

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**“Evaluación de 16 extractos de plantas con potencial efecto
sobre la salud e integridad intestinal en pollos de engorde”**

**Tesis para optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Percy Andrés Chávez Ramos
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

LIMA – PERÚ

2017

*A mis padres con mucho cariño y amor
le dedico todo mi esfuerzo y trabajo puesto
para la realización de esta tesis.*

ABSTRACT

Eimeria sp. And *Clostridium perfringens*, are pathogens of economic importance in the poultry industry, but are controlled by the use of anticoccidials and growth factors (chemical additives), which have been prohibited by legislation in other countries, as well as in Peru. Since poultry production in Peru is an industry that uses antibiotics as growth promoters / therapeutic and the legal barriers are increasing against these chemical additives, the objective of the study was to determine the effect of 16 plant extracts on intestinal health and productivity in broiler chicken. For this purpose, 475 broiler chickens distributed in 19 treatments with 5 replicates per treatment were used, including 2 groups as positive control, with a sanitary challenge of *Eimeria* sp. and *Clostridium perfringens* without additive and with additive, and as negative control a group that did not receive challenge. The evaluation of the treatments was based on measurements related to intestinal health such as intestinal mucosa damage score, oocyst count, concentration of enterobacteria and acidolactic bacteria; and productive parameters. It was found that Piperaceae extract had a better control of acidolactic bacteria, average weight and feed conversion at 28 days compared to control with chemical additive, and extract of Scrophulariaceae had a control of enterobacteria, Mean weight and feed conversion at 28 days, which did not differ from the control group with additive. It is concluded that the two extracts of plants mentioned had better and equal performance in intestinal health and productive parameters in broiler chickens respectively versus positive control, remaining as an alternative to be used in the poultry industry.

Keywords: *Eimeria*, Natural, *Clostridium*, Intestinal health

RESUMEN

Eimeria sp. y *Clostridium perfringens*, son agentes patógenos de importancia económica en la industria avícola, pero son controlados mediante el uso de anticoccidiales y factores de crecimiento (aditivos químicos), los cuales han sido prohibidos mediante legislaciones en otros países, así como en el Perú. Siendo la producción avícola en el Perú una industria que utiliza antibióticos como promotores de crecimiento/terapéutico y siendo conocido las barreras legales que van en aumento contra estos aditivos químicos, el objetivo del estudio fue determinar el efecto de 16 extractos de plantas sobre la salud intestinal y la productividad en el pollo de engorde. Para ello se utilizó 475 pollos de engorde distribuidos en 19 tratamientos con 5 repeticiones por tratamiento, incluyendo 2 grupos como control positivo, con un reto sanitario de *Eimeria sp.* y *Clostridium perfringens* sin aditivos y con aditivo, y como control negativo un grupo que no recibió reto. La evaluación de los tratamientos se hizo con base en mediciones del score de daño de mucosa intestinal, recuento de ooquistes, concentración de enterobacterias y bacterias acidolácticas; y parámetros productivos. Se halló que el extracto de *Piperaceae* tuvo un mejor control de bacterias acidolácticas, peso promedio y conversión alimenticia a los 28 días frente al control con aditivo químico, y el extracto de *Scrophulariaceae* tuvo un control de enterobacterias, peso promedio y conversión alimenticia a los 28 días que no tuvo diferencia del grupo control con aditivo. Se concluye que los dos extractos de plantas mencionados tuvieron mejor e igual desempeño en la salud intestinal y en parámetros productivos en los pollos de engorde respectivamente frente al control positivo quedando como una alternativa a usar en la industria avícola.

Palabras claves: Eimeria, Natural, Clostridium, Salud intestinal

INTRODUCCIÓN

Eimeria sp. y *Clostridium perfringens* son agentes patógenos en la industria avícola de referencia a nivel mundial por ocasionar grandes pérdidas económicas (Zavala, 2007).

Las coccidias intestinales son parásitos protozoos del Phylum Apicomplexa, del género *Eimeria* que poseen organelas especializadas, en su complejo apical, que les permite penetrar las células intestinales de sus hospederos, afectando a la mayoría de los animales criados comercialmente para fines alimenticios, particularmente las aves de corral. También afecta a las aves de jaula como loros, pinzones, canarios, entre otros. (M. Dardi *et al.*, 2010).

Los signos característicos atribuidos a las coccidiosis incluyen, diarrea, anorexia y pérdida de peso, pudiendo ocasionar el deceso del individuo, (Williams, 1998; Llong 1968; Gore, 1982; Shirley *et al.*, 1983; Jorgensen *et al.*, 1997), provocando grandes pérdidas productivas y económicas.

Las aves criadas comercialmente, se contagian mediante el contacto directo con otras aves o a través de las heces. Si sus hospederos están inmunosuprimidos y no hay un buen manejo de camas y control de insectos (escarabajos (*Alphitobius* sp.) y moscas), se incrementan los riesgos de infección de *Eimeria* sp. (Ríos, 2002). La edad de los hospederos es muy importante, las aves jóvenes son más susceptibles que las aves adultas. Estas características y el número de ooquistes ingeridos, determinarán el grado de virulencia innata de la cepa de *Eimeria* (Agustine, 2001).

Cuando hay presencia de gran número de coccidias se modifica radicalmente la composición de la microflora intestinal y se afecta la capa mucosa que protege internamente al intestino, permitiendo así la entrada de *Clostridium perfringens*, que termina produciendo una enteritis necrótica (Zavala, 2007). Son muchas las diferentes cepas de *Clostridium* sp. que causan enfermedades y que pueden prosperar cuando las aves se someten a los factores de estrés inherentes a las granjas de producción diseñadas para un alto rendimiento (Zavala, 2007).

Clostridium perfringens es una bacteria habitual en el intestino de los pollos. Pero cuando las aves sufren el estrés por una enfermedad o por cualquier otra causa, se generan desequilibrios entre los diferentes integrantes de la microflora bacteriana natural del intestino y esto puede generar infecciones intestinales. (Zavala, 2007)

Por consiguiente, para mitigar y contrarrestar este problema se usan sustancias químicas como anticoccidiales y antibióticos los cuales cada vez tienen más barreras legales de uso en los diferentes continentes, por eso el mercado de alternativas naturales es un nicho en crecimiento.

Los aditivos químicos se prohibieron en 2006 en la Unión Europea (EC 1831/2003) y en el 2010 la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) emitió un proyecto de orientación, "el uso prudente de los antimicrobianos de importancia médica en animales productores de alimentos", en el cual se estableció que el uso de los antimicrobianos de importancia médica en la producción de alimentos de origen animal no es beneficioso para la salud pública (FDA Guidance for Industry, 2012).

Como resultado de las restricciones y tendencias del mercado la industria animal requiere de alternativas eficaces que presenten ventajas como inocuidad, ausencia de efectos residuales y de resistencia, así como de periodo de retiro y rotación. Entre las alternativas que se vienen usando tenemos: los ácidos orgánicos, principalmente el ácido butírico (Antongiovanni *et al.*, 2009; Leeson, 2009), los prebióticos (Lima *et al.*, 2009; Baurhoo *et al.*, 2007), los probióticos (Hernández y Borrell, 1993; Gil De Los Santos y Gil-Turnes, 2005), las lisozimas (Zhang *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2010), los bacteriófagos (Ross *et al.*, 2010) y los extractos vegetales, especialmente aquellos que presentan un amplio rango de actividades (Lee *et al.*, 2007; Bravo, 2009). El mecanismo exacto de cómo trabajan los extractos y aceites esenciales derivados de plantas aún no está claro. El número de productos a base de extractos de plantas en avicultura es cada vez mayor (Grashorn, 2010; Lee, 2007; Panda, 2009).

