuvieran en contacto con el piso por lo que se utilizó un pallet para mantener la integridad del balanceado y el desperdicio del balanceado fue eliminado. El consumo se siguió la recomendación por Cobb-Vantress (2018), además que el desperdicio, puede llegar a ser desde de hasta el 30% (Trasgo, 1983), como se puede observar en la tabla 7:

Tabla 7

Consumo acumulado por semana (g)

Semanas	Nuntri Up Alli Mikuna	Cobb-Vantress
1	167	145
2	488.9	541
3	976.4	1239
4	1685.15	2209
5	2596.4	3399
6	3931.9	4760

Tomado de Cobb-Vantress (2018); Anexo 1.1.5; Anexo 3.3;

2. Manejo del agua de bebida en el estudio

Las aves consumieron agua hasta el día 21 en bebederos de 3 l, mientras que desde el día 22 en adelante, se utilizaron bebederos automáticos. El agua de bebida fue medida diariamente hasta el día 21, mientras que desde el día 22 se midió cada 3 días. Se midió mediante tiras de pH la acidez del agua cada día, utilizando una tira en el agua de bebida de cada tratamiento, para su posterior comprobación con la escala de colores al posterior de la caja de tiras de pH y su registro.



Figura 6 Medición del pH

Se utilizó acidificante en el agua de bebida para los tratamientos 1 y 2 desde el día 1 al día 42. El agua de bebida fue colocada según el Anexo 2.3, y se colocó el acidificante según cantidad de agua y el tratamiento (tratamiento 1: 1ml/l y tratamiento 2: 2ml/l). Además se utilizó las vitaminas en el agua de bebida por los tres primeros días, se diluyó 1 g en 10 litros de agua.

Se midió previamente el agua de bebida en un vaso o balde graduado, para posteriormente suministrarlo a las aves, y según correspondía se realizó la medición del consumo, colocando la parte sobrante del agua de bebida en el balde o vaso graduado, para finalmente registrarlo.

El consumo de agua de bebida según lo establecido por la NRC (1994) no fue suficiente, debido a que el agua consumida por las aves fue mayor en el estudio, razón por lo que se incrementó el agua de bebida suministrada a las aves (Anexo 2.3). Como se observa en la tabla 8:

Tabla 8

Consumo de agua durante el estudio (l)

Cobb-Vantress	NRC
50.78	33.75
191.18	72
425.18	108.75
739.88	150
1119.38	187.5
1566.38	225

Tomado de NRC, 1994; Cobb-Vantress, 2018

La relación bebederos por ave: 1) En la semana 1 se utilizaron 2 bebederos de 3 l con una relación de 75 aves/bebedero; 2) Desde la segunda semana hasta la tercera se utilizaron 4 bebederos de 3 l, con una relación de 38 aves/bebedero; 3) Desde la cuarta hasta la sexta semana se utilizaron 2 bebederos automáticos con una relación de 75 aves/bebedero. La relación aves/bebedero es menor a la recomendada por AGROCALIDAD (Anexo 2.4)

Vacunación

Las vacunas utilizadas fueron: 1) Bronquitis Infeciosa + Newcastle; 2) Gumboro. Como se observa en la tabla 9:

Tabla 9

Sistema de vacunación

Día	Vacuna	Vía
7	1. Bronquitis Infeciosa + Newcastle	Vía Ocular
	2. Gumboro	Vía Ocular
14	Gumboro	Vía Ocular
21	Bronquitis Infeciosa + Newcastle	Vía Ocular

Toma de datos de producción

El pesaje de todos los tratamientos se realizó desde las 4:00 am, aprovechando que las aves se encontraban en ayunas. Todas las aves fueron pesadas mediante la balanza electrónica calibrada bajo los estándares INEN. El periodo de pesaje fue semanal en los días 1, 7, 14, 21, 28, 25, 42.

La mortalidad de las aves fue registrada diariamente.



Figura 7 Pesaje del ave.

3.4.3.1 Evaluación de Índices Zootécnicos

a. *Conversión Alimenticia (CA)*: Es el resultado del cálculo entre el alimento consumido dividido para la ganancia de peso del animal (Acurio, 2012; Solla, 2015). La conversión alimenticia se puede calcular semanal o total (todo lo que dure la producción).

$$CA = \frac{\text{Alimento consumido por todo el lote}}{\text{Ganancia de Peso}}$$

b. *Ganancia de Peso*: Es el resultado del cálculo entre el peso inicial y peso final (Acurio, 2012; Abdulazeez *et al.*, 2019).

$$\text{Ganancia de Peso} = \text{Peso Final} - \text{Peso Inicial}$$

c. *Mortalidad*: Número de aves que mueren en el transcurso de la producción (Aviagen, 2015; Aviagen, 2010). El resultado de la mortalidad generalmente es representado en porcentaje (%).

$$Mortalidad = \left(\frac{\text{Número de aves muertas}}{\text{Número de aves vivas}} \right) * 100$$

d. *Relación agua y alimentación* (Ratio water and feed): Es el cálculo entre el consumo del agua y del alimento (Cobb-Vantress, 2018).

$$Relación\ agua\ y\ alimento = \frac{\text{Consumo del Agua Total}}{\text{Consumo del Alimento Total}}$$

3.4.3.2 Muestreos

Se realizaron dos muestreos de heces fecales en el día 1 y 42 del estudio, en la que cada muestreo se colectó 8 muestras al azar mediante el medio de transporte Stuart por cada tratamiento.

Toma de las muestras fecales

a. Rotulación de los medios de transporte Stuart

Para la rotulación de los medios de transporte Stuart se utilizó un marcador permanente de punta fina resistente al agua, para colocar el tratamiento y después el número de la muestra.

Como puede verse a continuación:

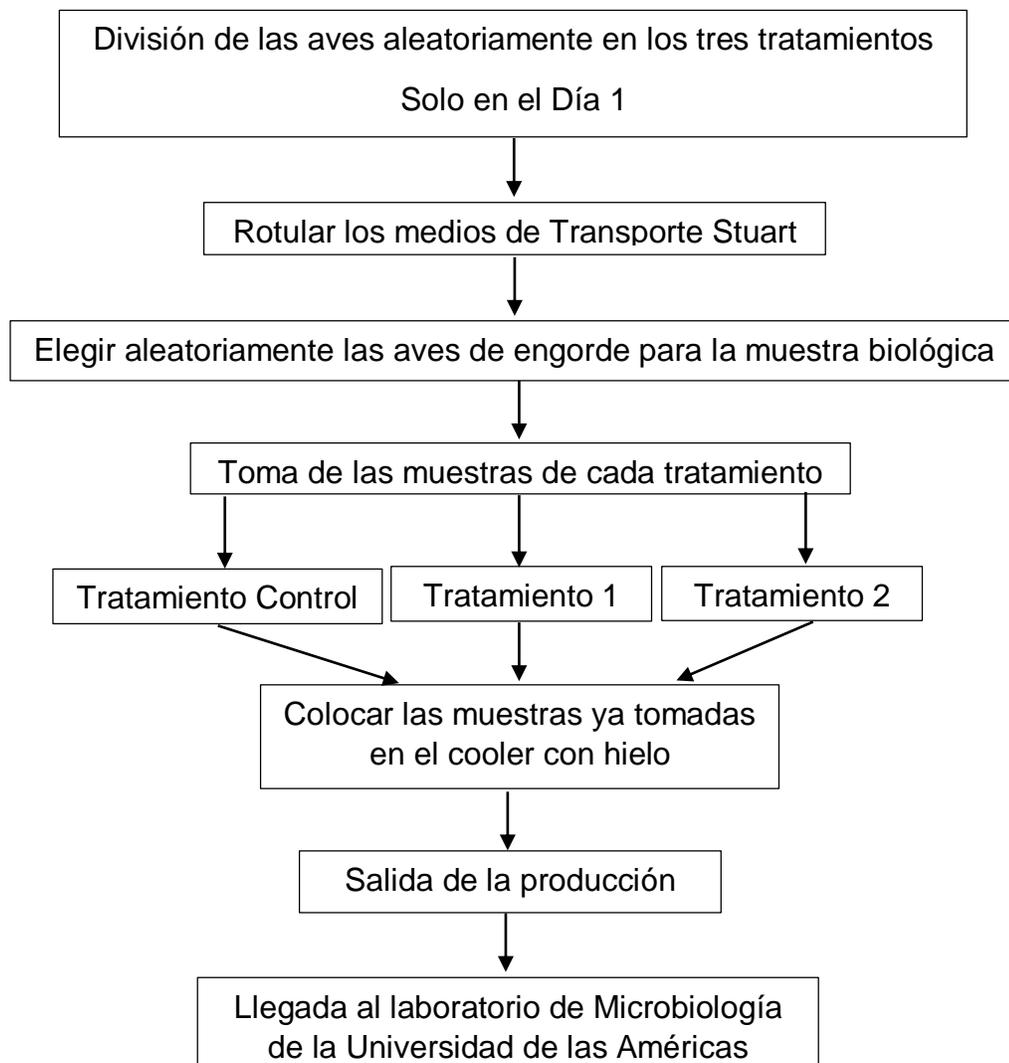
Tratamiento Control: TC – 1

Tratamiento 1: T1 – 1

Tratamiento 2: T2 – 1

Se hicieron 8 muestras por cada tratamiento; no se colocó día porque el primer muestreo se realizó el primer día y el segundo muestreo el día 42.

b. Manejo de las muestras fecales



c. Toma de muestras fecales

La toma de muestras fecales cloacales se las realizó el día 1 y el día 42, siguiendo el siguiente procedimiento:

1. Se rotuló cada medio de transporte Stuart para cada tratamiento.
2. Se colocó guantes de látex en las manos y se cambió por cada muestra.
3. En el día 1, se tomó al ave con una mano, presionando con la misma levemente el vientre, mientras que con la otra se abrió el frasco de orina estéril, dejando que el ave defecue en el frasco, para posteriormente con el hisopo del medio de transporte Stuart, recoger 1g de las heces fecales del frasco de orina estéril, concluyendo con la colocación del hisopo en el medio de transporte Stuart. Se repitió para las 8 muestras en los 3 tratamientos.
4. En el día 42, se tomó a un ave de las patas con una mano, para colocarla entre las piernas, evitando que se mueva, mientras que con la otra mano se sacó el hisopo estéril del medio de transporte Stuart, para posteriormente introducirlo por el esfínter anal rotando el hisopo y aplicando una suave presión, y finalmente mantener el hisopo en la cloaca durante 10 segundos, recogiendo 1 g de heces fecales, concluyendo con la colocación del hisopo en el medio de transporte Stuart. Se repitió para las 8 muestras en los 3 tratamientos.
5. Después de colectadas las muestras (día 1 y día 42), se colocaron en un cooler con hielo a una temperatura de 4-10°C, para el transporte

Se llevaron las muestras hasta el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de las Américas, en las que se realizó las cinco diluciones, para posteriormente sembrarlo en el agar EMB



Figura 8 Toma de muestra cloacal en el día 42

3.4.4 Fase de Laboratorio

3.4.4.1 Procesamiento de las muestras en el laboratorio

Preparación del medio de cultivo Eosina Azul de Metileno (EMB)

Se prepararon 240 medios de Eosina Azul de Metileno (EMB) para esta investigación, realizados todos en la misma fecha, por lo que todos se encontraban rotulados. Se colocaron dentro de fundas ziploc rotuladas dentro de la refrigeradora, para evitar contaminación en los medios de cultivo. Siempre se desinfectaron los guantes antes de la manipulación de todo material dentro de la cámara de flujo laminar.

a. Rotulación de las cajas Petri

Para la rotulación de las cajas Petri se utilizó un marcador permanente de punta fina resistente al agua y se colocó lo siguiente: fecha en la que se realizó el cultivo, medio de cultivo, nombre del investigador. Para posteriormente colocar la fecha en la que se siembre y el número de muestra.

Como puede verse a continuación:

- Colocar la fecha que se realizó el medio de cultivo: 31/07/19
- Medio de cultivo: EMB
- Nombre del investigador: Juan Carvajal
- Fecha en la que se está sembrando: 05/08/19
- Número de la muestra (Tratamiento – Dilución): TC 2 - D4

31/07/19 – EMB – Juan Carvajal – 05/08/19 – TC 2 - D4



Figura 9 Rotulación de la caja Petri

Modificado de Open Clipart Vectors

b. Rotulación de las fundas Ziploc

Para la rotulación de las fundas Ziploc se utilizó un marcador permanente de punta fina resistente al agua y se colocó lo siguiente: fecha en la que se realizó el cultivo, medio de cultivo, nombre del investigador.

