



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS  
CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**

**“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE LA FAMILIA *Enterobacteriaceae* EN  
POLLOS DE ENGORDE SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES ADITIVOS  
COMERCIALES”**

Tesis para optar el título profesional de:  
Médico Veterinario Zootecnista

Presentado por:  
Elizabeth Katherine Pacsi Muñoz (0000-0001-7606-5765)

Asesora:  
Connie Gallardo Vela (0000-0002-8070-8767)

Lima – Perú  
2021

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Lima, 20 de setiembre del 2021.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: <b>Mg. CARLOS ALBERTO CABALLERO MONTAÑEZ</b>
Miembro: <b>Mg. ZARELA MARIE ESTHER CABALLERO FLORES</b>
Miembro: <b>Mg. DANTE ALFREDO MEZA RUÍZ</b>

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

**"IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE LA FAMILIA *Enterobacteriaceae* EN POLLOS DE ENGORDE SUPLEMENTADOS CON DIFERENTES ADITIVOS COMERCIALES"**

Presentada por la bachiller:

**ELIZABETH KATHERINE PACSI MUÑOZ**

Para optar el Título Profesional de **Médico Veterinario y Zootecnista**

Asesorada por: **Dra. CONNIE GALLARDO VELA**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño del bachiller de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime ( ) por mayoría simple ( x ) calificar a:

Tesisista: <b>ELIZABETH KATHERINE PACSI MUÑOZ</b>			Nota : Dieciocho	
Aprobado ( )	Aprobado - Muy buena ( x )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )	

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



**Mg. CARLOS CABALLERO MONTAÑEZ**  
*Presidente*



**Dra. CONNIE GALLARDO VELA**  
*Asesora*



**Mg. ZARELA MARIE ESTHER CABALLERO FLORES**  
*Miembro 1*



**Mg. DANTE ALFREDO MEZA RUÍZ**  
*Miembro 2*

**Identificación de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* en pollos de engorde suplementados con diferentes aditivos comerciales**

Identification of bacteria of the *Enterobacteriaceae* family in broilers supplemented with different commercial additives

**Elizabeth Katherine Pacsi Muñoz <sup>1</sup>, Connie Gallardo Vela<sup>1\*</sup>**

Este estudio es parte del trabajo de tesis de la primera autora.

<sup>1</sup>Universidad Científica del Sur, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Lima, Perú.  
[elizabeth.p2990@gmail.com](mailto:elizabeth.p2990@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidad Científica del Sur, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Lima, Perú.  
cgallardov@cientifica.edu.pe\* Autora para correspondencia: cgallardov@cientifica.edu.pe

## Resumen

Con el objetivo de determinar los patógenos bacterianos oportunistas de la familia *Enterobacteriaceae* aislados en pollos de engorde suplementados con un diferentes aditivos comerciales, se emplearon 320 pollos machos (Cobb 500) que fueron alojados aleatoriamente en 4 tratamientos, con 4 repeticiones y 20 pollos por repetición. Los tratamientos experimentales fueron los siguientes; dieta control que contenía una basal estándar sin aditivos (DCSA), dieta basal con extracto de plantas (DEP), dieta basal con probióticos (DPB) y dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC). Las evaluaciones se realizaron en tres 3 fases; de 1 a 10 días, de 11 a 20 días y de 20 a 42 días de edad. Al final de cada fase fueron sacrificados 2 pollos por repetición. Se realizó el aislamiento bacteriano directamente de la mucosa intestinal del intestino delgado. Las muestras se tomaron por duplicado, se aislaron usando protocolos de aislamiento microbiológico establecidos para enterobacterias de la familia *Enterobacteriaceae*. Las muestras fueron procesadas en agar Mac Conkey y XLD (xilosa, lisina, desoxicolato) e identificadas con pruebas bioquímicas correspondientes; para las muestras del aislamiento para hallar *Salmonella spp.* fueron previamente sembradas en caldo de cultivo RVS (Rappaport – Vassiliadis – Soya) y luego procesadas en agar XLD (xilosa, lisina, desoxicolato) además se evaluó el crecimiento tardío según la metodología empleada para esta enterobacteria. Las enterobacterias encontradas fueron; *Enterobacter spp.*, *Escherichia Coli* y *Proteus spp.* En este estudio no hubo presencia de *Salmonella spp.* Los resultados mostraron que los pollos del grupo DEP y DPB presentaron menor porcentaje de bacterias intestinales, seguida del grupo de aves con la dieta DCSA. A los 10 días de edad las aves DEP y DPB presentaron 0% de *Enterobacter spp.* Así, la inclusión de un extracto comercial de plantas y probióticos en las dietas de los pollos puede ser una estrategia frente al control de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, en comparación con el uso de un antibiótico promotor de crecimiento.