La biodiversidad con la que el Perú cuenta respecto a la flora hace que sea un país con potencial para el estudio de plantas oriundas, las cuales comúnmente han sido usadas en la medicina tradicional. No obstante, no se han encontrado publicaciones a nivel nacional con respecto a su uso en sanidad animal.

Siendo la producción avícola en el Perú una industria que utiliza antibióticos como promotores de crecimiento/terapéutico y siendo conocido las barreras legales que van en aumento contra estos aditivos químicos, el objetivo del estudio fue determinar el efecto de 16 extractos de plantas sobre la salud intestinal y la productividad en el pollo de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN Y DURACION DEL ESTUDIO

El experimento se llevó a cabo en un ambiente experimental especialmente acondicionado para el proyecto en el campus de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia ubicado en el distrito de Lurín, Lima.

La duración de la parte experimental del trabajo fue de 42 días: 14 días de adaptación y 28 de recolección de datos.

ANIMALES Y SU MANEJO

Se utilizaron 475 pollitos BB machos de 1 día de edad de la línea Cobb 500 provenientes de un mismo lote de reproductoras, las cuales se encontraron libres de enfermedades. Los pollos se vacunaron al primer día de edad en la planta de incubación contra: Marek, Bronquitis Infecciosa y Newcastle. Una revacunación se dio a los 10 días contra la enfermedad de Newcastle.

Los 475 pollitos fueron distribuidos en un Diseño completamente al azar en 19 tratamientos experimentales con cinco repeticiones de cinco aves cada una, cada repetición se alojó en jaulas de 0.60 m² en una densidad de 8 pollos / m².

Se alimentaron las aves con una dieta estándar cuya composición aparece en el Anexo 1. Como se observa en dicho cuadro el alimento no contenía ningún tipo de aditivos anticoccidiales ni promotores de crecimiento, con el fin de no interferir en la evaluación de los tratamientos. El alimento fue preparado en la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

El alimento y agua de bebidas fueron suministrados *ad libitum* de acuerdo a los requerimientos nutricionales de la línea según edad y manejo de las aves (Anexo 1).

TRATAMIENTOS

SELECCIÓN DE LAS PLANTAS Y PREPARACION DE LOS EXTRACTOS

Para este estudio se usaron 19 tratamientos. Consisten en la aplicación de 16 extractos provenientes de igual número de plantas naturales que fueron recolectadas de diversas comunidades andinas, además de tres tratamientos control cuyo listado y detalle aparecen en el cuadro siguiente:

Cuadro 1. Descripción de los desafíos y extractos recibidos por tratamiento.

	Grupo experimental	Desafío con coccidia	Edad de desafío con <i>Clostridium Perfringens</i>
T1	No desafiado y no tratado	No aplica	No aplica
T2	Desafiado y no tratado	14 días	18,19,20 días
T3	Desafiado + Anticoccidial+ PCA	14 días	18,19, 20 días
T4	Extracto de Asteraceae	14 días	18,19,20 días
T5	Extracto de Verbenaceae	14 días	18,19,20 días
T6	Extracto de Asteraceae	14 días	18,19, 20 días
T7	Extracto de Asteraceae	14 días	18,19,20 días
T8	Extracto de Solanaceae	14 días	18,19,20 días
T9	Extracto de Amaranthaceae	14 días	18,19, 20 días
T10	Extracto de Verbenaceae	14 días	18,19,20 días
T11	Extracto de Lamiaceae	14 días	18,19,20 días
T12	Extracto de Passifloraceae	14 días	18,19, 20 días
T13	Extracto de Phytolaccaceae	14 días	18,19,20 días
T14	Extracto de Piperaceae	14 días	18,19,20 días
T15	Extracto de Myrtaceae	14 días	18,19, 20 días
T16	Extracto de Lythraceae	14 días	18,19,20 días
T17	Extracto de Plantaginaceae	14 días	18,19,20 días
T18	Extracto de Scrophulariaceae	14 días	18,19, 20 días
T19	Extracto de Anacardiaceae	14 días	18,19,20 días

Los extractos provenían de diferentes partes vegetativas de las plantas según detalle adjunto:

Cuadro 2.Descripcion de la parte vegetativa útil a usar para el extracto

Parte Útil	Tratamiento	Estado Fenológico
Hojas	T4,T5,T6,T7,T10,T11,T12,T14,T18	
Fruto	T8	
Hojas y Tallo	T9,T17	Maduro
Hojas y Raíz	T13,T19	
Cascara del Fruto y Raíz	T16	

Se realizaron, viajes a las comunidades de Cuzco, Arequipa y Madre de Dios para recolectar 9 kg de cada planta.

Las muestras fueron prensadas en campo después de la recolección con una prensa de plantas con cartón, periódico y bolsa de filtro. No se usaron bolsas de plástico para evitar la proliferación de hongos saprofitos. Se puso saquitos de desecante (sílice) para su traslado a Lima. Luego el material se secó al aire bajo sombra a temperatura ambiente y el material seco se mantuvo en prensa por 2 días.

Las plantas fueron molidas a través de una malla # 4 mm en un molino eléctrico. Los extractos se obtuvieron sometiendo a cocción 60 gramos de la planta molida por litro de agua, por espacio de 20 minutos y filtrando.

El extracto acuoso fue conservado a 4°C hasta el momento de su uso. La preparación de los extractos se realizó diariamente con base en el volumen de agua que consumen los pollos de engorde conforme su edad hasta los 28 días (Cobb , 2012).

INOCULACIONES Y RETOS

En la etapa de inoculación, a los tratamientos: T2 al T19, solo en el día 14 de edad, se inoculó 0.5 ml de la vacuna viva conteniendo 2×10^3 ooquistes vivos de *Eimeria acervulina*, *Eimeria máxima*, *Eimeria necatrix* y *Eimeria tenella* por vía oral, usando una sonda rígida. El protocolo que se uso es una adaptación del modelo sugerido por Young y Noh (2001).

A los tratamientos T2 al T19, a los 18, 19 y 20 días de edad, se les administró $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ unidades formadoras colonia / ml de *Clostridium perfringens*, también por vía oral siguiendo el mismo protocolo modificado de Young y Noh.

RECOLECCION Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

A los 1, 4, 8, 11 y 14 días post-inoculación se colectaron muestras de heces de los estercoleros de las baterías de todos los tratamientos en envases de plástico estériles. Estas muestras se mantuvieron en un cooler en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de UPCH y luego se analizaron por métodos coproparasitologicos

cualitativos (método de concentración) y cuantitativos (Método de Mc Master) para la determinación de la carga parasitaria.

Y en todos los tratamientos incluyendo los controles al día 28 de edad se retiraron temprano los estercoleros con las heces del día anterior. Luego se repuso cubierto de papel kraft esterilizado y se dejó por 1 hora para recolectar las heces por repetición. Finalmente se pasó a bolsas estériles, se sellaron y se trasladaron a 4°C – 8°C al Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

En el laboratorio todas las muestras fueron pesadas tomándose una muestra de 5 gramos, las que se colocaron en frascos de plástico estéril de 100 mL con Fosfato Buffer Salino pH7, hasta completar 50mL. Esta fue la primera dilución. Posteriormente, se transfirieron 1mL a tubos de 150x15mm con tapa de rosca estériles con 9mL de PBS, y así sucesivamente hasta alcanzar la dilución 10⁶.

De cada dilución se sembró por duplicado 100 microlitros en placas de agar EMB (enterobacterias) y en placas de agar MRS (recuento de BAL) y se incubó a 37°C x 48 horas en condiciones de anaerobiosis (MRS) y aerobiosis (EMB). Finalmente se realizó los recuentos en las placas que tuvieron entre 30 y 300 colonias y se calculó el número colonias de enterobacterias y bacterias ácido lácticas por heces.