Como puede verse a continuación:

- Colocar la fecha que se realizó el medio de cultivo: 31/07/19
- Medio de cultivo: EMB
- Nombre del investigador: Juan Carvajal



Rotulación de funda Ziploc.

Modificado de Wikipedia, 2005.

c. Preparación del medio de cultivo

Para la realización del medio de cultivo Eosina Azul de Metileno (EMB), se realizaron los siguientes pasos:

1. En un frasco de 1 l BOECO se disolvió 36 g del medio de Cultivo deshidratado del medio EMB en 1 l de agua purificada.
2. Se colocó la tapa del frasco y se agitó fuertemente, para mezclar el medio de cultivo, con el agua purificada, evitando hacer espuma.
3. Se calentó el frasco con la tapa semi abierta en el microondas durante aproximadamente 1 minuto, y se sacó antes de que hierva su contenido, para posteriormente agitarlo. Se repitió hasta que el medio de cultivo se encontró disuelto completamente.
4. Se colocó en la autoclave a 121 ° C durante un ciclo que duró una hora.
5. Se prendió la cámara de flujo laminar, y se desinfecto la parte interna mediante el uso de spray con alcohol, para posteriormente colocar por 15 minutos la luz ultravioleta.

6. Se desinfectó con alcohol las fundas que contenían las cajas Petri, además del marcador antes de ingresar a la cámara de flujo laminar, para realizar el rotulado de las cajas Petri. Después de haber rotulado todas las cajas Petri, se colocó en luz ultravioleta por 15 minutos.
7. Se sacó de la autoclave el frasco, para posteriormente transportarlo en una bandeja hacia la cámara de flujo laminar, pero antes de entrar el frasco se le paso papel mojado de alcohol para desinfectarlo.
8. Se agitó suavemente el frasco y se vertió aproximadamente 25 ml por cada caja Petri.
9. Se esperó a que se enfrié y se le dio la vuelta a la caja Petri.
10. Se colocó alcohol por afuera de las fundas de Ziploc grandes, para introducir las a la cámara de flujo laminar.
11. Se abrieron las fundas Ziploc grandes para introducir las cajas Petri, y después se colocó el rotulado a cada una de ellas.
12. Finalmente se colocó las fundas Ziploc en la refrigeradora.

3.4.4.2 Diluciones de las muestras de heces fecales

a. Por qué se deben hacer esas diluciones

Se realizan las diluciones para obtener una muestra representativa, además para obtener aspectos cuantitativos como lo es una distribución más uniforme (Camacho, et al, 2009; Arana, Orruño, Barcina, 2013).

b. Rotulación de los tubos de vidrio con tapa

Para la rotulación de los tubos de vidrio con tapa se utilizó un marcador permanente de punta fina resistente al agua, para colocar el tratamiento y después el número de la muestra, en la parte más cercana a la tapa.

Como puede verse a continuación:

Tratamiento Control: TC – 5

Tratamiento 1: T1 – 5

Tratamiento 2: T2 – 5

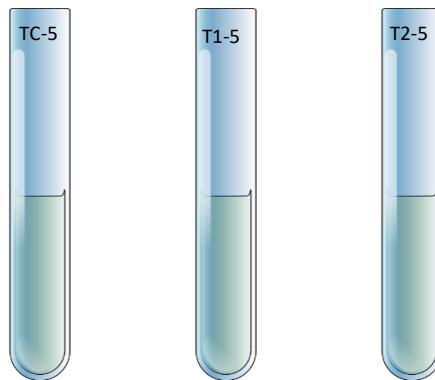


Figura 10 Rotulación de Tubos de Ensayo

Modificado de Clker Free Vector

c. Procedimiento

Para la formación de las diluciones se realizaron los siguientes pasos:

1. Se colocó el tapabocas y guantes antes de comenzar las acciones en el laboratorio.
2. Se rotularon con marcador los tubos de vidrio con tapa con 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , por cada muestra que se hizo.
3. Se colocó 1g de la muestra del medio de transporte Stuart en el tubo de vidrio con tapa que tenga rotulado 10^{-1} , para posteriormente llevarlo al vortex para agitarlo.

4. Se colocó la punta azul 100-1000 μl BOECO en la micropipeta, se cargó 1000 μl del tubo 10^{-1} , y se colocó en el tubo 10^{-2} , para después descartar la punta de la micropipeta en tacho rojo de desechos (guardián) y se procedió a agitar el tubo en el vortex.
5. Se repitió desde el paso 3 con las siguientes diluciones: 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}

3.4.4.3 Siembra en el agar EMB

Para la siembra en el agar EMB se realizaron los siguientes pasos:

1. Se colocó el tapabocas y guantes antes de comenzar las acciones en el laboratorio.
2. Se encendió el mechero
3. Se rotularon las cajas Petri.
4. Se colocaron 75 ml de etanol al 70% en un vaso de precipitados de 250ml BOECO.
5. Se colocaron los tubos de ensayo de las 5 diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) de una muestra en orden, en una gradilla.
6. Se trabajó cerca del mechero con los tubos de ensayo y las cajas Petri, para evitar la contaminación.
7. Se colocó la punta 20-200 μl BOECO en la micropipeta.
8. Se absorbió 100 μl de una de las diluciones con la micropipeta.
9. Se abrió la caja Petri con el agar EMB y se colocó los 100 μl en el centro de la caja Petri.
10. Se colocó el asa de Digralski en el mechero, y se esperó a que se ponga rojo.
11. Se colocó en el vaso con etanol, y se lo sacó rápidamente, esperando a que la llama en el asa de Digralaski se apague, para después esparcir la muestra en toda la superficie del agar.
12. Para terminar se colocó el rotulado respectivo después de sembrarlo.
13. El mismo proceso se siguió para todas las diluciones de cada muestra.

14. Finalmente se llevaron las 120 cajas Petri a la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas.

Método de conteo de las unidades formadoras de colonias

El método de conteo que se utilizó fue el recomendado por Torres (2006), Arana (s.f), Orruño (2013), que establece que si se llega a 300 colonias en la placa se deja de contar, por la dificultad para distinguirlas, identificándola como incontable y si es menor a 30 colonias, se lo identifica como escaso y no se lo utiliza. De esta manera se trabajó con los tres tratamientos.

Cálculo de UFC/g

Es un cálculo que permite conocer las unidades formadoras de colonias que se encuentran en los resultados, como se puede observar en la siguiente fórmula (Torres, 2006; Orruño, 2013; Méndez, s.f.; Arana, s.f.):

$$UFC/g = \frac{(N^{\circ} \text{ de Colonias en la placa} * \text{Inverso de la Dilución})}{\text{Volumen de Siembra}}$$

3.4.5 Análisis estadístico

Prueba de Shapiro Wilk

La finalidad es conocer la distribución de una variable (Dietrichson, 2015; Calvo, Chamorro, De la Vega, Garrido, 2007), como Consumo de Alimento Semanal, Ganancia de Peso Semanal, Conversión Alimenticia, Consumo de Agua, Pesos semanales.

Se utilizó ANOVA para las siguientes variables: Conversión Alimenticia, Ganancia de Peso Semanal, Unidades Formadoras de Colonias Patógenas- UFC.

Se utilizó Kruskal Wallis para las siguientes variables: Consumo Alimento Semanal, Consumo de agua, Peso Semanal

Prueba de Anova

Es una prueba paramétrica cuantitativa, que compara la distribución en más de dos grupos para variables cuantitativas (Bakieva, Such, Jornet, 2010; UNAM, 2014).

Prueba de Kruskal Wallis

Es una prueba no paramétrica cuantitativa que nos permite comparar varios grupos independientes, es equivalente a utilizar Anova de una vía (Dietrichson, 2015; Flores, Miranda, Villasís, 2017;).

Prueba de Tukey

Se utiliza para realizar comparaciones múltiples de las medias individuales de los tratamientos, y permite conocer si existe entre ellas diferencia significativa o no (Pérez, 2020; S.E.F.O., 2019; Benitez, Pece, Galindez, 2007). Se utilizó en el estudio cuando ANOVA o Kruskal Wallis existía diferencia significativa, para conocer que variable era diferente al resto.

Se utilizó ANOVA para las siguientes variables: Peso Semanal, Unidades Formadoras de Colonias Patógenas- UFC.

Porcentaje

Se utilizó estadística descriptiva (De la Calle, 2004) para conocer el porcentaje de mortalidad de cada uno de los tratamientos en todo el estudio.

Capítulo IV. Resultados y Discusión

4.1 Resultados

4.1.1 Consumo semanal de alimento de cada lote

El consumo total del alimento es mayor en el tratamiento control con 689.2 kg, seguido del tratamiento 2 con 668.4 kg y el tratamiento 1 con 656.8 kg. Siendo el tratamiento 1 el de menor consumo. Como puede observarse en la tabla 10:

Tabla 10

Consumo semanal de alimento de cada lote (kg)

Semanas	Control	T1	T2
1	18.7	14.7	14.8
2	58.5	49.8	47.5
3	98.8	92.2	98.0
4	148.4	148.4	147.9
5	174.7	169.1	177.0
6	190.1	182.7	183.3
Consumo Total	689.2	656.8	668.4

El test de Kruskal Wallis señala que no existe diferencia significativa en el consumo semanal de alimento, al ser el p valor > 0.05. Como se puede observar en la tabla 11:

Tabla 11

Test de Kruskal Wallis del consumo semanal de alimento de cada lote

Factor	Statistic	df	p
tratamiento	0.29	2	0.86

4.1.2 Consumo de agua

El consumo de agua presentó diferencias entre los tres tratamientos, encontrando que el tratamiento control fue mayor, con un consumo de 1142.5 l, seguido del tratamiento 1 con 1138.4 l y por último el tratamiento 2 con 1124.5 l de consumo. Como se puede observar en la tabla 12:

Tabla 12

Consumo de agua (l)

Semanas	Control	T1	T2
1	32.0	35.4	33.0
2	94.0	92.0	88.0
3	160.0	154.5	158.5
4	240.5	232.0	237.0
5	284.5	279.5	282.5
6	331.5	345.0	325.5
Consumo Total	1142.5	1138.4	1124.5

Según el test de Kruskal Wallis no existe diferencia significativa en el consumo del agua entre los tres tratamientos al ser el p valor > 0.05 , como se puede observar en la tabla 13:

Tabla 13

Test Kruskal Wallis en el consumo del agua

Factor	Statistic	df	p
tratamiento	0.05	2	0.98

4.1.3 Conversión alimenticia de los lotes

Al hacer una comparación entre los tratamientos, se encuentra que el tratamiento 1 posee la menor conversión alimenticia total de 1.73, seguido del tratamiento 2 con 1.74 y el tratamiento control con 1.84. Como se puede observar en la tabla 14:

Tabla 14

Conversión alimenticia de los lotes

Semanas	Control	T1	T2
1	1.18	0.98	0.91
2	1.72	1.44	1.42
3	1.60	1.40	1.39
4	1.63	1.67	1.70
5	1.94	2.00	2.06
6	2.32	2.02	2.00
Conversión Total	1.84	1.73	1.74

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa al ser el p valor > 0.05 , como se puede observar en la tabla 15:

Tabla 15

Prueba de Anova en la conversión del alimento

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.09	2.00	0.04	0.27	0.76
Residual	2.44	15.00	0.16		

4.1.4 Ganancia de peso semanal por cada lote

El tratamiento 2 es el que tiene la mayor ganancia de peso acumulado con 384.8 kg, presentando una diferencia de 5.3 kg frente al tratamiento 1 y una diferencia de 10.2 kg frente al tratamiento control, como se encuentra en la tabla 16:

Tabla 16

Ganancia de peso semanal por cada lote durante las 6 semanas del estudio (kg)

Semanas	Control	T1	T2
1	15.85	14.9	16.1
2	34.0	34.7	33.4
3	61.7	66.0	70.7
4	91.2	88.8	86.9
5	90.0	84.6	85.9
6	81.8	90.5	91.7
Ganancia de peso acumulado	374.6	379.5	384.8

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa al ser el p valor > 0.05 , como se puede observar en la tabla 17:

Tabla 17

Prueba de Anova en la Ganancia de peso

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	0.16	2.00	0.08	4.04e -3	1.00
Residual	305.32	15.00	20.35		

Pesos semanales de cada lote

El tratamiento 2 presenta el mayor peso total con 390.8 kg, seguido del tratamiento 1 con 385.5 kg, y finalmente el tratamiento control con 380.5 kg. Como se puede observar en la tabla 18:

Tabla 18

Pesos semanales por lote (kg).