**Palabras clave:** Aditivos; Antibiótico promotor de crecimiento; Familia enterobacteriaceae; Pollos de engorde.

## Abstract

In order to determine the opportunistic bacterial pathogens of the Enterobacteriaceae family isolated in broilers supplemented with different commercial additives. For this study, 320 male chickens (Cobb 500) were used that were randomly housed in experimental pens and distributed in 4 treatments, with 4 repetitions and 20 chickens per repetition. The experimental treatments were the following; Control diet containing a standard basal diet without additives (DCSA), basal diet with plant extract (DEP), basal diet with probiotics (DPB) and diet with growth-promoting antibiotic (DAPC). The evaluations were carried out in three 3 phases; 1 to 10 days, 11 to 20 days, and 20 to 42 days old. At the end of each phase, 2 chickens were slaughtered per repetition. Bacterial isolation was performed directly from the intestinal mucosa. Samples were taken in duplicate with swabs, isolated using established microbiological isolation protocols for Enterobacteriaceae of the Enterobacteriaceae family. The samples were processed on Mac Conkey and XLD agar (xylose, lysine, deoxycholate) and identified with corresponding biochemical tests; for isolate samples to find *Salmonella spp.* They were previously seeded in RVS culture broth (Rappaport - Vassiliadis - Soya) and then processed on XLD agar (xylose, lysine, deoxycholate). In addition, late growth was evaluated according to the methodology used for this enterobacteria. The Enterobacteriaceae found in the study were *Enterobacter spp.*, *Escherichia Coli.* and *Proteus spp.* In this study, there was no presence of *Salmonella spp.*, in the intestine of the birds. The results showed that the chickens fed the DEP and the DPB diet presented a lower percentage of intestinal bacteria, followed by the group of birds with the DCSA diet. At 10 days of age the DEP and DPB birds presented 0% of *Enterobacter spp.* Thus, the inclusion of a commercial extract of plants and probiotics in the diets of broilers can be a strategy against the control of bacteria of the Enterobacteriaceae family, compared to the use of a growth-promoting antibiotic.

**Keywords:** Additives; Growth promoting antibiotic; Enterobacteriaceae family; Broilers.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la industria avícola por el aumento del consumo de la carne de pollo, permitió que las granjas aumenten su volumen productivo; sin embargo, esto hace que las aves requieran más cuidados sanitarios, mejor control para evitar el estrés manteniendo el bienestar de las aves. Dentro del sistema intestinal existe una microbiota activa que en condiciones saludables se mantiene estable, pero cualquier alteración en el organismo de las aves, un medio ambiente contaminado o por situaciones de estrés puede generar que estas bacterias patógenas proliferen y se multipliquen, afectando la salud de las aves provocando síntomas como diarrea, bajo consumo de alimento, necrosis severa en vellosidades intestinales, entre otros (Villarraga, 2016). Todos estos trastornos conllevarían a una mala absorción de nutrientes repercutiendo en la producción final de los pollos y por consiguiente en la rentabilidad del productor.