La efectividad de cada extracto sobre la salud e integridad intestinal se midió a través de grado de lesiones macroscópicas por especies de coccidias e inhibición bacteriana.

En el primero se hizo una observación clínica de las aves diariamente hasta el final de la prueba. La mortalidad que se presentó después del desafío se registró, y a través de la necropsia se determinó la causa de la muerte. Se programó dos necropsias para evaluar el efecto de cada tratamiento, la primera a los 21 días y la segunda a los 28 días. En cada oportunidad se tomó como muestra 1 ave por repetición las cuales fueron pesadas, examinadas clínicamente y sacrificadas para la evaluación de lesiones a nivel intestinal, según el score de lesiones para coccidias propuesto por Johnson y Reid en 1970.

En la inhibición bacteriana se realizó con base en la determinación de la carga de bacterias ácido lácticas (BAL) y Enterobacterias en las heces de los pollos de engorde.

DETERMINACION DE PARAMETROS PRODUCTIVOS

Así mismo se determinaron los parámetros productivos que evaluaron la efectividad de cada extracto de planta sobre el rendimiento productivo en todos los tratamientos.

Se evaluó el rendimiento productivo de las aves en forma semanal hasta la culminación del estudio de acuerdo a los siguientes parámetros.

1. Peso corporal promedio: Se pesarán semanalmente el 100% de las aves de cada grupo experimental desde el primer día hasta el final del estudio.
2. Consumo de alimento: Se registrará semanalmente el consumo acumulado de cada grupo hasta el final del experimento.
3. Ganancia diaria de peso: Es el promedio de peso por ave menos peso inicial dividido entre la edad en días del ave.

4. Índice de conversión alimenticia: Será evaluada semanalmente y obtenido de acuerdo a las variables anteriores.

CRITERIO DE EVALUACION DE RESULTADOS

Las variables cuantitativas continuas peso vivo promedio, consumo de alimento, ganancia diaria y acumulada de peso, índice de conversión alimenticia, fueron evaluados mediante análisis de varianza de un factor. Cuando existió diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), se realizó la prueba de comparación múltiple de medias de Duncan.

La evaluación del score de lesión a los días 21 y 28 se realizó mediante la prueba de Kruskal Wallis y los resultados se expresaron en promedio de rangos para los diferentes grados de lesión. Se consideró la tendencia a tener menos grados de lesión a aquellos grupos cuyo promedio de rangos fue menor. El mismo procedimiento se realizó para el caso de carga parasitaria en N° ooquistes/ gramo de heces, al comparar los diferentes tratamientos en cada una de las 5 fechas de muestreo.

El recuento de Enterobacterias y Lactobacilos por gramo de heces al día 28 se evaluó mediante la prueba de análisis de varianza de un factor. Cuando se halló diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, se realizó la prueba de Comparación Múltiple de Medias de Duncan. Además, se realizó la prueba de Análisis de varianza por regresión considerando como grupo basal al grupo 3 (control con tratamiento convencional y retado).

RESULTADOS

En la evaluación del score de lesión a los días 21 y 28 se encontró que solo para *Eimeria acervulina* y *Eimeria máxima* había diferencias para ambas fechas de medición entre los tratamientos. A los 21 días los grupos que tuvieron el menor score de lesión para el caso de *Eimeria acervulina* fueron los tratamientos T1 y T3. Para el caso de *Eimeria máxima* los menos afectados fueron los tratamientos T5, T4, T6, T7, T10, T11, T14, T16, T17 y T19. Es importante mencionar que para este microorganismos no se encuentra al grupo basal (T3) entre los menos afectados (Anexo 2).

A los 28 días los grupos que tuvieron el menor score de lesión para el caso de *Eimeria acervulina* fueron el tratamiento T3 y T18. Para el caso de *Eimeria máxima* los menos afectados fueron los tratamientos T16, T7, T19 y T3 (Anexo 3).

El análisis parasitológico de ooquistes encontró que para los días 14 y 17 no hubo diferencia estadística entre los promedios de rango para los números de ooquistes recolectados por gramo de heces. A partir del día 21 se observan diferencia y se encuentra que la menor concentración se encuentra en el grupo basal T3. Con rangos promedio de concentración de ooquistes crecientes le siguen el tratamiento T19 (Anexo 4).

En el día 24 se observa que la menor concentración de ooquistes corresponde al grupo basal T3 y T1. Para el día 28 esa menor concentración le corresponde al grupo basal T3 y el T1 (Anexo 4).

Para el análisis microbiológico de recuento de enterobacterias. La evaluación estadística muestra que el menor promedio correspondió al tratamiento T8. En el otro bloque están los tratamientos T13, T7, T12 y T18. Más adelante el tratamiento T14 y T10. Todos ellos significativamente diferentes estadísticamente. (Anexo 5)

El anexo 6 muestra el resumen descriptivo del recuento de bacterias ácidos lácticos (expresados en Log 10) a los 28 días. La evaluación estadística muestra que el menor promedio correspondió a los tratamientos T14, T13, T12 y T15. En contraste, y significativamente diferentes, los mayores promedios de recuentos se observan en los tratamientos T11, T4, T10, T7, T9, T17, T6, T5, T18, T3, T1 y T2.

Cuando la contrastación es entre el basal (T3) y los demás tratamientos, se encontró una respuesta diferente con menor crecimiento dependiente de los tratamientos T14, T13, T12 y T15 y otros con un recuento mayor sin guardar diferencia estadística como es el T11 (Anexo 6).

Para el parámetro productivo peso la evaluación estadística muestra que los tratamientos con extracto de plantas de T16, T12, T15 y el T2 sin aditivos alcanzaron los pesos más bajos respecto a los demás. Sin embargo, cuando la contrastación es entre el basal T3 y los demás tratamientos, las diferencias se reducen a los tratamientos con extracto de T16, T12 y T15 (Anexo 7).

Respecto al grupo basal T3, los grupos que tuvieron mejores promedios para peso a los 28 días fueron los tratamientos con extracto de plantas T14, T18, T7, T5 y T6, encontrándose una igualdad significativa con el T18 dependiente del extracto y una diferencia estadística significativa positiva con T14 dependiente del extracto.

En el parámetro productivo consumo de alimento acumulado la evaluación estadística muestra que los tratamientos T16, T15 y T12 alcanzaron el nivel más bajo el consumo de alimento respecto a los demás. Cuando la contrastación es entre el grupo basal T3 y los demás tratamientos, se encontró diferencia estadística únicamente con el tratamiento T16 y también hallamos una igualdad en el consumo de alimento entre el T3 y T2, T12, T15 dependiente del extracto. (Anexo 8).

Respecto al tratamiento basal, los tratamientos que tuvieron promedios mayores para la variable en estudio fueron los tratamientos con extracto de T18, T4, T19, y T7.

En la variable ganancia diaria de peso la evaluación estadística muestra que los tratamientos T16, T15, T12 y el T2 "desafiado sin aditivos" alcanzaron los menores promedios de ganancia de peso en comparación a los demás. Estas diferencias fueron significativas respecto a los demás tratamientos. Y cuando la contrastación es entre el basal (T3) y los demás tratamientos, las diferencias se mantienen encontrando que los tratamientos T16, T15, T12 y el T2 " son los que obtuvieron las menores ganancias diarias de peso promedio dependientes del extracto. (Anexo 9)

Respecto al grupo basal, los grupos que tuvieron mejores promedios para ganancia diaria de peso fueron los tratamientos T14, T18, T7, T5, T6, T1, T17, T9, T19, T4 y T13, y cuando se compara contra el tratamiento basal se encontró únicamente diferencia estadística con el T14 encontrándose una igualdad significativa con el T18 dependiente del extracto y una diferencia estadística significativa positiva con T14 dependiente del extracto.