	Control	T1	T2
0	5.9	5.9	6.0
1	21.8	20.8	22.1
2	55.8	55.5	55.5
3	117.5	121.5	126.2
4	208.7	206.1	213.1
5	298.7	294.9	299.0
6	380.5	385.5	390.8
Peso Total	380.5	385.5	390.8

Peso en la semana 1 (día 7)

Según el test de Kruskal Wallis señala que existe diferencia significativa entre tratamientos al ser el p valor < 0.05, como se puede observar en la tabla 19:

Tabla 19

Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 1

Factor	Statistic	df	p
grupo	36.33	2	< .001

En la prueba de Tukey no existe diferencia significativa al ser p valor > 0.05 , por lo que todos tratamientos son iguales, como se puede observar en la tabla 20:

Tabla 20

Prueba de Tukey en los pesos en la semana 1

		95% CI for Mean Difference			SE	t	p_{tukey}
		Mean Difference	Lower	Upper			
TC	T1	6.33	-7.03	19.69	5.68	1.11	0.51
	T2	-2.30	-15.66	11.06	5.68	-0.40	0.91
T1	T2	-8.63	-21.99	4.73	5.68	-1.52	0.28

Peso en la semana 2 (día 14)

Según el test de Kruskal Wallis señala que no existe diferencia significativa entre los tratamientos al ser el p valor > 0.05 , como se puede observar en la tabla 21:

Tabla 21

Kruskal Wallis en los pesos en la semana 2

Factor	Statistic	df	p
grupo	2.71	2	0.26

Peso en la semana 3 (día 21)

Según el test de Kruskal Wallis señala que existe diferencia significativa entre los tratamientos al ser el p valor < 0.05 , como se puede observar en la tabla 22:

Tabla 22

Kruskal Wallis en los pesos en la semana 3

Factor	Statistic	df	p
grupo	18.76	2	< .001

La prueba de Tukey confirma que existe diferencia significativa al ser el p valor < 0.05 en el tratamiento 2, con respecto al tratamiento control, mientras que no existe diferencia significativa con el tratamiento 1, al ser similares. Como se puede observar en la tabla 23:

Tabla 23

Prueba de Tukey en los pesos en la semana 3

		95% CI for Mean Difference			SE	t	p _{tukey}
		Mean Difference	Lower	Upper			
TC	T1	-26.84	-68.08	14.40	17.54	-1.53	0.28
	T2	-58.48	-99.72	-17.25	17.54	-3.33	0.00
T1	T2	-31.64	-72.88	9.60	17.54	-1.80	0.17

Peso en la semana 4 (día 28)

Según el test de Kruskal Wallis señala que existe diferencia entre grupos al ser el p valor < 0.05, como se observa en la tabla 24:

Tabla 24

Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 4

Factor	Statistic	df	p
grupo	7.23	2	0.03

En la prueba de Tukey no existe diferencia significativa en los tratamientos al ser el p valor > 0.05, como se observa en la tabla 25:

Tabla 25

Prueba de Tukey en los pesos en la semana 4

		95% CI for Mean Difference			SE	t	p _{tukey}
		Mean Difference	Lower	Upper			
TC	T1	17.57	-55.30	90.45	30.99	0.57	0.84
	T2	-29.63	-102.50	43.25	30.99	-0.96	0.61
T1	T2	-47.20	-120.08	25.68	30.99	-1.52	0.28

Peso en la semana 5 (día 35)

Según el test de Kruskal Wallis señala que no existe diferencia entre grupos al ser el p valor > 0.05, como se puede observar en la tabla 26:

Tabla 26

Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 5

Factor	Statistic	df	p
grupo	1.92	2	0.38

Peso en la semana 6 (día 42)

Según el test de Kruskal Wallis señala que no existe diferencia entre grupos al ser el p valor > 0.05, como se puede observar en la tabla 27:

Tabla 27

Test de Kruskal Wallis en los pesos en la semana 6

Factor	Statistic	df	p
grupo	1.09	2	0.58

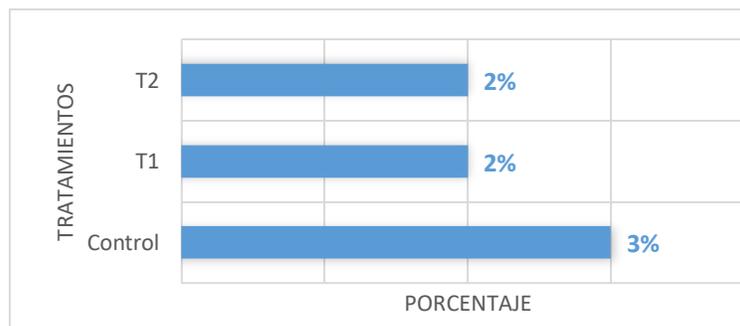
4.1.5 Mortalidad

El mayor porcentaje de mortalidad se encontró en el tratamiento control con 3 %, mientras que, en el tratamiento 1 y 2 se reportó un 2% de mortalidad en ambos casos, como se puede observar en la tabla 28 y figura 11:

Tabla 28

Mortalidad (%)

Semanas	Control	T1	T2
1	0	0	0
2	2	1	1
3	3	2	2
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
TOTAL	5	3	3
PORCENTAJE	3%	2%	2%

*Figura 11* Porcentaje de mortalidad en el estudio

4.1.6 Comparación de los resultados de las unidades formadoras de colonias (UFC) de los días 1 y 42

En los resultados encontrados en las unidades formadoras de colonias de las muestras fecales solo se encontró *E. coli*, mientras que *Salmonella Spp.* no se encontró durante todo el estudio.

Comparación de los resultados de la dilución 10^{-1} de todos los tratamientos en los días 1 y 42

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa, al obtener como resultado un p valor > 0.05 , como se observa en la tabla 29:

Tabla 29

Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la primera dilución en los días 1 y 42

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
tratamiento	1.28e +8	5.00	2.55e +7	0.80	0.55
Residual	1.33e +9	42.00	3.18e +7		

Comparación de los resultados de la dilución 10^{-2} de todos los tratamientos en los días 1 y 42

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa al obtener como resultado un p valor > 0.05 , como se observa en la tabla 30:

Tabla 30

Prueba de Anova de los resultados de las unidades formadoras de colonias en la segunda dilución en los días 1 y 42

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
tratamiento	8.83e +10	2.00	4.41e +10	2.81	0.07
Residual	7.08e +11	45.00	1.57e +10		

Comparación de los resultados de la dilución 10^{-3} de todos los tratamientos en los días 1 y 42

Según la prueba de ANOVA existe diferencia significativa al obtener como resultado un p valor < 0.05, como se observa en la tabla 31:

Tabla 31

Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la tercera dilución en los días 1 y 42

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
tratamiento	3.02e +13	5.00	6.03e +12	4.73	0.00
Residual	5.35e +13	42.00	1.27e +12		

Al analizar la comparación de resultados de las unidades formadoras de colonias (UFC), mediante la prueba de Tukey en la tabla 32, se encontraron diferencias significativas. En el día 1 se encontró que el tratamiento 2 presentó menor carga de unidades formadoras de colonias de *E. coli* respecto al tratamiento 1. En el día 42 el tratamiento 2 presentó menor carga de unidades formadoras de colonias de *E. coli* respecto al tratamiento control; en el tratamiento 1 y 2 no se encontraron diferencias significativas por lo que son similares.

Tabla 32

Prueba de Tukey de los resultados de unidades formadoras de colonias en la tercera dilución en los días 1 y 42

		Mean Difference	95% CI for Mean Difference		t	p _{tukey}
			Lower	Upper		
D1:	D42:TC-10 ⁻³	-271250.0	-1.96e +6	1.41e +6	-0.48	1.00
TC-10 ⁻³	D1:T1-10 ⁻³	-707500.0	-2.39e +6	977464.26	-1.25	0.81
	D42:T1-10 ⁻³	-118750.0	-1.80e +6	1.57e +6	-0.21	1.00
	D1:T2-10 ⁻³	1.10e +6	-586214.26	2.78e +6	1.95	0.39
	D42:T2-10 ⁻³	1.54e +6	-144964.26	3.22e +6	2.73	0.09
D42:	D1:T1-10 ⁻³	-436250.0	-2.12e +6	1.25e +6	-0.77	0.97
TC-10 ⁻³	D42:T1-10 ⁻³	152500.0	-1.53e +6	1.84e +6	0.27	1.00
	D1:T2-10 ⁻³	1.37e +6	-314964.26	3.05e +6	2.43	0.17
	D42:T2-10 ⁻³	1.81e +6	126285.74	3.50e +6	3.21	0.03
D1:	D42:T1-10 ⁻³	588750.0	-1.10e +6	2.27e +6	1.04	0.90
T1-10 ⁻³	D1:T2-10 ⁻³	1.81e +6	121285.74	3.49e +6	3.20	0.03
	D42:T2-10 ⁻³	2.25e +6	562535.74	3.93e +6	3.98	0.00
D42:	D1:T2-10 ⁻³	1.22e +6	-467464.26	2.90e +6	2.16	0.28
T1-10 ⁻³	D42:T2-10 ⁻³	1.66e +6	-26214.26	3.34e +6	2.94	0.06
D1:	D42:T2-10 ⁻³	441250.0	-1.24e +6	2.13e +6	0.78	0.97
T2-10 ⁻³						

Comparación de los resultados de la dilución 10⁻⁴ de todos los tratamientos en los días 1 y 42

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa al obtener como resultado un p valor > 0.05, como se puede observar en la tabla 33:

Tabla 33

Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias de la cuarta dilución en los días 1 y 42

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Tratamiento	5.63e +14	5.00	1.13e +14	1.35	0.26
Residual	3.50e +15	42.00	8.34e +13		

Comparación de los resultados de la dilución 10^{-5} de todos los tratamientos en los días 1 y 42

Según la prueba de ANOVA no existe diferencia significativa, al obtener como resultado un p valor > 0.05, como se puede observar en la tabla 34:

Tabla 34

Prueba de Anova de los resultados de unidades formadoras de colonias en la quinta dilución en los días 1 y 42

Cases	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
tratamiento	7.95e +15	5.00	1.59e +15	1.08	0.38
Residual	6.16e +16	42.00	1.47e +15		

4.1.7 Resultados totales

Los resultados totales de los parámetros zootécnicos, se encuentran relacionados con el índice de consumo de agua y el pH del agua de cada tratamiento.

La relación agua y alimentación fue mayor en el tratamiento 1, con un 1.73 l/kg, seguido del tratamiento 2 con un 1.68 l/kg y el tratamiento control con un 1.66 l/kg. Además al medir el nivel de acidez del agua de bebida, se encontró que el tratamiento 1 presentó un pH de 6, a diferencia del tratamiento control que presentó un pH más básico de 7, mientras que el tratamiento más ácido fue el tratamiento 2 con un pH de 5.

Se puede encontrar que el tratamiento control es mayor tanto en el consumo total, conversión total y menor en el peso total que los tratamientos con acidificante. Así para el consumo total, el tratamiento control llega a 689.2 kg, superando en 32.4 kg al tratamiento 1 y en 20.8 kg al tratamiento 2; y, el peso total en el tratamiento control es de 380.5 kg, siendo menor con 5 kg de peso con el tratamiento 1 y con 10.3 kg de peso con el tratamiento 2. Además, en lo referente a la conversión total, el tratamiento control presenta la mayor conversión con un 1.84 frente a un 1.73 del tratamiento 1 y un 1.74 del tratamiento 2.

Tabla 35

Resultados totales de los tratamientos

	Control	T1	T2
Consumo Total (kg)	689.2	656.8	668.4
Peso Total (kg)	380.5	385.5	390.8
Relación agua y alimentación (l/kg)	1.66	1.73	1.68
pH del agua	7	6	5
Conversión Total	1.84	1.73	1.74

4.1.8 Análisis de Costos

Se encuentra que entre los tratamientos existen diferencias en el costo total de la alimentación, y el costo/pollo. Siendo el tratamiento 1 el más rentable con un costo/pollo de \$2.73, seguido del tratamiento 2 con \$ 2.77 y finalmente del tratamiento control con \$ 2.90.