Luego del nacimiento, muchas bacterias irrumpen y se establecen en el tracto gastrointestinal, el ave va asentando el desarrollo de la microbiota intestinal mediante el consumo de los restos del huevo (Villarraga, 2016). e interacción con el medio ambiente además que en la fase de crecimiento el aparato digestivo de las aves criadas en un sistema de producción intensiva será colonizada espontáneamente por la microbiota del entorno. (Blajman *et al.*, 2015). La microbiota inicial del tracto intestinal está constituida por bacterias aerobias y anaerobias facultativas, tales como *Lactobacilos spp.*, *Streptococos spp.* y *Enterobacteriaceas spp.*, en los días siguientes la proporción se modifica siendo inicialmente aerobio para luego pasar a las especies más anaerobias (Villarraga, 2016).

La posibilidad de que la microbiota de las aves sea naturalmente autóctona en crianza intensiva es baja y pueda ser fácilmente colonizada por agentes patógenos, como la *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, pertenecientes de la familia Enterobacteriaceae, que se definen como bacilos Gram negativos, son anaerobios facultativos que tiene como uno de sus hábitat el intestino de una amplia variedad de animales, desencadenando respuestas inflamatorias, sintetizan toxinas o compuestos perjudiciales

además de producir infecciones localizadas o sistémicas, produciendo grandes pérdidas económicas para los avicultores (Blajman *et al.*, 2015).

Comercialmente existen productos químicos que se utilizan para actuar sobre la proliferación de enterobacterias que puedan afectar la salud intestinal de las aves, así se tiene los antibióticos promotores de crecimiento, los cuales en Europa ya están prohibidos; sin embargo, a pesar de los efectos adversos que puedan causar a los consumidores de carne o huevo, en varios países de América Latina aún se siguen utilizando. Se observaron en estudios la dispersión de cepas de *Enterococcus* con alta resistencia a la vancomicina en muestras de alimentos, aguas servidas, materia fecal de personas y animales saludables (Torres y Zarazaga, 2002).

Por otra parte, la tendencia a tener un producto más saludable, exige que las aves también sean criadas con productos naturales que permitan actuar a nivel de la salud intestinal y consecuentemente sobre la ganancia de peso y la conversión alimenticia, dentro de estos se encuentran los extractos de plantas y los probióticos, ambos aditivos mostraron tener efectos beneficiosos sobre la salud intestinal de las aves, reduciendo la carga bacteriana posiblemente patógena, mejorando el sistema inmune regulando la motilidad intestinal, la producción de mucina y potencializando el funcionamiento celular a través del estímulo de los procesos de transcripción y traducción (Valdizán *et al.*, 2019). Así, el objetivo general de este estudio fue determinar patógenos bacterianos oportunistas de la familia *Enterobacteriaceae* aislados en pollos de engorde suplementados con diferentes aditivos comerciales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Animales experimentales*

La investigación se realizó en la Unidad Avícola de la Unidad Zootécnica y Tecnológica y el Laboratorio de Microbiología y Microscopía de la Universidad Científica del Sur. Se utilizaron 320 pollos machos de la línea Cobb 500. Los cuales fueron vacunadas al nacimiento en la incubadora con una vacuna inactivada contra las siguientes enfermedades: Bronquitis infecciosa, Gumboro y Newcastle (IBND, Lima, Perú). Para la crianza de las aves se colocaron en cada corral camas de 10 cm de viruta previamente desinfectada, la temperatura del galpón se mantuvo en 30 a 32° C por medio de campanas a gas, la cual fue disminuyendo 1° C por día hasta que fluctuará entre 15 a 25° C y la humedad se mantuvo entre 60 – 70%, para la medición y control de ambos datos se hizo uso de termohigrómetros digitales.

Así como el mismo programa sanitario de limpieza, desinfección y fumigación, agregando a esto el programa de vacunación sugerido para la zona, siguiendo los protocolos que son empleados en las condiciones normales en una granja de crianza de aves. Se llevaron registros de temperatura, humedad, peso y mortalidad. La alimentación y el agua de bebida fue *ab-libitum* y se siguió el programa de luz recomendada por la guía Cobb 500 (2018).