En el parámetro productivo índice de conversión alimenticia cuando se usa un alfa de 0.10 respecto al grupo basal (T3), los grupos que tuvieron mejores promedios, es decir menor índice de conversión

alimenticia, fueron los tratamientos T14, T9, T5, T18, T17, T6, T8, T10, T1, T7, T13, T2 y T16, sin embargo el único que mostro diferencia estadística significativa a dicho alfa fue el T14, en contraste el tratamiento que mostro un promedio más alto significativamente fue el T12 (Anexo 10).

DISCUSIÓN

En la actualidad están siendo prohibidos y limitados los aditivos químicos y antibióticos (EC 1831/2003) que se usan para tratar agentes patógenos con repercusión económica en la producción avícola, *Eimeria sp.* y *Clostridium perfringens*. Es por ello que al cobrar importancia hemos buscado otras alternativas naturales que tengan un efecto anticoccidial y antibacterial, en la salud intestinal de las aves comerciales traducido en buenos parámetros productivos y sea de beneficio para la salud pública.

En el estudio se usó como control de referencia al grupo 3 (tratamiento con anticoccidial, con Promotor de crecimiento Antibiótico (PCA) y desafiadas), como sucede bajo condiciones de campo con los pollos de engorde en la industria avícola que están en riesgo frente a patógenos, *Eimeria sp.* y *Clostridium perfringens*.

Para este estudio que un tratamiento de aves tenga un buen parámetro productivo (Peso promedio, ICA) y salud intestinal dependerá de varios puntos importantes, entre ellas una buena digestión del alimento, la promoción del extracto a ampliar la superficie intestinal para absorción de nutrientes, la agudeza del reto sanitario, la capacidad antiinflamatoria del extracto para controlar el daño ocasionado por *Eimeria sp.* permitiendo la absorción de nutrientes, control de numero de ooquistes ,efecto antimicrobial de bacterias patógenas a nivel intestinal, control de bacterias a nivel intestinal, entre otros.

El reto sanitario que recibieron los tratamientos con desafío fueron los mismos, solo en el día 14 de edad, se inoculó 0.5 ml de la vacuna viva conteniendo 2×10^3 ooquistes vivos de *Eimeria acervulina*, *Eimeria máxima*, *Eimeria necatrix* y *Eimeria tenella*. Y los mismos tratamientos a 18, 19 y 20 días de edad, se les administró $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ unidades formadoras colonia / ml de *Clostridium perfringens*, también por vía oral siguiendo el mismo protocolo modificado de Young y Noh.

Tras los resultados se determino que el tratamiento que controlo disminuyendo el daño ocasionado por coccidias fue el T3. Sin embargo en los demás tratamientos de extractos de plantas hubo mayor daño intestinal, estos datos también fueron obtenidos por Almeida *et al* (2012) y Loredana (2015) para el daño producido por *Eimeria acervulina* y *Eimeria máxima*, donde el ajenojo (T4) no controlo el daño intestinal para ninguna coccidia.

Se encontró que hay tratamientos de extractos de planta con parámetros productivos como peso sin diferencia con el tratamiento 3. Esto podría deberse a otros factores no medidos del efecto de las plantas sobre el estado inmunológico. De acuerdo a Trivellato Grassi hay extractos como *Chenopodium ambrosioides* (T9) que tienen efectos antiinflamatorios y analgésicos que inhiben mediadores como bradicina (BK), Óxido nítrico (NO), sustancia P (SP), prostaglandina E2 (PGE2), factor de necrosis tumoral (TNF-a), enzimas de actividad mieloperoxidaza (MPO) y enzima deaminasa (ADA)(2012) lo que favorecería la absorción de nutrientes. También para Miles *et al* (2006) la reducción de las reacciones inflamatorias en la mucosa intestinal dadas por el promotor *Pipiper aduncum* (T14), conduce al aumento de la superficie de las vellosidades y de las funciones de la secreción, la digestión y absorción de nutrientes por la mucosa.

Latha M. (2009) también menciona que los extractos de *Scoparia dulcis* (18) tienen metabolitos secundarios entre ellos flavonoides los cuales tienen actividad antiinflamatoria, esto sería un factor positivo que influenciaría en la reabsorción de nutrientes.

Por el lado opuesto el control (T2) que fue desafiado que no recibió tratamiento fue uno de los más bajos a nivel de parámetros productivos, como menciona Brooke (2006) la respuesta inmune contra patógenos está acompañada de una fase aguda de respuesta sistémica, en ella hay una redistribución de los nutrientes alejándolos de la construcción de músculo esquelético que va hacia la producción y secreción de proteínas de la fase aguda. El alto costo de una respuesta a la fase aguda aparentemente explica por qué un desafío infeccioso causa cambio en la condición corporal y del metabolismo energético, de pronto el requerimiento para el desarrollo y mantenimiento del sistema inmunológico en una situación de desafío infeccioso se transforma en un aumento importante de la demanda de nutrientes.

Piper aduncum (T14) provoca un aumento de la superficie de absorción debido a un aumento del tamaño de la vellosidad en duodeno e íleon, y también disminuye la profundidad de criptas. Khajuria *et al* (2002) menciona también que la piperina induce una síntesis de proteínas asociadas al citoesqueleto celular lo cual colabora en el aumento del área de absorción.

Otra razón por la cual esta planta modifica la morfología de la vellosidad es que actúan reduciendo la cantidad de bacterias patógenas y según Miles *et al* (2006) la reducción de las reacciones inflamatorias en la mucosa intestinal dadas por el promotor conduce al aumento de la superficie de las vellosidades y de las funciones de la secreción, la digestión y absorción de nutrientes por la mucosa.

En cuanto a los controles, el mejor tratamiento dentro de aves desafiadas fue el T3 que usó PCA y anticoccidial, debido a que el conteo de ooquistes por gramo de heces fue el más reducido, y en

contraste el segundo tratamiento que fueron aves desafiadas sin ningún aditivo registro los niveles más altos de ooquiste en heces, cabe resaltar que los tratamientos de extractos de plantas no alcanzaron a disminuir el número de ooquistes en las heces como lo hace el tratamiento T3 con PCA y anticoccideal, que controla de forma moderada el número de ooquistes en comparación al tratamiento 2 que no tuvo ningún aditivo. Esto evidenciaría que los extractos de plantas tienen un efecto reductor en el número de ooquistes, pero aún no está claro el mecanismo.

Por ejemplo, la artemisina del ajeno (T4) se le asocia que interfiere con la reproducción de la *Eimeria* (Allen et al, 1997; Arab et al, 2006) y también reduce la capacidad del oocisto de esporular o de sobrevivir en el ambiente (del Cacho et al, 2010).

Es importante mencionar que en el estudio actual para ajeno presento un recuento de ooquistes que no tuvo efectos positivos versus el T3, sin embargo Almeida *et al* (2012) y Loredana (2015) respectivamente encontraron un efecto positivo sin significancia y en el segundo que usó concentraciones exactas del principio activo (Artemisia) si tuvo efectos positivos frente al control, lo que sugiere que es necesario realizar más estudios para saber cómo actúa este principio activo y en qué cantidades están en la planta para dosificarla mejor.

Con respecto al efecto bactericida, se encontró que los tratamientos T14, T18 y T7 fueron las que tuvieron mejor efecto antibacteriano, se encontró niveles más bajos de Unidades formadoras de colonia (UFC) de enterobacterias y bacterias ácido lácticas, superando al tratamiento 3, y los dos tratamientos que tuvieron mayor concentración de bacterias a nivel intestinal fueron el T1 y T2 que no recibieron ningún aditivo.