Tabla 36

Costos de alimentación

Semanas	TC	T1	T2
1	11.50	9.01	9.09
2	35.93	30.56	29.13
3	60.36	56.35	59.88
4	90.70	90.69	90.42
5	106.28	102.83	107.66
6	115.61	111.15	111.48
Total	420.38	400.59	407.67
Costo/Pollo	2.90	2.73	2.77

Extrapolando los resultados a una producción de 10,000 aves de engorde, se puede encontrar que en el tratamiento control se podría presentar un costo de \$28,991.9, seguido del tratamiento 2 con un costo de \$27,732.4 y finalmente el tratamiento 1 con un costo de \$27,250.9.

4.2 Discusión

Con relación al consumo de alimento en el estudio no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, como lo encontrado en el estudio de Rojas *et al.* (2017) con una población de 500 aves por tratamiento, a diferencia del estudio de Nouri, *et al.* (2006) que tuvo una población de 135 aves por tratamiento, en la que se encontró una diferencia significativa con un p valor de < 0.01 frente al resto de tratamientos, además de la investigación de Nezhad *et al.* (2007) con una población de 84 aves por tratamiento en la que se encontró diferencia significativa entre los tratamientos con acidificante frente al control. A pesar de que no se hayan encontrado diferencias significativas en el consumo del alimento si las hay de manera numérica, encontrando similitud a los resultados de otras investigaciones.

En la ganancia de peso no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, coincidiendo con lo encontrado por Cengiz *et al.* (2012), Talebi *et al.* (2010), sin embargo, en la investigación de Carrión (2012), se encontraron diferencias significativas en algunos tratamientos con acidificante.

Además en el estudio el consumo de agua no presentó diferencias significativas entre los tratamientos lo que coincide con la investigación de Marín *et al.* (2013) y Toscano (2016).

Se encontró que la relación agua y alimentación en el estudio fue desde 1.66 al 1.73 l/kg, mientras que según Cobb-Vantress (2018), Singleton (2004), la relación debe ser de 2 l/kg. Además que el pH encontrado en el agua de bebida fue de 7 en el tratamiento control, seguido de 6 en el tratamiento 1 y de 5 en el tratamiento 2; según Grizzle, *et al.* (1996), el rango del pH entre 6.25 a 5.75 pueden llegar a afectar a la ganancia de peso. Por lo que el mejor tratamiento con respecto a la relación agua y alimentación fue del tratamiento 1 con 1.73 l/kg frente a 1.68 l/kg del tratamiento 2; además el pH del tratamiento 1 fue de 6 y la del tratamiento 2 de 5; en la conversión alimenticia total fue 1.73 en el tratamiento 1 y 1.74 en el tratamiento 2. La diferencia en la conversión alimenticia total, fue mejor en el tratamiento 1.

En la investigación de Marín *et al.* (2013) se utilizaron varias mezclas de acidificantes muy similares al utilizado en este estudio, en el que se encontró diferencias significativas entre los tratamientos con acidificantes frente al tratamiento control, en conversión alimenticia, y en el consumo de alimento. Mientras que en la investigación de Parker *et al.* (2006), en los tratamientos que utilizaron acidificante existe diferencia significativa en la conversión alimenticia, y no hay en la ganancia de peso. Por lo que la dilución, y los acidificantes utilizados varían el resultado de los parámetros zootécnicos.

La mortalidad en el estudio fue del 3% en el tratamiento control, mientras que en los tratamiento 1 y 2 fue del 2%. En el estudio de Brzóška *et al.* (2013), se presentó una mortalidad del 2.58% en el tratamiento control y en los tratamientos con acidificante llegando a ser hasta del 0.59%, además en la investigación de Açıkgoz *et al.* (2011), se presentó una mortalidad en el tratamiento control de 5.19% y en el tratamiento con acidificante de 3.18%. El parámetro de mortalidad en el estudio se encuentra en rangos normales, como el descrito por FAO (2003), donde la mortalidad en la industria avícola aceptable se encuentra en el 4%.

Entre las causas de mortalidad se establecen a las infecciones gastrointestinales de etiología desconocida, mas para el caso ecuatoriano, también se señala en los estudios de Guevara (2004) y Carrión (2012) como causas de la mortalidad la altitud, donde, a mayor altura de localización de la producción avícola el nivel de oxígeno disponible se reduce predisponiendo al pollo a mayor problemas respiratorios. Otra causa para la mortalidad es la afectación al sistema respiratorio de las aves, provocado por el hacinamiento en el galpón, sin una ventilación adecuada, donde los altos niveles de amoníaco por las heces fecales, afectan el sistema respiratorio de los pollos (Arias, González, 2017). Otro factor que se presenta es el aumento de la actividad cardíaca como compensación a la diferencia de crecimiento de los pulmones sobre el resto del cuerpo, ocasionando una reducción anormal sobre la presión del oxígeno de la sangre (Dinev, 2007), lo que

finalmente lleva al síndrome ascítico en la mayoría de los casos y algunos al síndrome de muerte súbita.

En los resultados de microbiología se encontraron diferencias significativas en la tercera dilución en el tratamiento 2 (2ml/l), el cual tenía menor carga de unidades formadoras de colonias de *E. coli* respecto al tratamiento control, mientras que en el tratamiento control frente al tratamiento 1, no se encontraron diferencias significativas. Como lo encontrado en la investigación de Emammi *et al.* (2017), sin embargo en la investigación de Samik *et al.* (2007) y la de Roth *et al.* (2017) se encontró diferencia significativa entre los tratamientos con acidificante frente al tratamiento control, reduciendo su carga, además en la investigación de Manafi *et al.* (2016) en la que se añadió fitomoléculas, mananos oligosacáridos y ácidos orgánicos se encontraron diferencias significativas frente al resto de tratamientos reduciendo su carga de *E. coli*.

En el estudio no se encontró *Salmonella spp.* Esta bacteria es muy patógena al provocar dos patologías como lo son Tifosis Aviar (*S. gallinarum*) y Pullorosis (*S. pullorum*), que llegan tener un índice de mortalidad hasta de un 100% de la producción avícola (OIE, 2011; CFSP, 2009; Dinev, 2007). En los estudios de Al Tarazi, *et al.* (2003), Byrd *et al.* (2001), se encontró que el uso de acidificantes inhiben el crecimiento, reduciendo el conteo de unidades formadoras de colonias (Stonerock, 2009). Según Bourassa (2018), el uso de acidificantes previene la colonización de *Salmonella*, como lo demostrado por Hinton y Linton (1988) que al utilizar una mezcla de ácido propiónico y ácido fórmico en una dosis de 6kg/ton era efectiva para la prevención de la colonización por *Salmonella spp.* cuando se encontraba en el alimento balanceado.

Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones

5.1 Conclusiones

Del análisis microbiológico realizado en las muestras de las heces de las aves, de las cinco diluciones no existen diferencias significativas en la primera, segunda, cuarta, y quinta dilución de la presencia de *E. coli*. Al analizar los resultados de la tercera dilución, se encontró diferencias significativas en el día 42, en la que el tratamiento 2 tiene menor carga de unidades formadoras de colonias (UFC) de *E. coli* respecto al tratamiento control, mientras que no existen diferencias significativas entre el tratamiento control con el tratamiento 1, por lo que son similares.

Con lo que se concluye que a pesar de que estadísticamente el tratamiento 2 (2 ml/l) inhibió el crecimiento de *E. coli*; el mejor tratamiento en el estudio es el tratamiento 1 (1 ml/l), porque es el más eficiente en su conversión alimenticia, más rentable en \$7.08 que el tratamiento 2, y además se encuentra más cerca del criterio de 2 l/kg en la relación agua y alimentación, que el resto de tratamientos; mientras que el pH del agua de bebida se encuentra por debajo de lo recomendado (pH 6.25 - 5.75) por Grizzle *et al.* (1996), a diferencia del pH del tratamiento 2 que fue de 5, pudiendo llegar a ser un riesgo para la ganancia de peso de las aves durante todo el tratamiento.

Durante la investigación en los análisis microbiológico de las muestras de heces de las aves, no se encontró *Salmonella spp.* en ninguno de los tres tratamientos. Con lo que se concluye que la casa comercial que se compró la genética, el alimento balanceado, y el manejo en la producción, siguieron los protocolos de bioseguridad adecuados.

Siendo así, esta investigación acepta la hipótesis alternativa: Los acidificantes líquidos en diferentes dosis mejoran los parámetros zootécnicos y reducen la carga patógena en la microbiota intestinal de aves de engorde.

5.2 Recomendaciones

Con los resultados obtenidos se recomienda el uso de ácidos orgánicos como aditivo en la alimentación de las aves de engorde, con la dosificación del tratamiento 1 (1 ml/l), mejorando numéricamente los parámetros zootécnicos y finalmente la rentabilidad de la producción. Además se recomienda utilizar otros aditivos como lo son los probióticos, prebióticos, enzimas con ácidos orgánicos para mejorar la sanidad, y rentabilidad de las producciones avícolas. Como en la investigación de Widiastuti *et al.* (2019), en la que se encontró en el tratamiento con acidificante más probióticos, existían diferencia significativa con respecto al tratamiento control, y el tratamiento solo con acidificante.

Se recomienda investigar en futuras investigaciones las mezclas y dosificaciones de los aditivos en la alimentación de aves de engorde para conocer los niveles que permitan mejorar los parámetros zootécnicos.

Además investigar acerca del bienestar animal en la producción avícola en el país y como afecta a los parámetros zootécnicos.

REFERENCIAS

- Abdulazeez, H., Mohammed, U., Jiddah, M. (2019). Performance and economic parameters of broiler chickens fed baobab (*Adansonia digitata* L.) seed meal as replacement for soyabean meal in semi-arid zone of Nigeria. Recuperado el 11 de diciembre del 2019 de <https://www.longdom.org/global-journal-biology-agriculture-health-sciences/cite-factor.html>
- Aclkgoz, Z., Bayraktar, H., & Altan, O. (2011). *Effects of formic acid administration in the drinking water on performance, intestinal microflora and carcass contamination in male broilers under high ambient temperature. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(1), 96-102.
- Acurio, L. (2012). *Valoración de los indicadores productivos en pollos broilers alimentados con tres niveles de zeolita en Quevedo –Los Ríos*. (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- AGROCALIDAD. (2013). GUÍA DE BUENAS PRÁCTICAS AVÍCOLAS RESOLUCIÓN TÉCNICA N° 0017. Recuperado el 5 de mayo del 2019 de www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/08/guia-avicola.pdf
- AGROCALIDAD. (2016). Manual de aplicabilidad de buenas prácticas avícolas. Recuperado el 23 de febrero de 2020 de www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/manual-avicola-08-11-2016.pdf
- Al Tarazi, Y.H. and Alshawabkeh, K. (2003). *Effect of dietary formic acid and propionic acids on Salmonella pullorum shedding and mortality in layer chicks after experimental infection. Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 50 (3): 112-117.
- Arana, I., Orruño, M., Barcina, I. (2013). How to solve practical aspects of microbiology proposal: New exercises part 1. Recuperado el 27 de octubre del 2019 de https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/4722/mod_resource/content/1/Problems_Part_1.pdf

- Arias, A., González, L.C. (2017). Síndrome de muerte súbita en pollos de engorde (broilers). Universidad Nacional de Colombia. *Seminario presentado en el curso “Fundamentos bioquímicos de los trastornos metabólicos”*. Llevado a cabo en el Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Astudillo, B. y Zhingre, M. (2016). *Evaluación de la calidad microbiológica, serológica al día de recepción y el rendimiento zootécnico en dos líneas genéticas de pollos de engorde*. (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca, Cuenca–Ecuador
- AVIAGEN. (2010). Manual de manejo de Pollo Ross de Carne. Recuperado el 11 de diciembre de http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/Manual-del-pollo-Ross.pdf
- AVIAGEN. (2015). Indian River Broiler Pocket Guide. Recuperado el 11 de diciembre de <https://www.slideshare.net/abdelrahmanyousef/indian-river-broiler-pocket-guide>
- Bailey, J., Buhr, R., Cox, N., y Berrang, M. (1996). *Effect of hatching cabinet sanitation treatments on Salmonella cross-contamination and hatchability of broiler eggs*. *Poultry science*, 75(2), 191-196.
- Bakieva, M., Such, G., y Jornet, J. Y. (2010). *SPSS: ANOVA de un factor*. Universidad de Valencia: Grupo de Innovación Educativa, 1-7.
- Barrera-Barrera, H. M., Rodríguez-González, S. P., & Torres-Vidales, G. (2014). *Efectos de la adición de ácido cítrico y un probiótico comercial en el agua de bebida, sobre la morfometría del duodeno y parámetros zootécnicos en pollo de engorde*. *Orinoquia*, 18(2), 52-62.
- Benitez, C., Pece, M., Galindez M. (2002). Conceptos básicos sobre análisis de la variancia y diseño experimental. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/sd-5-analisis-experimental.pdf>