### *Diseño experimental y tratamientos*

De un total de 500 pollos de engorde, mediante un muestreo por conveniencia, se distribuyeron 320 pollos en cuatro tratamientos, con 4 repeticiones y 20 pollos por repetición. La selección de las aves se realizó en base al peso y uniformidad de las mismas. Los tratamientos experimentales fueron los siguientes; dieta basal estándar sin promotor de crecimiento (dieta control, DCSA), dieta basal con extracto de plantas (DEP), dieta basal con probióticos (DPB) y dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC).



### *Dietas y producto utilizado*

Todos los pollos recibieron agua y alimentación *ad-libitum*, se formuló una dieta basal estándar isoprotéica e isocalórica por cada fase de crianza de acuerdo a las exigencias nutricionales de la línea genética. En la tabla 1, se observa la dieta basal utilizada en las diferentes fases de crianza. Las dosis de los productos comerciales utilizados siguieron las recomendaciones del fabricante, estos tuvieron presentación en polvo y se adicionó en el alimento, los productos comerciales se describen a continuación:

**Extracto de plantas:** Kutaja (*Holarrhena antidysenterica*); Jengibre (*Zingiber officinale*), Granada (*Punica granatum*); Bael (*Aegle marmelos*), Lombohenjana (*Woodfordia fruticosa*), Tomillo (*Thymus vulgaris*), Equinacea (*Echinacea purpúrea*), Seta china (*Lentinus edodes*), Embelia (*Embelia ribes*), Árbol de cúrcuma (*Berberis aristata*), ajo (*Allium sativum*). Se adicionó a dosis de 1 kg/tonelada.

**Probióticos:** *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum* y *bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Aspergillus oryzae* y *Saccharomyces cerevisiae*. Se adicionó a dosis de 0.5 kg/tonelada.

**Antibiótico promotor de crecimiento:** producto comercial conteniendo cada 100 g del producto 10 g de zinc bacitracina y 100 g de excipientes c.s.p. Se adicionó a dosis de 0.5 kg/tonelada.

**Tabla 1:** Dietas basales utilizadas en pollos de engorde en diferentes fases de crecimiento

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>Fase de inicio (0 - 10 d)<sup>1</sup></b>	<b>Fase de crecimiento (11 a 20 d)</b>	<b>Fase de acabado (21 a 35 d)</b>
Maíz 8%	58.29	62.64	64.59
Torta de soya	28.83	26.66	25.33
Soya integral	5.2	2.7	1.73
Aceite de soya	3.71	4.17	4.9
Fosfato dicálcico	1.75	1.67	1.44
Carbonato de calcio	0.93	0.89	0.82
Sal común	0.41	0.41	0.41
DL-Metionina	0.27	0.24	0.2
Lisina HCl	0.16	0.15	0.1
Premix vitamina + mineral <sup>2</sup>	0.10	0.12	0.12
Cloruro de colina, 60%	0.10	0.10	0.10
Treonina	0.03	0.03	0.04
Secuestrante micotoxina	0.20	0.20	0.20
Coccidiostato	0.02	0.02	0.02
<b>Composición nutricional calculada</b>			
Energía metabolizable (kcal/kg)	3020	3100	3170
Proteína cruda (%)	21.10	20.14	18.16
Fibra cruda (%)	3.40	3.46	3.44
Calcio (%)	0.90	0.85	0.78
Fósforo total (%)	0.69	0.66	0.61
Fósforo disponible (%)	0.45	0.42	0.38
Sodio (%)	0.20	0.20	0.20

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)

<sup>2</sup>Premezcla de vitaminas y minerales contenida por kilogramo: vitamina A, 1,750,000 UI; vitamina D3, 550,000 UI; vitamina E, 2,750 UI; vitamina K, 400 mg; vitamina B1, 500 mg; vitamina B2, 1,250 mg; vitamina B6, 750 mg; vitamina B12, 3,000 mcg; niacina, 8,750 mg; ácido pantoténico, 3250 mg; ácido fólico, 200 mg; colina, 82.01 g; Hierro, 12,50 g; Manganeseo, 17,50 g; Zinc, 12,50 g; Cobre, 24,95 g; Yodo, 300 mg; Selenio, 50 mg.