La disminución de las bacterias patógenas a nivel de la mucosa intestinal redujo la competición por nutrientes con el hospedero, disminuyó las toxinas y amonio producidos por estos patógenos, mejorando absorción de nutrientes y consecuentemente promoviendo la disminución de células inflamatorias en la pared intestinal y la renovación de vellosidades intestinales (Armstrong, 1986; Henry et al, 1987; Adams, 1989) traduciéndose esto en una mejor utilización de los nutrientes suministrados. Cabe mencionar que el T14 y T18 son los tratamientos que a consecuencia de esto también son los que mejores parámetros productivos tienen.

Se sabe que las bacterias ácido lácticas incrementan la flora beneficiosa, previenen la colonización por agentes patógenos e influyen positivamente sobre el crecimiento y el aprovechamiento de los nutrientes (Rodríguez, 2002). Sin embargo, también compiten por nutrientes con el hospedero.

Nuestro tratamiento T7 fue uno de los grupos que tuvo un efecto reductor contra enterobacterias, sin embargo, en un estudio realizado por Ashafa (2009) donde evaluaron extractos metanólicos, acetónicos y acuosos de la planta, se reportó que solo los extractos metanólicos y acetónicos tenían efectos inhibidores contra bacterias Gram positivas y negativas, mientras que el extracto acuoso de la planta no.

En el presente estudio como se menciona T18 tuvo uno de los mejores efectos reductores contra enterobacterias, por encima del tratamiento 3 que uso PCA. En un estudio similar Abu Hasanat (2011), Mua (2014) y Coulibaly et al (2012) encontraron que *Scoparia dulcis* (T18) tiene una actividad antimicrobial de amplio espectro, pero sobre todo contra bacterias Gram negativas, dato que sustentaría el resultado encontrado.

Cruz-Carillo (2010) encontró que *Schinus molle* (T17) no presento una actividad antimicrobial contra bacterias Gram negativas lo que corroboraría una baja actividad antimicrobiana contra enterobacterias,

Domingo & López (2003) mencionan que las bacterias Gram negativas presentan compuestos anfipáticos que operan como bombas de expulsión de diversas sustancias, por lo cual, el antibacteriano de *Schinnus sp.* (T17) es expulsado de manera inmediata, sin alcanzar a cumplir el efecto. Para este caso el tratamiento 3 con PCA actúa de mejor manera como antibacteriana a nivel intestinal.

Luego a nivel de parámetros productivos el estudio demuestra que dar extractos de plantas en agua de bebida dio un óptimo efecto en peso frente al control en los tratamientos T14, T18, T7, T5 y T6. Se encontró diferencia significativa para T14 en el parámetro peso hasta los 28 días. En contraste con un estudio realizado por S. Cardozo (2012) que aisló el principio activo llamado piperina de esta planta la cual suministrada en una dosis controlada de 60mg/kg encontró un efecto positivo significativo en ganancia peso e Índice de conversión alimenticia recién en el periodo 35-42 días, cabe mencionar que para este mismo estudio, en una dosificación entre 120-180 mg/kg se encontró daño hepático por aumento de permeabilidad en la membrana celular hepática, por lo que se tiene que controlar la dosis de esta planta ya que podría ser contraproducente. Cardozo también menciona que la piperina a una dosis de 60mg/kg provoca un aumento de la superficie de absorción debido a un aumento del tamaño de la vellosidad en duodeno e íleon, y también disminuye la profundidad de criptas. Khajuria *et al* (2002) menciona que la piperina induce una síntesis de proteínas asociadas al citoesqueleto celular lo cual colabora en el aumento del área de absorción. Esto explicaría los buenos efectos positivos encontrados para esta planta, aunque sería importante poder evaluarla hasta 42 días que es el fin de campaña para pollos de carne.

El tratamiento T18 presentó el segundo más alto parámetro en peso detrás de T14, no guardó diferencia estadística con el T3 por lo que podría ser una alternativa al uso de aditivo químico también. Según Latha M (2009) esta planta tiene metabolitos secundarios entre ellos flavonoides los cuales tienen actividad antiinflamatoria, esto sería un factor positivo que influenciaría la absorción de nutrientes.

Everton (2015) reporta en su estudio con *Bacharis drancunculiforme* (T6) que no encontró diferencia en peso usando promotor de crecimiento y el extracto natural de esta planta, pero cabe mencionar que él no sometió a un reto sanitario su estudio, para lo que el concluye entonces si se sometiese a condiciones de desafío sanitario suficientes los aditivos mejoradores de desempeño pasarían a ejercer sus funciones y así evidenciar diferencias.

Cabe mencionar que para el tratamiento T4 también obtuvo valores positivos para peso, estos resultados concuerdan con los datos de peso y Ganancia de peso acumulada (GPA) realizados por Loredana (2015), los que también obtuvieron efectos positivos usando ajeno rumano sin guardar diferencia estadística.

En cuanto a los siguientes parámetros productivos como Ganancia de peso diaria (GPD) y Ganancia de peso acumulada (GPA). También fueron los tratamientos T14, T18, T7, T5 y T6 los que obtuvieron los resultados más óptimos. Mientras que los tratamientos T8, T12, T15 y T16, respectivamente presentaron los parámetros productivos más bajos, por debajo del control, siendo las diferencias significativas para T12, T15 y siempre con respecto al control.

Cabe resaltar que durante el ensayo las aves pertenecientes al tratamiento T16 tuvieron un rechazo a este extracto por lo que su consumo se veía limitado debido a su rápida oxidación y consecuentemente disminución del consumo. Según Cobb-Vantress (2012) sin un adecuado consumo de agua, el consumo de alimento disminuirá y el rendimiento de las aves se verá comprometido reforzando lo acontecido para este tratamiento siendo el más bajo de todos. En contraste con lo antes mencionado Gamal *et al* (2015) usando este mismo insumo encontró efectos positivos para peso, GPD y GPA de pollos en comparación de sus controles que no recibieron aditivos, y una disminución de bacterias a

nivel intestinal. Cabe resaltar que su extracto uso como solvente etanol y no agua, para luego darle un proceso de evaporado y congelado hasta su uso.

Un parámetro muy importante en la industria avícola es el consumo de alimento por el cual juntamente con el peso obtenemos el índice de conversión alimenticia (ICA). En este estudio los tratamientos que obtuvieron los mejores ICA fueron los tratamientos T14, T6, T7, T9, T14, T18. Lo mismos tratamientos que resultaron con el mejor peso, obtuvieron también los ICA más bajos en comparación al tratamiento 3 control con anticoccidial y PCA siendo esto óptimo. Cabe resaltar que el único tratamiento que guardo diferencia estadística contra el tratamiento control a un alfa de 0.1 fue el T14.

Explicados los puntos más importantes en salud intestinal que podrían afectar al ICA y peso encontramos que los mejores tratamientos en el presente estudio se debieron al Extracto de *Piperaceae* (T14), Extracto de *Scrophulariaceae* (T18) y el control positivo con aditivo químico (T3). Con el uso de extracto de *Piperaceae* (T14) se encontró diferencia significativa con el control positivo por lo que podría ser usada como una primera alternativa a usar en la industria avícola, y el extracto de *Scrophulariaceae* (T18) que obtuvo un resultado óptimo también aunque no guardo diferencia estadística versus el control nos indicaría que podría también ser una segunda alternativa natural a usar con buenos resultado frente al tratamiento 3 que también fue desafiada y uso PCA y anticoccidial como se realiza de forma rutinaria en la industria avícola.

CONCLUSIONES

Tenemos al extracto de *Piperaceae* (T14) que tuvo un efecto positivo en comparación del tratamiento control con promotores de crecimiento y anticoccidial en parámetros productivos del ave pudiendo ser una alternativa a usar en la industria avícola.

También se halló que el extracto de *Scrophulariaceae* (T18) tuvo un efecto igual al tratamiento positivo que uso aditivo químicos lo que nos daría una segunda alternativa a usar en la industria avícola en países con barreras legales de aditivos químicos.