- Bertsch, G. (2019). Calidad del agua en la producción avícola. Recuperado el 1 de febrero de 2020 de <https://www.veterinariadigital.com/articulos/calidad-del-agua-en-la-produccion-avicola/#manejo-y-parametros-del-agua>
- BD. (2013). BD EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar), Modified. Recuperado el 4 de junio de bd.com
- Blajman, J., Zbrun, V., Astesana, D., Berisvil, P., Scharpen, R., Fusari, M., Soto, L., Signorini, M., Rosmini, R., Frizzo, L. (2015). *Probióticos en pollos parrilleros: una estrategia para los modelos productivos intensivos. Revista argentina de microbiología*, 47(4), 360-367.
- Blanch, A. (2016). Probióticos, prebióticos y simbióticos en la nutrición. *aviNews* Febrero, pp. 86-92
- Bourassa, D. V., Wilson, K. M., Ritz, C. R., Kiepper, B. K., & Buhr, R. J. (2018). *Evaluation of the addition of organic acids in the feed and/or water for broilers and the subsequent recovery of Salmonella Typhimurium from litter and ceca. Poultry science*, 97(1), 64-73.
- Briz, R. C. (2006). *Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza*, 3-7.
- Byrd, J.A., Hargis, B.M., Caldwell, D.J., Bailey, R.H., Herron, K.L., McReynolds, J.L., Brewer, R.L., Anderson, R.C., Bischoff, K.M., Callaway, T.R. and Kubena, L.F. (2001). *Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on salmonella and campylobacter contamination of broilers. Poultry Science* 80: 278-283.
- Brzóška, F., Śliwiński, B., & Michalik-Rutkowska, O. (2013). *Effect of Dietary Acidifier on Growth, Mortality, Post-Slaughter Parameters and Meat Composition of Broiler Chickens/Wpływ zakwaszacza diety na masę ciała, śmiertelność, wydajność rzeźną i skład mięsa kurcząt rzeźnych. Annals of Animal Science*, 13(1), 85-96.
- Calvo, P., Chamorro I., De la Vega, M., González, A., Garrido, M., (2007). Tema 8. Contrastes no paramétricos. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de

ocwus.us.es/estadistica-e-investigacion-operativa/estadistica/temas/apartado8.pdf

- Camacho, A., M. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. 2009. *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
- Carrión, T. (2012). *Estudio comparativo de dos acidificantes comerciales (acid-mix-tegacid avl) en la producción de pollos parrilleros en el cantón Loja*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.
- Carter, T. A., & Sneed, R. E. (1996). *Drinking water guidelines for poultry*. *Poultry Science and Technology Guide No. 42*, North Carolina State University.
- Cason, J., Cox, N., Bailey, J. (1994). *Transmission of Salmonella typhimurium during hatching of broiler chicks*. *Avian Dis.* 38 583–588.
- Chela, W. (2015). *Aislamiento de microorganismos probióticos del tracto intestinal de Gallus gallus en tres estadios fisiológicos de pollos*. (Tesis de pregrado). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, Riobamba, Ecuador.
- CEE. (1970). Directiva del Consejo de 23 de noviembre de 1970 sobre los aditivos en la alimentación animal (70/524/CEE). Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31970L0524&from=ES>
- Cengiz, O., Koksall, B. H., Tatli, O., Sevim, O., Avci, H., Epikmen, T., Beyaz, D., Buyukyoruk, S., Boyacioglu, M., Uner, A., & Onol, A. G. (2012). *Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health*. *Veterinari Medicina*, 57(10).
- CFSP. (2009). Tifosis aviar y Pullorosis. Recuperado el 25 de febrero de 2020 de www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/tifosis_aviar_y_pullorosis.pdf
- Clker Free Vector. (s.f.). Tubo de ensayo líquido azul. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://pixabay.com/es/vectors/tubo-de-ensayo-líquido-azul-31064/>

- Cobb-VANTRESS. (2012). Guía de Manejo del Pollo de Engorde. Recuperado el 14 de octubre del 2019 de www.pronavicola.com/contenido/manuales/Cobb.pdf
- Cobb-VANTRESS. (2018). Broiler Management Guide. Recuperado el 14 de octubre del 2019 de <https://cobbstorage.blob.core.windows.net/guides/5fc96620-0aba-11e9-9c88-c51e407c53ab>
- Congress of the United States. Office of Technology Assessment. (1979). *Drugs in Livestock Feed. Volume 1: Technical Report*. Washington D.C, USA: Congress of the United States. Office of Technology Assessment.
- Cortés, C., Isaías, G., Cuello, C., Flores, J., Anderson, R., y Campos, C. (2004). *Bacterial isolation rate from fertile eggs, hatching eggs, and neonatal broilers with yolk sac infection*. *Revista latinoamericana de microbiología*, 46(1-2), 12-16.
- Cox, N., Berrang, M., y Cason, J. (2000). *Salmonella penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs--a review*. *Poultry Science*, 79(11), 1571-1574.
- Cook, N. (2003). *The use of NASBA for the detection of microbial pathogens in food and environmental samples*. *Journal of Microbiological Methods*, 53: 165- 174.
- Cox, N., Bailey, J., Mauldin, J., Blankenship, L. y Wilson, J. (1991). *Extent of salmonellae contamination in breeder hatcheries*. *Poultry Science*, 70: 416-418.
- De la Calle, J. (2004). Estadística Descriptiva. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de recursostic.educacion.es/descartes/web/materiales_didacticos/estadistica_descriptiva_jcc/estadistica_1.htm
- Dietrichson, A., (2015). 7.2 Prueba de Shapiro-Wilks. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://bookdown.org/dietrichson/metodos-cuantitativos/test-de-normalidad.html>

- Difco. (2009). Difco™ y BBL™ Manual (2nd Edition). Recuperado el 29 de mayo del 2019 de <https://www.trios.cz/wp-content/uploads/sites/149/2016/08/DIFCO-A-BBL-MANUAL-2.pdf>
- Dinev, I. (2007). *Diseases of poultry: a colour atlas*. Ceva Sante Animal.
- Donaldson, E., Stanley, D., Hughes, R., Moore, R. (2017). *The time-course of broiler intestinal microbiota development after administration of cecal contents to incubating eggs*. *PeerJ*, 5:e3587.
- Doyle, M. y Erickson, M. (2006). *Reducing the carriage of foodborne pathogens in livestock and poultry*. *Poultry Science*, 85: 960-973.
- Dlugolenski, D., Pedroso, A., Maurer, J., y Lee, M. (2008). Embryonic chicks may possess an intestinal bacterial community within the egg. *American Society for Microbiology General Meeting, Toronto, Canada*.
- Emami, N. K., Daneshmand, A., Naeini, S. Z., Graystone, E. N., Broom, L. J. (2017). Effects of commercial organic acid blends on male broilers challenged with *E. coli* K88: Performance, microbiology, intestinal morphology, and immune response. *Poultry science*, 96(9), 3254-3263.
- ESPAC. (2019). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua. Recuperado el 5 de marzo de 2020 de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- ESPAC. (s.f.). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua-2015-2016-2017. Recuperado el 5 de marzo de 2020 de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2015-2016-2017-2/>
- FEFANA. (2014). Organic acids in animal nutrition. http://fefana.org/wp-content/uploads/2017/08/2014_08_20-BOOKLET-OA.pdf
- FAO. (2019). MEAT MARKET REVIEW. Overview of global meat market developments in 2018. Recuperado el www.fao.org/3/ca3880en/ca3880en.pdf
- Flores-Ruiz, Eric, Miranda-Novales, María Guadalupe, y Villasís-Keever, Miguel Ángel. (2017). *El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba*

estadística adecuada. Estadística inferencial. Revista alergía México, 64(3), 364-370.

- Franceschi, M., Iglesias, B., Pinto, S. (2011). Estrategias para evaluar alternativas a los promotores de crecimiento. Recuperado el 4 de junio de <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/promotores-de-crecimiento-aves-t29027.htm>
- Freitag, M. (2009). Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. Lückstädt, C. (Eds). *Acidifiers in Animal Nutrition. A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance*. Australia: Nottingham University Press.
- GAD de San José de Minas (2015). Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la parroquia San José de Minas. Recuperado el 24 de mayo del 2019 de app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdocumentofinal/1768115440001_05_SAN_JOSE_DE_MINAS_19-10-2015_19-25-06.pdf
- Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T., y Van Immerseel, F. (2009). *Mechanisms of egg contamination by Salmonella enteritidis. FEMS Microbiol. Rev.* 33 718–738.
- Gómez, E. (2013). *Identificación de cepas de salmonella spp resistentes a antimicrobianos, y factores de riesgo para su circulación, en aves y cerdos mantenidos en sistemas productivos de traspatio de la región del libertador general Bernardo O'Higgins, Chile*. (Tesis de Maestría). Universidad de Chile, Santiago, Chile
- Google Maps. (2019). Google Maps. Recuperado el 24 de mayo del 2019 de <https://www.google.com/maps>
- González, S., Icochea, E., Reyna, P., Guzmán, J., Cazorla, F., Lúcar J., Carcelén, F., y San Martín, V. (2013). *Efecto de la suplementación de ácidos orgánicos sobre los parámetros productivos en pollos de engorde. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(1), 32-37.

- Gómez, B. (2013). *Evaluación de dos niveles de acid pak 4 way (acidificante) como aditivo en el agua de bebida bajo condiciones de estrés calórico en fases de crecimiento y acabado en Pollos Broilers en el cantón Babahoyo*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo, Ecuador.
- Greger, M. (2006). *Bird flu: a virus of our own hatching*. USA: Lantern Books.
- Grizzle, J., Armbrust, T., Bryan, M., y Saxton, A. (1996). *Water quality I: The effect of water nitrate and pH on broiler growth performance*. *Journal of Applied Poultry Research*, 5(4), 330-336.
- Gruyters, M. (2019). Agua: El Nutriente Más Importante para una Producción Eficiente de Pollos de Engorde. Recuperado el 1 de febrero de 2020 de <https://bmeditores.mx/avicultura/agua-el-nutriente-mas-importante-para-una-produccion-eficiente-de-pollos-de-engorde-2498/>
- Guamán, R., Morocho, M., Yunga, V, Herrera, R., y Sanchez, G. (2017). *Cambios en la microbiota intestinal de las aves y sus implicaciones prácticas*. *Centro de Biotecnología*, 6: 98-108.
- Guevara, I. (2004). *Uso de Acidificantes Intestinales en el Control de Escherichia coli y su Efecto en la Producción de Pollos de Ceba*. (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Higenyi, J., y Kabasa, J. (2014). *Microbial contamination load of hatching eggs in Butaleja, eastern Uganda*. *Anim. Vet. Sci*, 2, 22-30.
- Hinton, M., & Linton, A. H. (1988). *Control of salmonella infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed*. *The Veterinary Record*, 123(16), 416-421.
- Horst Frank. (2007). Anatomía de un huevo. Recuperado el 3 de noviembre del 2019 de https://www.petersime.com/images/uploads/widgets/PET_NEWS_18_ES.pdf
- Hume E. (2011). *Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics*. *Poultry science*, 90(11), 2663-2669
- Huvepharma. (2017). Probióticos que previenen el impacto negativo de Clostridium perfringens. *aviNews* Diciembre, pp. 120-124

- Instituto de Estudios del Huevo. (2009). *El gran libro del huevo*. EDITORIAL EVEREST, S.A.: Madrid, España
- Iñiguez, A. (2018). *Uso de un probiótico y un acidificante sobre el desempeño productivo y calidad intestinal en aves de engorde*. (Tesis de Maestría). Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), Sangolquí, Ecuador.
- Kers, J., Velkers, F., Fischer, E., Hermes, G., Stegeman, J., y Smidt, H. (2018). *Host and environmental factors affecting the intestinal microbiota in chickens*. *Frontiers in microbiology*, 9, 235.
- Lituma, W. (2017). *Evaluación de la conversión alimenticia utilizando ácidos orgánicos al agua en pollos de engorde*. (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- López, E., Ángel, J., Ángel, D. (2017). *Probióticos en la avicultura: una revisión*. *Revista de Medicina Veterinaria*, (35), 175-189.
- MAG. (2019). Ecuador celebra el Día Nacional de la Carne de Pollo. Recuperado el 31 de enero de 20 de <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-celebra-el-dia-nacional-de-la-carne-de-pollo/>
- Manafi, M., Hedayati, M., Khalaji, S., & Kamely, M. (2016). *Assessment of a natural, non-antibiotic blend on performance, blood biochemistry, intestinal microflora, and morphology of broilers challenged with Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(12), 745-754.
- Marín-Flamand, E., Vázquez-Durán, A., & Méndez-Albores, A. (2013). *Effect of organic acid blends in drinking water on growth performance, blood constituents and immune response of broiler chickens*. *The Journal of Poultry Science*, 0120179.
- Marin, C., y Lainez, M. (2009). *Salmonella detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse*. *Poultry science*, 88(9), 1999-2005.
- Maurer, J., Hofacre, C., Wooley, R., Gibbs, P. y Froyman, R. (2002). *Virulence factors associated with Escherichia coli present in a commercially produced competitive exclusion product*. *Avian Diseases*, 46: 704-707.