\*La composición nutricional fue analizada en el Laboratorio de Análisis Nutricional y Biológica de Alimentos. Universidad Nacional Agraria La Molina.

## Análisis microbiológico

Al finalizar cada fase de crianza fueron sacrificadas 2 aves por repetición para cada tratamiento, siguiendo los lineamientos de la Humane Slaughter Association (HSA, 2016). Al realizar el procedimiento de necropsia se extrajo con sumo cuidado el sistema digestivo. El tracto intestinal fue colocado en una fuente y se usó un mechero para evitar posible contaminación, se procedió a separar el intestino delgado del intestino grueso, se quemó una pequeña región de cada sección intestinal del intestino delgado con una espátula incandescente, inmediatamente con una pinza y tijera estériles se le

realizó un piquete en la mucosa intestinal y se procedió con la toma de muestra mediante la ayuda de una jeringa, se realizaron las siembras en los agares y se colocaron en la estufa para para la incubación, las colonias que crecieron fueron aisladas y se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación , los resultados se presentaron como presencia de la bacterias considerando todo el intestino delgado.

### ***Aislamiento de Enterobacterias***

Se siguió la metodología de MacConkey (1905), para esto las muestras de intestino delgado de cada ave fueron evaluadas en duplicado, se retiró 1 ml de muestra con ayuda de una jeringa y esta se diluyó en agua peptonada en proporción de 1:9 ml, luego se colocó 1 ml de la solución final en un tubo de ensayo conteniendo tripticasa de soya (TSB), luego se colocaron en la estufa a 37° C por 24 horas. Transcurrido este periodo se realizó la siembra por agotamiento con un ansa estéril en placas Petri conteniendo agar Mac Conkey y nuevamente se colocaron en la estufa a 37° C por 24 horas, después del crecimiento de las colonias estas fueron aisladas y se realizó la prueba bioquímica para determinar que bacteria se encontraba en la muestra analizada.

### ***Aislamiento de Salmonella spp., y Proteus spp.***

Las muestras de cada ave fueron evaluadas en duplicado, se retiró 1 ml de muestra con ayuda de una jeringa y esta se diluyó en agua peptonada, luego se colocó 1 ml en un tubo de ensayo conteniendo TSB y se incubó en la estufa a 37° C por 24 horas. Transcurrido este periodo se retiró 1 ml de los tubos de ensayo, se sembró en el caldo de cultivo de enriquecimiento selectivo temprano RVS (Rappaport-Vassiliadis-Soya) y se incubó en la estufa a 41° por 24 horas.

Las colonias sospechosas que cambiaron de color fueron sembradas por agotamiento en agar XLD (agar de xilosa, lisina, desoxicolato) y se incubó a 37 °C por 24 h. Se seleccionó las colonias sospechosas a *Salmonella spp.*, y *Proteus spp.*

### ***Pruebas bioquímicas***

Para la identificación inicial se utilizó el método de tinción Gram, para lograr diferenciar colonias Gram negativas, luego las colonias con resultado Gram negativas fueron sometidas a las siguientes pruebas bioquímicas: Tres azúcares (Sacarosa, lactosa, glucosa), LIA, Sulfhídrico Indol Movilidad, Citrato, Voges proskauer (MVRP) y Úrea. Cada batería de pruebas bioquímicas nos permitió la identificación de las enterobacterias según los resultados arrojados.

### **Análisis estadístico**

Los datos fueron evaluados utilizando la estadística descriptiva, los resultados se presentan en tablas de frecuencias por cada fase de evaluación y tipo de bacteria evaluada, siendo presentados en porcentajes en base al total de aves analizadas por cada fase de crecimiento.