Los extractos de *Capsicum pubescens* (T8), *Myrtillocypris setosa* (T11), *Passiflora edulis* (T12), *Psidium guajaba* (T15) y *Punica granatum* (T16) presentaron los parámetros productivos más bajos, por debajo de mi tratamiento control con promotor de crecimiento y coccidiostato.

El tratamiento control con aditivo químico pese a no tener los mejores parámetros productivos en el actual estudio fue el que controló mejor daño intestinal por *Eimeria acervulina*, *Eimeria* máxima y recuento de ooquistes.

El extracto de *Scrophulariaceae* (T18) controló mejor a las enterobacterias en comparación con el tratamiento control positivo con aditivo. Del mismo modo el extracto de *Piperaceae* (T14) hizo lo mismo con las bacterias ácido lácticas versus el control positivo.

BIBLIOGRAFÍA

- A. K. Panda*, S. V. Rama Rao, M. V. L. N. Raju and G. Shyam Sunder. 2009. Effect of Butyric Acid on Performance, Gastrointestinal Tract Health and Carcass Characteristics in Broiler Chickens. Project Directorate on Poultry, Rajendranagar, Hyderabad, 500-030, India.
- A. O. T. Ashafa and A. J. Afolayan .2009. Screening the root extracts from *Biden pilosa* L. *varradiata* (Asteraceae) for antimicrobial potentials.
- Abu Hasanat MD. Zulfiker, Masuma Siddiqua, Laizuman Nahar, MD. Razibul Habib, , Nizam Uddin, Nahid Hasan, MD. Sohel Rana .2011. In vitro antibacterial, antifungal & cytotoxic activity of *Scoparia dulcis*. ISSN- 0975-1491. Vol 3, Suppl 2.
- Allen P.C., Lydon J., Danforth H.D..1997. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. *Poult. Sci.* 76:1157-1163.
- Anastasia Cruz-Carrillo, Natalia Rodríguez N.Carlos Eduardo Rodríguez .2010. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum* *Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient.* 13 (2): 118-124
- Antongiovanni M., Buccioni A., Petacchi F., Leeson S., Minieri S., Martini A., & Cecchi R. 2007. Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: effects on gut histology and carcass composition. *Ital J Anim Sci.* 6:20-25.
- Arab, H.A., Rahbari, S., Rassouli, A., Moslemi, M.H., Khosravirad, F.D.A..2006. Determination of artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. *Trop.Anim.Health Prod.* 38, 496-503.

- Armstrong, D.G. Butery, P.J., Linsay, D.B., Haynes, N.B.. 1986. Gut-active growth promoters In: Control and manipulation of animal growth. Londres: Butterworths, .21-37.
- Augustine P.. 2001.. Cell sporozoite interaction and invasion by apicomplexan parasites of genus Eimeria. Int J Parasitol; 31:1-8.
- Baurhoo, B., P. R. Ferket, and X. Zhao. 2009. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers. Poult. Sci. 88:2264–2272.
- Brooke D. Humphrey, Elizabeth A. Koutsos and Kirk C. Klasing. 2016. University of California, Davis, CA. USA Alltech Inc. Requerimientos y prioridades de los nutrientes para el sistema inmunológico.
- Cobb Vantress .2012. Guia de Manejo del pollo de engorde. Vol 1021(03):4-8
- Coulibaly, Kiessoum Konate , Estelle N. H., Youl Pierre A.E.D. Sombie , Martin Kiendrebeogo , Nâg-Tiéro R.Meda, Aline Lamien , Boukaré Zeba and Odile G. Nacoulma .2012. Anti-proliferative effect of Scoparia dulcis L. against bacterial and fungal strains Ahmed Int. J. Biol. Chem. Sci. 6(6): 3055-3063 ISSN 1991-8631
- Del Cacho, E., Gallego, M., Francesch, M., Quílez, J., Sánchez-acedo, C.. 2010. Effect of artemisinin on oocyst wall formation and sporulation during Eimeria tenella infection. Parasitol. Int. 4, 506–511.
- Domingo, D.; López, M..2003. Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Española Quimioterapia. 16(4):385-393.
- Everton Moreno Muro. Antonio Celso Pezzato, Vitor Barbosa Fascina. 2015. Baccharis dracunculifolia na alimentação de frangos de corte Universidade estadual Paulista faculdade de medicina veterinária e zootecnia câmpus de botucatu.

- Food and drug administration .2010. Guía para la industria, Evaluación de la inocuidad de nuevos medicamentos antimicrobianos para animales con respecto a sus efectos microbiológicos en bacterias de importancia en la salud humana.
- Gamal A. A. Hamady, Mamdouh A. Abdel-Moneim , Ghadir A. El-Chaghaby Zeinab M. Abd-El-Ghany and Mervat S. Hassanin. 2015.. Effect of Pomegranate peel extract as natural growth promoter on the productive performance and intestinalmicrobiota of broiler chickens.
- Gil de los Santos J, Gil Turnes C.. 2005.. Probióticos en avicultura. Ciencia Rural 35: 741-747.
- Gong, H. Yu, T. Liu, J.J. Gill, J.R. Chambers, R. Wheatcroft, P.M. Savour .2008., Effects of zinc bacitracin, bird age and access to range on bacterial microbiota in the ileum and caeca of broiler chickens. J Appl Microbiol., 104, 1372–1382
- Gore, T.C & Long. P.L .1982.. The biology and pathogenicity of a recent field isolate of *Eimeria Praecox*, Johnson 1930. Journal of Protozoology, 29, 82-85.
- Grashorn MA. .2010. Use of phytobiotics in broiler nutrition – an alternative to in feed antibiotics J Anim Feed Sci. 19:337-345.
- Guopeng Zhang, Greg F. Mathis, Charles L. Hofacre, Parastoo Yaghmaee, Richard A. Holley, and Tim D. Durance .2010.. Effect of a Radiant Energy–Treated Lysozyme Antimicrobial Blend on the Control of Clostridial Necrotic Enteritis in Broiler Chickens- Summarized from Avian Diseases, Vol. 54, suppl. 4, 1298–1300
- Henry, P.R., Ammerman, C.B., Campbell, D.R. et al. (1987) Effect of antibiotics on tissue trace mineral concentration and intestinal tract weight of broiler chicks. Poult. Sci., v.66, 1014-1018, 1987.
- Izat, A. L., Thomas, R. A., Adams, M. H.. 1989. Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. Poultry Science, Champaign, vol. 68, suppl 5, 651-655.

- Jorgensen, Np Stewart, Pj Jeston, Jb Molloy, Gw Blight, Rj Dalglish. 1997. Isolation and pathogenicity of australian strains of eimeria praecox and eimeria mitis.
- Khajuria, A.; Thusu, N.; Zutshi, U. .2002. Piperine modulates permeability characteristics of intestine by inducing alterations in membrane dynamics: influence on brush border membrane fluidity, ultrastructure and enzyme kinetics. *Phytomedicine*, vo.9,224-231, 2002.
- Latha M, Pari L, Ramkumar KM, Rajaguru P, Suresh T, Dhanabal T, et al.. 2009. Antidiabetic effects of scoparia acid D isolated from *Scoparia dulcis* in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Nat Prod Res* 2009; 23:1528-40.
- Latha M, Ramkumar KM, Pari L, Damodaran PN, Rajeshkannan V, Suresh T. . 2006. Phytochemical and Antimicrobial Study of an Antidiabetic Plant: *Scoparia dulcis* L. *J Med Food*, 9: 391-394.
- Lee CY ,Jang IS., Ko YH., Kang SY., . 2007. Effect of commercial essential oils on growth performance, digestive enzyme activity, and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci Technol*. 134:304–315.
- Lee Hyun Sung, H S Lillehoj, Duk K Kim, David M Bravo,. 2011. Effects of dietary plant-derived phytonutrients on the genome-wide profiles and coccidiosis resistance in the broiler chicken. *BMC Proc.*; 5: S34
- Lee KW, Everts H, Kappert HJ. et al. . 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science* ; 44:450-457.
- Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY . 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 7292 -7295
- Lee WC, Wang CJ, Chen YH, Hsu JD, Cheng SY, Chen HC, et al. . 2009. Polyphenol extracts from *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus attenuate nephropathy in experimental type 1

diabetes. *J Agric Food Chem* ;57:2206-2210.