- Méndez, L. (s.f.). Cálculo de las ufc/gr ó ml a) Factor Dilución (FD. Recuperado el 27 de octubre del 2019 de https://www.academia.edu/27250052/Cálculo_de_las_ufc_gr_ó_ml_a_Factor_Dilución_FD?auto=download
- Methner, U., Al-Shabibi, S., Meyer, H. (1995). *Infection model for hatching chicks infected with Salmonella Enteritidis. Zoonoses and Public Health*, 42(1-10), 471-480.
- National Research Council. (1994). *Nutrient requirements of poultry: 1994*. National Academies Press.
- OECD/FAO. (2018). *OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027*. OECD Publishing, Paris/FAO, Rome.
- Okamura, M., Tachizaki, H., Kubo, T., Kikuchi, S., Suzuki, A., Takehara, K. y Nakamura, M. (2007). *Comparative evaluation of a bivalent killed Salmonella vaccine to prevent egg contamination with Salmonella enterica serovars Enteritidis, Typhimurium, and Gallinarum biovar Pullorum, using 4 different challenge models. Vaccine*, 25: 4837-4844.
- OMS. (2017). Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la propagación de la resistencia a los antimicrobianos. Recuperado el 25 de junio del 2019 de <https://www.who.int/es/news-room/detail/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance>
- Open Clipart Vectors. (s.f.). Plato Petri de vidrio. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://pixabay.com/es/vectors/plato-de-petri-vidrio-la-ciencia-149007/>
- Organización Mundial de Sanidad animal (OIE). Capítulo 6.5. Prevención, detección y control de las infecciones de aves de corral por Salmonella. OIE. (2011). *Código Sanitario para los Animales Terrestres*. Francia.
- Parker D, Hofacre C, Mathis GF, Quiroz MA, Dibner J and KnightC. *Organic acid water treatment reduced Salmonella horizontal transmission in broiler chickens.*

- Proceedings of the 12th European Poultry Conference. Verona, Italy, September 12-14. World's Poultry Science Association. 2006.
- Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea. (2003). Reglamento (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2003 sobre los aditivos en la alimentación animal. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://www.boe.es/doue/2003/268/L00029-00043.pdf>
- Pedroso, A., Menten, J. y Lambais, M. (2005). *The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. Journal of Applied Poultry Research, 14: 232-237.*
- Pedroso, A., Menten, J., Lambais, M., Racanicci, A., Longo, F. y Sorbara, J. (2006). *Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. Poultry Science, 85: 747-752.*
- Perdomo, G. Á., Manjarres, R. A., Cedeño, F. F., Barros, N. Z., Morán, E. C., de la Ribera, J. R., & Marcheco, E. C. (2017). *Empleo de acidificantes intestinales en la producción de pollos de ceba. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 18(12), 1-9.*
- Pérez, R. (2020). Prueba de Tukey: en qué consiste, caso de ejemplo, ejercicio resuelto. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://www.lifeder.com/prueba-de-tukey/>
- Polycarpo, G., Andretta, I., Kipper, M., Cruz, V., Dadalt, J., Rodrigues, P., Albuquerque, R., (2017). *Meta-analytic study of organic acids as an alternative performance-enhancing feed additive to antibiotics for broiler chickens. Poultry science, 96 (10), 3645-3653.*
- Provet. (s.f). VITAPIO®. www.ecuafarvet.com.ec/pdf/productos-vitapio-ficha-tecnica.pdf
- Vetanco. (s.f.). Perform Max Optimizer II. Recuperado el 18 de febrero del 2020 de <https://www.vetanco.com/es/produto/perform-max-optimizer-ii/>
- Quick Vet. (s.f.). PROAQUAT 50. Recuperado el 15 de febrero de 2020 de https://quickvet.edifarm.com.ec//quickvet/page3.php?id_producto=3072

- Ramírez, R. V. (2017). Uso de antibióticos y coadyuvantes del crecimiento animal y su repercusión en el ser humano (Disertación Doctoral). Universidad Complutense, Madrid, España.
- Raji, M., Adekeye, J., Kwaga, J., Bale, J. y Henton, M. (2007). *Serovars and biochemical characterization of Escherichia coli isolated from colibacillosis cases and dead-in-shell embryos in poultry in Zaria-Nigeria. Veterinarski arhiv, 77(6), 495-505.*
- Robertson, A. (2015). Probióticos y Simbióticos, protección desde el primer día. *aviNews Mayo*, pp. 83-91
- Rojas, D. P., Rojas, J. P., & Urdaneta, R. (2017). *Efecto de un acidificante orgánico en los parámetros productivos de pollos de engorde/Effect of an organic acidifier in productive parameters of broilers. Revista Tecnocientífica URU, (12), 19-28.*
- Rosario, C., López, C., Tellez I., Navarro, O., Anderson, R., y Eslava, C. (2004). *Serotyping and virulence genes detection in Escherichia coli isolated from fertile and infertile eggs, dead-in-shell embryos, and chickens with yolk sac infection. Avian diseases, 48(4), 791-802.*
- Roth, N., Mayrhofer, S., Gierus, M., Weingut, C., Schwarz, C., Doupovec, B., Berrios R., Domig, K. J. (2017). *Effect of an organic acids based feed additive and enrofloxacin on the prevalence of antibiotic-resistant E. coli in cecum of broilers. Poultry Science, 96(11), 4053-4060.*
- Roto, S., Kwon, Y., Ricke, S. (2016). *Applications of in ovo technique for the optimal development of the gastrointestinal tract and the potential influence on the establishment of its microbiome in poultry. Front. Vet. Sci., 3:63.*
- Rubio, J. (2005). Suministro de agua de calidad en las granjas de broilers. (Real Escuela de Avicultura). *Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne, 25-27.*
- Samik, K., Gobinda, H., Manas, K., Gautam, S. (2007). *Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. The Journal of Poultry Science, 44(4), 389-395.*

- S.E.F.O. (2019). Pruebas Post Hoc. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/wp-content/uploads/2019/01/PRUEBAS-POST-HOC.pdf>
- Solla. (2015). MANUAL DE MANEJO PARA POLLO DE ENGORDE. Recuperado el 11 de diciembre del 2019 de <https://www.solla.com/sites/default/files/productos/secciones/adjuntos/Manual De Manejo Para Pollo De Engorde.pdf>
- Stonerock, R. (2009). Possibilities of salmonella control with the aid of acidifiers. Lückstädt, C. (Eds). *Acidifiers in Animal Nutrition. A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance*. Australia: Nottingham University Press.
- Supe, A., y Febián, W. (2012). *Uso de Acidificantes en la Producción de Pollos de Broilers*. (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Talebi, E., Zarei, A., & Abolfathi, M. E. (2010). *Influence of three different organic acids on broiler performance*. *Asian Journal of Poultry Science*, 4(1), 7-11.
- Tellez, G. (2018). Alternativas a antibióticos promotores del crecimiento en avicultura. Recuperado el 4 de junio de <https://avicultura.info/alternativas-a-antibioticos-promotores-del-crecimiento-en-avicultura/>
- Toscano, I. (2016). *Estudio comparativo de los acidificantes vinagre y ácido cítrico en la producción de pollos broiler*. (Tesis de Pregrado). UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL, Guayaquil, Ecuador
- Torres, C., López, L. (2006). Trabajo Práctico N° 5 Estudio cuantitativo de bacterias. Recuperado el 27 de octubre del 2019 de www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp5.pdf
- Trasgo. (1983). *Manual para productores de pollo de engorda*. Trasgo, México.
- UCM. (2015). pH. Recuperado el 14 de octubre del 2019 de <https://www.ucm.es/data/cont/docs/952-2015-02-14-pH f.pdf>
- UNAM. (2014). Análisis de la Varianza ANOVA. Recuperado el 10 de febrero de 2020 de

asesorias.cuautitlan2.unam.mx/Laboratoriovirtualdeestadistica/CARPETA 3
INFERENCIA_ESTADISTICA/DOC_ INFERENCIA/TEMA 4/11 ANALISIS DE
VARIANZA.pdf

WATT GLOBAL MEDIA. (Abril, 2019). Evolución de la producción nacional de pollos de engorde 2014-2018, millones de pollos. *Industria Avícola*. Abril 2019. pp. 9

Widiastuti, E., Isroli, I., Murwani, R., Sartono, T. A., Wahyuni, H. I., Yudiarti, T., & Sugiharto, S. *Dietary supplementation of butyric acid, probiotic Bacillus subtilis or their combination on weight gain, internal organ weight and carcass traits of the Indonesian indigenous crossbred chickens. Livestock Research for Rural Development, 31 (9) 2019*

Wikipedia. (2005). File:Ziplock. Recuperado el 15 de febrero de 2020 de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ziplock.jpg>

World Health Organization. (2001). *Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups* (No. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.10). Genova, Italia: World Health Organization.

ANEXOS

Anexo 1 Parámetros Zootécnicos

Anexo 1.1 Manejo de las aves en la granja

Anexo 1.1.1 POES de limpieza del galpón

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO DE SANEAMIENTO - POES	
N° POES 01/001	
Aprobado por:	Fecha: 5 de mayo del 2019
Objetivo	Describir la técnica de sanitización y limpieza del galpón para el ingreso de las aves y evitar enfermedades. Según las directrices de Buenas Prácticas de Agrocalidad.
Alcance	Este POES está destinado al personal dedicado a la producción que se encuentren en contacto con la producción avícola.
Responsable	Todo el personal
Frecuencia	Antes del ingreso de las aves
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">● Limpieza con escobas del piso del galpón● Desinfección de todo el galpón con PROAQUAT 50 (amonio cuaternario).
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Usar las escobas para barrer todas las superficies (piso y paredes) del galpón.2. Usar las escobas con agua y jabón para sacar toda la suciedad posible del galpón.3. Esperar a que se seque.4. Utilizar PROAQUAT 50 (amonio cuaternario) para la desinfección del galpón, mediante la bomba de fumigación.

	<p>5. Revisar que el aserrín esté seco y no se encuentra húmedo o con hongos, en caso de encontrarlo descartarlo.</p> <p>6. Desinfectar con PROAQUAT 50 (amonio cuaternario) el aserrín, previamente antes de la entrada de las aves de engorde al galpón.</p> <p>7. Colocar una cama de 5 a 10 cm de aserrín</p>
<p>Recomendaciones</p>	<p>Sacar todo el agua del galpón evitando que se empoce.</p> <p>Hacer bien la actividad 1 para evitar mucha suciedad en el agua jabonosa.</p> <p>Esperar a que se seque el piso, para evitar alguna interacción entre el jabón y PROAQUAT 50 (amonio cuaternario).</p> <p>No escatimar la cantidad de jabón y de PROAQUAT 50 (amonio cuaternario), y en caso de necesitar repetirlo.</p>
<p>Referencias</p>	<ul style="list-style-type: none"> • AGROCALIDAD. (2013). GUÍA DE BUENAS PRÁCTICAS AVÍCOLAS RESOLUCIÓN TÉCNICA N° 0017. Recuperado el 5 de mayo del 2019 de www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/08/guia-avicola.pdf • Chela, W. (2015). Aislamiento de microorganismos probióticos del tracto intestinal de Gallus gallus en tres estadios fisiológicos de pollos (tesis de pregrado). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO, Riobamba, Ecuador.