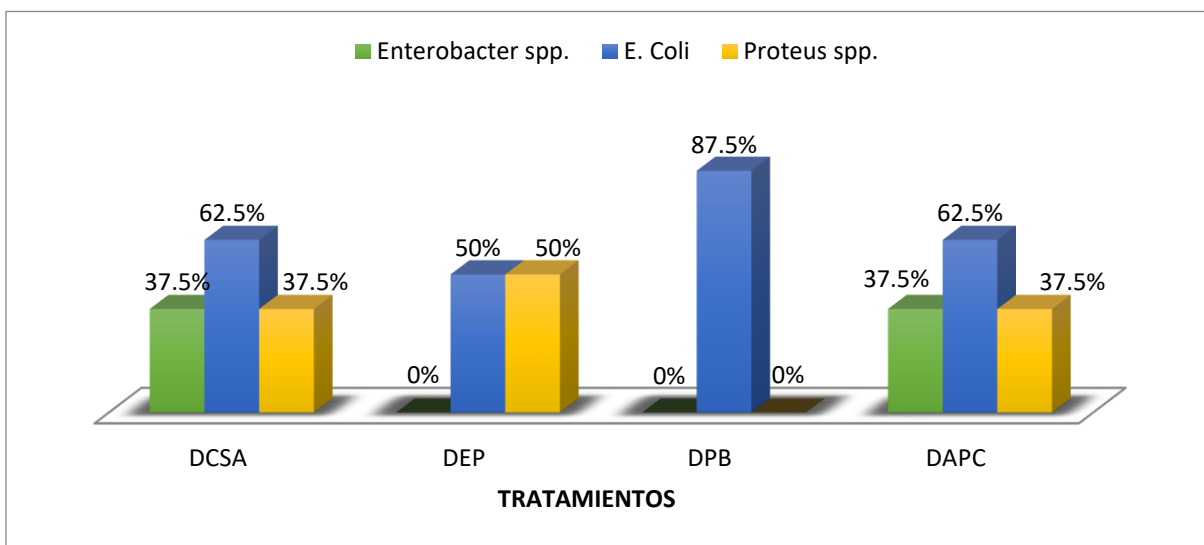
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se tomaron un total de 32 muestras intestinales por fase (inicio, crecimiento y acabado) las cuales fueron procesadas e identificadas mediante pruebas bioquímicas. En la fase de inicio de 0 a 10 días de edad (Tabla 2) se observa que en la dieta sin aditivos (DSAC) se encontró que 37.5% (3/8) de los pollos analizados presentaron *Enterobacter spp.*, 62.5% (5/8) *Escherichia Coli* y 37.5% (3/8) *Proteus spp.* En el grupo de aves suplementadas con extracto de plantas (DEP) solo se encontró *Escherichia coli* 50% (4/8) y *Proteus spp.* 50% (4/8). En los pollos suplementados con probióticos solo se encontró *Escherichia coli*. 87.5% (7/8). Mientras que, en la dieta con APC para esta fase se encontró *Enterobacter spp.* 37.5% (3/8), *Escherichia Coli* 62.5% (5/8) y *Proteus spp.* 37.5% (3/8).

**Tabla 2.** Resultados de la presencia de enterobacterias de la familia Enterobacteriaceae en fase de Inicio

Tratamientos	n	Fase de Inicio (0 a 10 días)		
		<i>Enterobacter spp.</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Proteus spp.</i>
DCSA	8	37.5%	62.5%	37.5%
DEP	8	0.0%	50%	50%
DPB	8	0.0%	87.5%	0.0%
DAPC	8	37.5%	62.5%	37.5%

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)