- Leeson S., Namkung H., Antongiovanni M., & Lee EH. 2005. Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poult Sci.* 84:1418–1422
- Liliane Trivellato Grassi, Angela Malheiros , , Christiane Meyre-Silva, , Ziliani da Silva Buss, Eduardo Dalmarco Monguilhott , Tania S. Frode , Kathryn Ana Bortolini Simao da Silva, Marcia Maria de Souza. 2013..From popular use to pharmacological validation: A study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract *Journal of Ethnopharmacology* 145, 127–138
- Loredana M. Pop, Adriana Györke, Ioan A. Pop , Zsuzsa Friss, Diana Bărburaș, AndraToma-Naic, Zsuzsa Kálmar, Virginia Magdaș, Adela Pinteia, Viorica Mircean, Iustina Lobonțiu, Vasile Cozma . 2015. *Artemisia annua* improves chickens performances but has little anticoccidial effect in broiler chickens. *Sci Parasitol* 16(3):95-102,ISSN 1582-1366
- M. Dardi, M. Pagès Bosch, E. Martínez Benítez, E. del Cacho y J. Rubio .2010. Prevalencia europea de *Eimeria praecox*. Resultados preliminares de un estudio llevado a cabo en granjas comerciales de broilers en Bélgica, España e Italia.
- McAuliffe O, Ross RP, Fitzgerald GF .2007. The new phage biology: from genomics to applications. En: Mc Grath S., van Sinderen D. (eds) *Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Cork, Ireland, 1-41
- Miles, R.D.; Butcher, G.D.; Henry, P.R.; Littell, R.C.. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science*, vol.85, 476-485.
- Panda AK, Rao SVR, Raju MVLN, Sunder GS.. 2009. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Assian-Australasian Journal Animal Science*; 7:1026-1031.

- Ríos Martín A..2002. Coccidiosis aviar.
- Rodríguez Membibre, María Luisa. 2002. Bacterias productoras de ácido láctico: Efectos sobre el crecimiento y la flora intestinal de pollos, gazapos y lechones.
- Shirley, M.W & Long, P.L.1990. Control of coccidiosis in chickens: immunization with live vaccines. In P.L. Long (Ed.), Coccidiosis of Man and Domestic Animals 321-341.
- Uma A. Najila Banu, J. Sathica Taj, U. Josephine Benedit Bai .2014. Phytochemical screening and antibacterial activity of scoparia dulcis extracts Vol 7, Issue 3, ISSN - 0974-2441 Asian journal of pharmaceutical and clinical research.
- Union Europea .2003. . Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council on additives for use in animal nutrition.
- Verônica da Silva Cardoso, Cristina Amorim Ribeiro de Lima, Marco Edílson Freire de Lima, Luis Eduardo Gomes Dorneles y Maria das Graças Miranda Danelli .2012. Piperine as a phytogetic additive in broiler diets.Instituto de Ciências Exatas. Pesq. agropec. bras., Brasília, vol.47, Suppl.4 .489-496.
- Williams, R.B .1995.. Epidemiological studies of coccidiosis in the domesticated fowl (Gallus gallus): IV. Reciprocity between the immune status of floor- reared chickens and their excretion of oocysts. Applied Parasitology, 36, 290-298.
- Youn H, Noh J...2001. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against Eimeria tenella. Veterinary Parasitology. ; 96(4): 257–263.
- Zavala Guillermo .2007.. Nuevas estrategias para mejorar el valor y el rendimientos de las aves- Intestinal Health. Latino América Edición #3.

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de composición de las dietas experimentales empleadas en el estudio

Ingredientes (%)	Inicio (0-21d)	Crecimiento (22-28d)
Maíz	65.511	67.421
Torta de Soya	30.000	26.000
Aceite de Soya	-	2.400
Carbonato de Calcio	1.220	1.120
Sal	0.240	0.210
DL-Metionina	0.284	0.209
Lisina	0.285	0.230
Premezcla Vitamínico- Mineral*	0.100	0.100
Secuestrante	0.250	0.250
L-treonina	0.060	0.060
Antioxidante	0.020	0.020
Total	100.00	100.00

*Administración por kg de Dieta: Vit A 12000UI; Vit D3: 2500 UI, Vit E: 30UI, Vit K3: 3mg; Tiamina 1.5 mg;

Riboflavina: 5.5mg; piridoxina:3 mg ; Vit B12:15 ug; Acido Fólico:1mg; Niacina: 30mg; Acido

Pantotenico:11mg; Biotina:150ug; Zinc:45mg; Hierro:80mg; Manganeso: 65mg; Cobre 8mg; Yodo 1mg;

Selenio:150ug.

Anexo 2. Distribución de los rangos promedios para el grado de lesión provocado por los microorganismos en estudio sobre la mucosa intestinal de pollos entre los grupos de tratamientos evaluados a los 21 días

Grupo	N	Promedio de rangos para la prueba de Kruskal Wallis			
		<i>Eimeria acervulina</i>	<i>Eimeria máxima</i>	<i>Eimeria Tenella</i>	<i>Clostridium perfringes</i>
1	5	6,5	39,0	49,5	48,0
2	5	70,3	77,0	59,0	48,0
3	5	6,5	58,0	49,5	48,0
4	5	49,0	39,0	59,0	48,0
5	5	57,5	39,0	59,0	48,0
6	5	43,3	39,0	40,0	48,0
7	5	56,8	39,0	49,5	48,0
8	5	49,7	77,0	49,5	48,0
9	5	43,3	58,0	40,0	48,0
10	5	50,4	39,0	40,0	48,0
11	5	57,5	39,0	49,5	48,0
12	5	43,3	48,5	40,0	48,0
13	5	56,8	58,0	59,0	48,0
14	5	63,2	39,0	40,0	48,0
15	5	53,7	58,0	49,5	48,0
16	5	40,2	39,0	40,0	48,0
17	5	56,8	39,0	40,0	48,0
18	5	63,9	48,5	49,5	48,0
19	5	43,3	39,0	49,5	48,0
Sig.		0,002	0,001	0,671	1,000

Los rangos que son diferentes de las poblaciones comparadas indican diferencia. ($p \leq 0.05$)

Anexo 3. Distribución de los rangos promedios para el grado de lesión provocado por los microorganismos en estudio sobre la mucosa intestinal de pollos entre los grupos de tratamientos evaluados a los 28 días

Grupo	N	Promedio de rangos para la prueba de Kruskal Wallis			
		<i>Eimeria acervulina</i>	<i>Eimeria máxima</i>	<i>Eimeria Tenella</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
1	5	89,2	86,8	62,2	47,5
2	5	39,6	61,4	62,2	47,5
3	5	20,5	27,0	43,4	47,5
4	5	46,4	35,6	52,8	47,5
5	5	49,7	65,6	52,8	57,0
6	5	34,9	27,0	62,2	47,5
7	5	51,5	27,0	34,0	47,5
8	5	70,6	74,2	55,6	47,5
9	5	49,3	61,4	43,4	47,5
10	5	42,1	44,2	34,0	47,5
11	5	58,7	35,6	34,0	47,5
12	5	53,6	48,4	52,8	47,5
13	5	42,1	52,8	62,2	47,5
14	5	58,7	57	43,4	47,5
15	5	46,8	48,4	34,0	47,5
16	5	42,1	44,2	43,4	47,5
17	5	46,8	65,6	43,4	47,5
18	5	20,5	35,6	43,4	47,5
19	5	48,9	27,0	52,8	47,5
Sig.		0,020	0,000	0,355	0,456