Anexo 1.1.2 POE de Separar las aves de Manera Aleatoria

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE	
N° POE 01/001	
Aprobado por:	Fecha: 28 de mayo de 2019
Objetivo	Describir el modo para la separación de las aves que ingresan al galpón,
Alcance	Este POE está destinado al personal dedicado a la producción que se encuentren en contacto con la producción avícola.
Responsable	Todo el personal
Frecuencia	Durante el ingreso de las aves
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">• Cajas que tiene Pollitos de 1 día• Cortinas• Balanza calibrada bajo los estándares INEN• Calculadora
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Recibir a los pollitos de 1 día en cajas2. Coger a un pollito de la caja y colocarlo en el primer tratamiento (control), el segundo pollito en el segundo tratamiento (PM OPTIMIZER II 1ml/l), y el tercer pollito en el tercer tratamiento (PM OPTIMIZER II 2ml/l).3. Pesar a todas las aves en cada grupo, con la balanza calibrada bajo los estándares INEN

Recomendaciones	- Tener cuidado al trabajar con aves tan pequeñas
Referencias	

Anexo 1.1.3 POE de pesaje de las aves

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE	
N° POE 01/002	
Aprobado por:	Fecha: 7 de mayo del 2019
Objetivo	Describir la técnica de pesaje de los animales.
Alcance	Este POE está destinado al personal dedicado a la producción que se encuentren en contacto con la producción avícola.
Responsable	Todo el personal
Frecuencia	El día 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">● Balanza calibrada bajo los estándares INEN● Cuaderno● Hoja de papel
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Se realiza en la madrugada.2. Pesar cada ave de cada tratamiento en la balanza calibrada bajo los estándares INEN3. Escribir los datos en una hoja de papel
Recomendaciones	No olvidar que la balanza tiene un error, colocar la parte que le falta o sobra.

	Tomar una foto diariamente de la hoja, para evitar pérdidas de información o daños de la misma.
Referencias	<ul style="list-style-type: none">•

Anexo 1.1.4 Registro del Peso de las Aves

Tratamiento: _____									Día: _____		
# de aves	Peso	# de aves	Peso	# de aves	Peso	# de aves	Peso	# de aves	Peso	# de aves	Peso
1		26		51		76		101		126	
2		27		52		77		102		127	
3		28		53		78		103		128	
4		29		54		79		104		129	
5		30		55		80		105		130	
6		31		56		81		106		131	
7		32		57		82		107		132	
8		33		58		83		108		133	
9		34		59		84		109		134	
10		35		60		85		110		135	
11		36		61		86		111		136	
12		37		62		87		112		137	
13		38		63		88		113		138	
14		39		64		89		114		139	
15		40		65		90		115		140	
16		41		66		91		116		141	
17		42		67		92		117		142	

18		43		68		93		118		143	
19		44		69		94		119		144	
20		45		70		95		120		145	
21		46		71		96		121		146	
22		47		72		97		122		147	
23		48		73		98		123		148	
24		49		74		99		124		149	
25		50		75		100		125		150	

Anexo 1.1.5 Consumo Acumulado por semana

Semanas	Nuntri Up Alli Mikuna
1	167
2	488.9
3	976.4
4	1685.15
5	2596.4
6	3931.9

Anexo 1.1.6 Registro del Consumo y Desperdicio Diario de Balanceado

Tratamiento: _____							
Día	Balanceado Diario	Desperdicio Diario	Consumo Diario	Día	Balanceado Diario	Desperdicio Diario	Consumo Diario
1				22			
2				23			
3				24			
4				25			
5				26			
6				27			
7				28			
8				29			
9				30			
10				31			
11				32			
12				33			

13				34			
14				35			
15				36			
16				37			
17				38			
18				39			
19				40			
20				41			
21				42			

Anexo 1.1. 7 Consumo Diario de Balanceado

Día	Consumo por 1 ave de engorde (g)	Día	Consumo por 1 ave de engorde (g)	Día	Consumo por 1 ave de engorde (g)
1	12.5	15	90	29	168
2	15	16	95	30	173
3	18.75	17	100	31	175
4	20	18	116	32	180
5	25	19	120	33	187
6	36	20	129	34	190
7	42	21	130	35	192
8	48	22	135	36	195
9	56	23	140	37	200
10	63	24	145	38	205
11	66	25	150	39	215
12	72	26	154	40	220
13	78	27	160	41	225
14	85	28	165	42	230

Anexo 1.1.8 Registro de la Mortalidad Diaria

MORTALIDAD DIARIA							
Día	Control	PM OPTIMIZER II 1ml/l	PM OPTIMIZER II 2ml/l	Día	Control	PM OPTIMIZER II 1ml/l	PM OPTIMIZER II 2ml/l
1				22			
2				23			
3				24			
4				25			
5				26			
6				27			
7				28			
8				29			
9				30			
10				31			
11				32			
12				33			
13				34			
14				35			
15				36			
16				37			
17				38			
18				39			
19				40			
20				41			
21				42			

Anexo 2 Manejo del agua de Bebida

Anexo 2.1 POE de mezcla de PM OPTIMIZER II en agua

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE	
N° POE 01/003	
Aprobado por:	Fecha: 28 de mayo del 2019
Objetivo	Describir la técnica para mezclar el acidificante con el agua, según la guía técnica de cada producto
Alcance	Este POE está destinado al personal dedicado a la producción que se encuentren en contacto con la producción avícola.
Responsable	Todo el personal
Frecuencia	Hacerlo cada vez, que llegue al límite inferior del tanque de agua.
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">• Agua• PM OPTIMIZER II
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Colocar el Agua en el tanque de agua2. Diferenciar con una marca los tanques de agua por cada Tratamiento: Tratamiento 1- Control, Tratamiento 2 – PM OPTIMIZER II 1 ml/L, Tratamiento 3 – PM OPTIMIZER II 2 ml/l3. Colocar en el recipiente respectivo la dosis correspondiente.
Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none">- Colocar una marca legible para entender cuál el tanque de cada tratamiento.
Referencias	<ul style="list-style-type: none">• Vetanco. (s.f.). Perform Max Optimizer II. Recuperado el 18 de febrero de 2020 de

	https://www.vetanco.com/es/produto/perform-max-optimizer-ii/
--	---

Anexo 2.2 Registro del pH del Agua

Día	TC	T1	T2	Día	TC	T1	T2
1				22			
2				23			
3				24			
4				25			
5				26			
6				27			
7				28			
8				29			
9				30			
10				31			
11				32			
12				33			
13				34			
14				35			
15				36			
16				37			
17				38			
18				39			
19				40			
20				41			
21				42			

Anexo 2.3 Consumo de Agua

Día	Consumo en l para 150 aves	Día	Consumo en l para 150 aves	Día	Consumo en l para 150 aves
1	3.5	15	21	29	43
2	6	16	21	30	47
3	6	17	21	31	47
4	6	18	28	32	47
5	6	19	28	33	50
6	7	20	28	34	50
7	7	21	28	35	50
8	14	22	35	36	52
9	14	23	35	37	52
10	14	24	40	38	52
11	17.5	25	40	39	55
12	17.5	26	40	40	55
13	17.5	27	43	41	55
14	17.5	28	43	42	60

Anexo 2.4 Relación bebederos/ave recomendado por Agrocalidad

Tipo de Bebedero	# pollos / bebedero	Edad
Bebederos de galón	1 por cada 80 - 100 pollitos	De 1 hasta 7 días de edad
Bebederos de campana (doble fin)	1 por cada 80 -100 pollos	Desde los 8 días de edad hasta el saque

Modificado de Agrocalidad (2016)

Anexo 3 Fichas Técnicas

Anexo 3.1 Ficha Técnica de PM OPTIMIZER II

Perform Max Optimizer II

Aditivo acidificante para agua de bebida

Oral

Indicaciones de Uso: Acidificante del agua de bebida según las indicaciones y objetivos profesionales del asesor.

Disminuye las pérdidas de agua por deshidratación previo a la faena. Ayuda a disminuir la carga bacteriana del buche.

COMPOSICIÓN:

Ácido Acético	6.8g
Ácido Caprílico	0.075g
Ácido Láctico	6.8g
Ácido Propiónico	5.6g
Ácido Tánico	3.87g
Zn (como complejo aminoácido-metal)	0.000008g
Cu (como complejo aminoácido-metal)	0.000016g
Azul Brillante	0.0025g
Agua csp	100ml

Dosificación: 1 litro cada 1000 litros de agua de bebida.

Restricciones de uso: Usándolo en las especies indicadas dosificaciones dadas no posee

Período de Retiro: No requiere

PRODUCTO EXCLUSIVO EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL.

Precauciones: Mantener fuera del alcance de los niños. Evitar inhalar vapores. Evitar contacto con la piel y los ojos.

Para manipular el producto utilizar vestimenta protectora, guantes y protectores de oculares. No comer, ni fumar durante su manipulación.

Conservación: Conservar el producto entre 5 y 30°C en un lugar limpio y seco y en su embalaje original.

ELABORADO POR: VETANCO (ARGENTINA) BAJO LICENCIA TADEC.

DISTRIBUYE PARA EL ECUADOR: TADEC CÍA. LTDA. Ambato-Quito-Guayaquil-Cuenca-Portoviejo.

Anexo 3.2 Ficha Técnica de PROAQUAT 50

PROAQUAT 50

LABORATORIO: MONTANA

PRINCIPIOS ACTIVOS	CONCENTRACIÓN
Amonio Cuaternario	50 g/100 ml

CLASIFICACIÓN ATC:

QV07A V01 - Desinfectantes de uso técnico

INDICACIONES:

Desinfectante catiónico de acción bactericida cuyo modo de acción es inactivar las enzimas y proteínas para destruir la membrana celular del microorganismo. Actúa contra bacterias, micoplasmas, hongos, virus y algas.

CONTRAINDICACIONES:

DOSIFICACIÓN:

Sanitización del agua de bebida de los animales: 0.03 ml/l agua. Desinfección de piel y mucosas: 0.4 ml/l agua. Desinfección de comederos, bebederos, galpones, etc. Solución desinfectante de pediluvios y rodiluvios: 1 ml / l de agua. Desinfección de superficies internas de cisternas, pozos y tanques elevados. Desinfección de salas de almacenaje y fabricación: 1 ml / l de agua. Agua destinada a la producción de hielo para conservar alimentos: 1 ml / l de agua.

RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

Usar solo en las dosis recomendadas, pues el producto concentrado es corrosivo. No ingerir. En caso de ingestión accidental no inducir el vómito. Evitar el contacto con los ojos. En caso de contacto accidental lavar la zona con abundante agua. Mantener fuera del alcance de los niños. Conservar en un lugar fresco y seco.

ÍNDICE TERAPÉUTICO:

- Desinfección
- Desinfección de equipos avícolas
- Desinfección de agua de bebida
- Desinfección de galpones, establos y porquerizas
- Desinfección de huevos fértiles

VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Aplicación externa

ESPECIES ANIMALES

Bovinos
Caninos
Caprinos
Equinos
Felinos
Ovinos
Porcinos

PAÍSES DE DISTRIBUCIÓN:

Ecuador

Anexo 3.3 Ficha Técnica Ficha Técnica del Balanceado

Balanceado Broiler Inicial (Día 1-12)

Análisis	%
Proteína Mín.	22
Humedad Máx.	13
Grasa Mín.	3.9
Fibra Máx.	2.9
Ceniza Máx.	6

Balanceado Crecimiento (Día 13-28)

Análisis	%
Proteína Mín.	21
Humedad Máx.	13
Grasa Mín.	5.9
Fibra Máx.	2.8
Ceniza Máx.	6

Balanceado Engorde 1 (Día 29-42)

Análisis	%
Proteína Mín.	20
Humedad Máx.	13
Grasa Mín.	6.4
Fibra Máx.	2.8
Ceniza Máx.	6

Anexo 3.4 Ficha Técnica Ficha la Vitamina

VITAPIO®

Polvo Oral

VITAPIO® es un multivitamínico con electrolitos, indicado para la prevención, control y tratamiento de los estados de stress de las aves, en presentación de polvo soluble para suministrar con el agua de bebida a las aves.