Los rangos que son diferentes de las poblaciones comparadas indican diferencia. ($p \leq 0.05$)

Anexo 4.- Distribución de los rangos promedios para los números de ooquistes recolectados por gr/heces en diferentes días del estudio

Grupo	N	Momento de la toma de muestra				
		14 días	17 días	21 días	24 días	28 días
1	5	48.0	48.0	25.4	9.0	9.0
2	5	48.0	48.0	44.2	71.8	60.0
3	5	48.0	48.0	18.0	9.0	7.0
4	5	48.0	48.0	69.8	66.2	48.1
5	5	48.0	48.0	65.0	54.1	60.0
6	5	48.0	48.0	55.0	36.1	38.8
7	5	48.0	48.0	73.6	60.0	74.6
8	5	48.0	48.0	60.8	45.2	50.8
9	5	48.0	48.0	35.4	74.0	66.1
10	5	48.0	48.0	42.9	61.9	54.0
11	5	48.0	48.0	61.2	59.2	58.0
12	5	48.0	48.0	57.2	50.0	65.5
13	5	48.0	48.0	57.9	54.5	39.6
14	5	48.0	48.0	51.6	39.3	34.2
15	5	48.0	48.0	41.6	41.4	33.2
16	5	48.0	48.0	42.2	39.8	20.1
17	5	48.0	48.0	41.0	43.9	34.0
18	5	48.0	48.0	46.2	57.1	49.2
19	5	48.0	48.0	23.0	39.5	47.9
Sig.		1.000	1.000	0.035	0.004	0.006

Los rangos que son diferentes de las poblaciones comparadas indican diferencia. ($p \leq 0.05$)

Anexo 5. Cuadro comparativo de los promedios de recuento de enterobacterias (expresado en Log 10) a los 28 días de los diferentes grupos de tratamiento

Grupo	B	Sig.
BASAL - Grupo 3 ^{ef}	7.287	0.00
Grupo1 ^g	7.361 ^g	0.01
Grupo2 ^g	7.359 ^g	0.01
Grupo4	7.308	0.45
Grupo5	7.286	0.97
Grupo6	7.321	0.23
Grupo7 ^{bc}	7.191 ^{bc}	0.00
Grupo8 ^a	7.015 ^a	0.00
Grupo9	7.327	0.15
Grupo10	7.245	0.13
Grupo11	7.289	0.94
Grupo12 ^{bc}	7.196 ^{bc}	0.00
Grupo13 ^b	7.168 ^b	0.00
Grupo14 ^{cde}	7.235 ^{cde}	0.05
Grupo15	7.268	0.49
Grupo16	7.305	0.52
Grupo17	7.297	0.71
Grupo18 ^{bcd}	7.209 ^{bcd}	0.00
Grupo19	7.303	0.57

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Anexo 6. Cuadro comparativo de los promedios de recuento de bacterias ácido lácticas (expresado en Log 10) a los 28 días de los diferentes grupos de tratamiento

Grupo	Promedio	Sig.
BASAL - Grupo 3 ^c	7.193	0.00
Grupo1	7.243	0.17
Grupo2	7.228	0.32
Grupo4	7.248	0.12
Grupo5	7.213	0.57
Grupo6	7.216	0.52
Grupo7	7.24	0.19
Grupo8	7.139	0.13
Grupo9	7.238	0.21
Grupo10	7.243	0.17
Grupo11 ^c	7.265	0.04
Grupo12 ^{ab}	7.04	0.00
Grupo13 ^{ab}	7.039	0.00
Grupo14 ^a	7.01	0.00
Grupo15 ^{ab}	7.079	0.00
Grupo16	7.181	0.74
Grupo17	7.235	0.24
Grupo18	7.203	0.79
Grupo19 ^b	7.112	0.02

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Anexo 7. Cuadro comparativo del PESO PROMEDIO VIVO, a los 28 días (kg)
de los diferentes grupos de tratamiento

Grupo	Promedio	Sig.
BASAL - Grupo 3	1.256 ^b	0.00
Grupo1	1.280	0.71
Grupo2	1.120 ^c	0.04
Grupo4	1.263	0.91
Grupo5	1.299	0.50
Grupo6	1.281	0.70
Grupo7	1.303	0.47
Grupo8	1.227	0.64
Grupo9	1.273	0.80
Grupo10	1.226	0.63
Grupo11	1.234	0.73
Grupo12	1.079 ^c	0.00
Grupo13	1.259	0.97
Grupo14	1.379 ^a	0.05
Grupo15	1.094 ^c	0.01
Grupo16	1.004 ^c	0.00
Grupo17	1.273	0.79
Grupo18	1.356 ^b	0.03
Grupo19	1.263.	0.91

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Anexo 8. Cuadro comparativo del CONSUMO DE ALIMENTO ACUMULADO (kg) a los 28 días (gr) de los diferentes grupos de tratamiento.

Grupo	Promedio	Sig.
BASAL - Grupo 3 ^a	2.114	0.00
Grupo1	2.072	0.63
Grupo2 ^a	1.982	0.04
Grupo4	2.171	0.52
Grupo5	2.034	0.37
Grupo6	2.067	0.60
Grupo7	2.120	0.94
Grupo8	1.982	0.14
Grupo9	2.009	0.24
Grupo10	1.972	0.11
Grupo11	2.088	0.77
Grupo12 ^a	1.912	0.02
Grupo13	2.053	0.49
Grupo14	2.108	0.94
Grupo15 ^a	1.944	0.06
Grupo16 ^b	1.662	0.00
Grupo17	2.054	0.50
Grupo18	2.175	0.50
Grupo19	2.123	0.92

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Anexo 9. Cuadro comparativo del GANANCIA DIARIA DE PESO a los 28 días (gr)
de los diferentes grupos de tratamiento

Grupo	Promedio	Sig.
BASAL - Grupo 3 ^b	43.13	0.00
Grupo1	43.91	0.73
Grupo2 ^c	38.42	0.55
Grupo4	43.34	0.92
Grupo5	44.57	0.53
Grupo6	43.96	0.72
Grupo7	44.78	0.47
Grupo8	42.03	0.63
Grupo9	43.70	0.80
Grupo10	42.05	0.64
Grupo11	42.31	0.72
Grupo12 ^c	36.81	0.00
Grupo13	43.21	0.97
Grupo14 ^a	47.48	0.05
Grupo15 ^c	37.25	0.01
Grupo16 ^c	34.10	0.00
Grupo17	43.70	0.80
Grupo18 ^b	46.58	0.03
Grupo19	43.38	0.91

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$)

Anexo 10. Cuadro comparativo de CONVERSIÓN ALIMENTICIA a los 28 días (gr) de los diferentes grupos de tratamiento

Grupo	Promedio	Sig.
BASAL - Grupo 3	1.75	0.00
Grupo1	1.69	0.28
Grupo2	1.73	0.41
Grupo4	1.79	0.37
Grupo5	1.65	0.20
Grupo6	1.69	0.29
Grupo7	1.69	0.30
Grupo8	1.69	0.29
Grupo9	1.64	0.18
Grupo10	1.69	0.29
Grupo11	1.77	0.43
Grupo12	1.89	0.13
Grupo13	1.70	0.34
Grupo14	1.59	0.08
Grupo15	1.88	0.14
Grupo16	1.75	0.48
Grupo17	1.68	0.27
Grupo18	1.67	0.25
Grupo19	1.78	0.41

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.10$)