COMPOSICIÓN

100 g de VITAPIO® Polvo contiene:

- Vitamina A 8.000.000 U.I.
- Vitamina D3 1.000.000 U.I.
- Vitamina E 5.000 U.I.
- Vitamina K3 3.000 mg.
- Vitamina B1 (Tiamina clorhidrato) 600 mg
- Vitamina B2 (Riboflavina 5 fosfato) 2.500 mg
- Vitamina B6 (Piridoxina clorhidrato) 1.600 mg
- Vitamina B12 (Cianocobalamina) 6 mg
- Nicotinamida 7.500 mg
- Pantotenato de Calcio 6.000 mg
- Acido fólico 500 mg
- Biotina 40 mg
- Vitamina C 20.000 mg
- Cloruro de Sodio 10.000 mg
- Cloruro de Potasio 6.250 mg
- Sulfato de Magnesio 6.250 mg
- Excipientes c.s.p. 100 gr

INDICACIÓN

VITAPIO® está indicado para pollos de engorde, gallinas ponedoras, reproductoras, pavos, patos, codornices, gallos de pelea y aves ornamentales, para la prevención, control y tratamiento de los estados de stress, que se presentan por diversos

factores

como:

- Recepción de pollitos.
- Prácticas de manejo: vacunaciones, despiques, muda forzada, traslados y pesajes.
- Enfermedades causadas por microorganismos, parásitos, alteraciones metabólicas.
- Cambios bruscos de temperatura por: excesivo frío, calor, corrientes de viento.
- Fallas en los equipos: bebederos, comederos, criadoras, iluminación.
- Exposición a elementos vivos e inanimados que inquieten a los animales.
- Desorden o falta en el suministro de agua y/o alimento.

DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Suministrar VITAPIO® en el agua de bebida, se dosifica a razón de 1 gramo por cada 10 litros de agua de bebida, durante 1 a 5 días o según criterio del médico veterinario.

El tratamiento se puede repetir cuando se considere necesario.

Nota:

No mezclar nunca el producto con antibióticos u otras sustancias.

TIEMPO DE RETIRO

No tiene tiempo de retiro por lo cual se puede administrar en cualquier etapa de la producción avícola.

Licencia Registro ICA 4799 - DB.

Anexo 4 Microbiología

Anexo 4.1 Toma de muestras fecales

Anexo 4.1.1 POE de Toma de muestras fecales para aves de 1 día

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE N° POE 01/004	
Aprobado por:	Fecha: 8 de mayo del 2019
Objetivo	Descripción de la toma de muestras fecales para enviarlas al laboratorio.
Alcance	Persona que va a hacer el muestreo
Responsable	Personal que va hacer el muestreo
Frecuencia	Día 1
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">• Medio de transporte Stuart.• Hielo• Cooler• Guantes nitrilo o látex• Frasco de Orina Estéril• Marcador
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Rotular cada Medio de transporte Stuart para cada tratamiento.2. Ponerse guantes en las manos y cambiarlos en cada muestra3. Tomar al ave con una mano, presionando suavemente el vientre con la mano que sostiene al ave.4. Mientras con la otra mano abrir el frasco de orina estéril, dejando que el ave defeque en el frasco.

	<p>5. Abrir el medio de transporte Stuart, y sacar el hisopo, recoger 1g de las heces fecales del frasco de orina estéril, se repetirá con cada una de las 8 aves de la muestra por tratamiento (3 tratamientos).</p> <p>6. Colocar el hisopo en el Medio de transporte Stuart, y cerrarlo. Poner los Medios de Transporte Stuart en un cooler con hielo a una temperatura de 4-10°C, para el transporte</p>
Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Refrigerar tan pronto se realice la muestra con el Medio de transporte Stuart • No reducir la temperatura en la etapa de refrigeración
Referencias	<ul style="list-style-type: none"> • Gómez, E. (2013). Identificación de cepas de <i>salmonella spp</i> resistentes a antimicrobianos, y factores de riesgo para su circulación, en aves y cerdos mantenidos en sistemas productivos de traspatio de la región del libertador general Bernardo O'Higgins, Chile, (Tesis de Maestría). Universidad de Chile, Santiago, Chile • Marin, C., y Lainez, M. (2009). Salmonella detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. <i>Poultry science</i>, 88(9), 1999-2005.

Anexo 4.1.2 POE de Toma de muestras fecales Día 42

<p>PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE</p> <p>N° POE 01/005</p>	
Aprobado por:	Fecha: 8 de mayo del 2019
Objetivo	Descripción de la toma de muestras fecales para enviarlas al laboratorio.
Alcance	Persona que va a hacer el muestreo

Responsable	Personal que va hacer el muestreo
Frecuencia	Día 42
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Medio de transporte Stuart. • Hielo • Cooler • Guantes nitrilo
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none"> 1. Rotular cada Medio de transporte Stuart para cada tratamiento. 2. Ponerse guantes de nitrilo en las manos y cambiarlos en cada muestra 3. Tomar al ave de las patas con una mano, y se repetirá a las 8 aves de la muestra por tratamiento (3 tratamientos). 4. Con la otra mano tomar las alas y presionar al ave levemente contra la persona que la está manipulando. 5. Utilizar un hisopo estéril, aplicando una presión suave y rotando al hisopo, sobre el esfínter anal. Mantenerlo de 10 a 30 segundos, recogiendo 1 g de heces fecales. 6. Colocar el hisopo en el Medio de transporte Stuart, y cerrarlo. Poner los Medios de Transporte Stuart en un cooler con hielo a una temperatura de 4-10°C, para el transporte
Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Refrigerar tan pronto se realice la muestra con el Medio de transporte Stuart • No reducir la temperatura en la etapa de refrigeración
Referencias	<ul style="list-style-type: none"> • Gómez, E. (2013). Identificación de cepas de <i>salmonella</i> spp resistentes a antimicrobianos, y factores de riesgo para su circulación, en aves y cerdos mantenidos en

	sistemas productivos de traspatio de la región del libertador general Bernardo O'Higgins, Chile, (Tesis de Maestría). Universidad de Chile, Santiago, Chile
--	---

Anexo 4.1.3 POE de la formación del Agua Peptonada

<p>PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE</p> <p>N° POE 01/006</p>	
Aprobado por:	Fecha: 29 de mayo 2018
Objetivo	Descripción de la formación del Agua Peptonada
Alcance	Persona que va a trabajar en microbiología
Responsable	Persona que va a trabajar en microbiología
Frecuencia	Cada vez que se haga un muestreo se formará el agua peptonada
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Difco™ Peptone Water • Agua Destilada • Varilla de Agitación • Frasco de 1L BOECO • Autoclave
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none"> 1. En un frasco de 1L BOECO disolver 15 g del polvo Difco™ Peptone Water en 1 L de agua purificada. 2. Calentar ligeramente con agitación frecuente para disolver por completo el polvo.

	<p>3. Colocar en los tubos de vidrio con tapa 9 ml.</p> <p>4. Autoclave a 121 ° C durante 15 minutos.</p>
Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none"> • Colocar la tapa en los tubos de vidrio para evitar la contaminación después de estar en el autoclave
Referencias	<ul style="list-style-type: none"> • Difco™ y BBL™ Manual, 2nd Edition

Anexo 4.1.4 POE para hacer medio de cultivo EMB

<p>PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE</p> <p>N° POE 01/007</p>	
Aprobado por:	Fecha: 29 de mayo 2018
Objetivo	Descripción de la formación del Agar EMB
Alcance	Este POE está dirigido a la persona que va hacer el medio de cultivo EMB
Responsable	Persona que va a trabajar en microbiología
Frecuencia	Antes de comenzar todo el estudio
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none"> • Agua Destilada • Medio de Cultivo deshidratado EMB • Frascos de Vidrio • Esterilizadora • Cajas Petri

	<ul style="list-style-type: none"> • Frasco de 1L BOECO
<p>Descripción de Actividades</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Colocar el tapabocas y guantes antes de comenzar las acciones en el laboratorio. 2. Encender el mechero 3. Rotular las cajas Petri. 4. Colocar 75 ml de etanol al 70% en un vaso de precipitados de 250ml BOECO. 5. Colocar los tubos de ensayo de las 5 diluciones (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}) de una muestra en orden, en una gradilla. 6. Trabajar cerca del mechero con los tubos de ensayo y las cajas Petri, para evitar la contaminación. 7. Colocar la punta 20-200 μl BOECO en la micropipeta. 8. Absorber 100 μl de una de las diluciones con la micropipeta. 9. Abrir la caja Petri con el agar EMB y se colocó los 100 μl en el centro de la caja Petri. 10. Colocar el asa de Digralski en el mechero, y se esperó a que se ponga rojo. 11. Colocar en el vaso con etanol, y se lo sacó rápidamente, esperando a que la llama en el asa de Digralaski se apague, para después esparcir la muestra en toda la superficie del agar. 12. Para terminar colocar el rotulado respectivo después de sembrarlo. 13. El mismo proceso se siguió para todas las diluciones de cada muestra. 14. Se lleva las 120 cajas Petri a la incubadora a una temperatura de 37°C por 24 horas

Recomendaciones	Seguir las recomendaciones de la empresa que las fabrica.
Referencias	<ul style="list-style-type: none"> Difco™ y BBL™ Manual, 2nd Edition

Anexo 4.1.5 POE de las Diluciones de la muestra

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE N° POE 01/008	
Aprobado por:	Fecha: 29 de mayo 2018
Objetivo	Descripción de la formación de las diluciones con la muestra
Alcance	Persona que va a trabajar en microbiología
Responsable	Persona que va a trabajar en microbiología
Frecuencia	Cada muestreo
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none"> Tubos de vidrio con tapa, con 9 ml de agua peptonada esterilizada Vortex Micropipeta Marcador Permanente Medio de transporte Stuart Punta azul 100-1000 µL BOECO
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none"> Ponerse un tapabocas y guantes. Rotular con marcador los tubos de vidrio con tapa con 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, por cada muestra que se vaya a hacer. Recoger 1g de la muestra del medio de transporte Stuart y colocarlo en el tubo de vidrio con tapa que tenga rotulado 10^{-1} y agitarlo en el vortex.

	<p>4. Colocar la punta azul 100-1000 μL BOECO en la micropipeta, cargar 1000 μL del tubo 10^{-1} y colocarlo en el tubo 10^{-2}, después descartar la punta, en tacho rojo de desechos (guardián). Agitar el tubo en el vortex.</p> <p>5. Realizar el paso 3 con la dilución 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}</p>
Recomendaciones	
Referencias	

Anexo 4.1.6 POE de siembra en el agar EMB

PROCESO OPERATIVO ESTANDARIZADO - POE	
N° POE 01/009	
Aprobado por:	Fecha: 29 de mayo 2018
Objetivo	Describir la técnica de siembra en el agar EMB
Alcance	Persona que va a trabajar en microbiología
Responsable	Persona que va a trabajar en microbiología
Frecuencia	Cada muestreo
Materiales y Equipos	<ul style="list-style-type: none">• Tapabocas• Mechero• Marcador Permanente• Tubos de vidrio rotulados (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5})• Fósforos• Asa de Digralski• Micropipeta• Etanol al 70%• Punta amarilla 20-200 uL Boeco• Vaso de precipitados de 250ml BOECO.• Caja Petri con el agar EMB• Incubadora
Descripción de Actividades	<ol style="list-style-type: none">1. Ponerse un tapabocas y guantes.2. Encender el mechero3. Rotular las cajas Petri.

	<ol style="list-style-type: none"> 4. Colocar 75 ml de etanol al 70% en un vaso de precipitados de 250ml BOECO. 5. Colocar las 5 diluciones (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}) de muestra 1 de uno de los tratamientos en una gradilla. 6. Colocar cerca del mechero la gradilla y las cajas Petri con el agar EMB, para evitar la contaminación. 7. Colocar la punta 20-200 μL BOECO en la micropipeta. 8. Absorber 100 μL de una la dilución 10^{-1} con la micropipeta. 9. Abrir la caja Petri con el agar EMB y colocar 100 μL en el centro de la caja Petri. 10. Colocar el asa de Digiralski en el mechero, y esperar a que se ponga rojo. 11. Colocar en el vaso con etanol, y sacarlo rápidamente, esperar a que la llama en el asa de Digiralski se apague, para después esparcir la muestra en toda la superficie del agar. 12. Llevarlo a incubadora a 37°C 24 horas. 13. Repetir este mismo proceso con todas las diluciones de cada muestra.
Recomendaciones	
Referencias	<ul style="list-style-type: none"> • DifcoTM y BBLTM Manual, 2nd Edition

Anexo 4.1.7 Registro de las colonias

Tratamiento:.....					
Día de toma de la muestra:			Día de siembra:		
	Diluciones				
Muestras	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					

Anexo 4. ABREVIATURAS

APC: Antibióticos como Promotores de Crecimiento

CEE: Comunidad Económica Europea

EMB: Eosin Methylene Blue Agar o Eosina Azul de Metileno

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FDA: Food and Drug Administration o Administración de Alimentos y Medicamentos

MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería:

NAPRI: Instituto Nacional de Investigación de Producción Animal

NRC: National Research Council

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

OMS: Organización Mundial de Salud

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

WHO: World Health Organization