**FIGURA 1:** Cuadro comparativo de los resultados de la presencia de enterobacterias de la familia *Enterobacteriaceae*

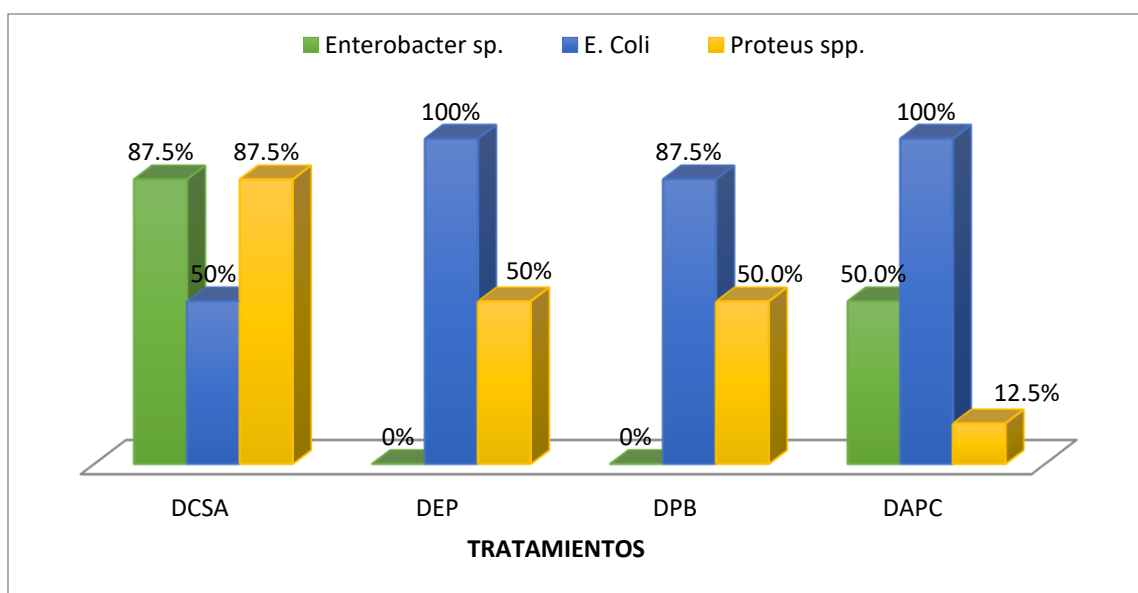
<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)

En la fase de crecimiento de 11 a 20 días de edad (Tabla 3) se determinó que en el tratamiento control que contenía una dieta basal estándar sin aditivos (DCSA) presentó *Enterobacter spp.* 87.5% (7/8), *Escherichia Coli.* 50% (4/8), *Proteus spp.* 87.5% (7/8) ; en el siguiente grupo suplementados con una dieta basal con extracto de plantas (DEP) se encontró, *Escherichia Coli.* 100% (8/8) y *Proteus spp.* 50% (4/8) , en la dieta basal con probióticos (DPB) solo se encontró *Escherichia Coli.* 87.5% (7/8) y *Proteus spp.* 50% (4/8). Asimismo, en la dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC) se encontró *Enterobacter spp.* 50% (4/8) , *Escherichia Coli.* 100% (8/8) y *Proteus spp.* 12.5% (1/8).

**Tabla 3.** Resultados de la presencia de enterobacterias de la familia Enterobacteriaceae en fase de Crecimiento

Tratamientos	n	Fase de crecimiento (11 a 20 días)		
		<i>Enterobacter spp.</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Proteus spp.</i>
DCSA	8	87.5%	50%	87.5%
DEP	8	0%	100%	50%
DPB	8	0%	87.5%	50%
DAPC	8	50%	100%	12.5%

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)



**FIGURA 2:** Cuadro comparativo de los resultados de la presencia de enterobacterias de la familia *Enterobacteriaceae*

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)

En la fase de acabado de 21 a 35 días de edad (Tabla 4) se obtuvo que en el tratamiento control (DCSA) la presencia de *Enterobacter spp.* fue de 75% (6/8), *Escherichia Coli.* 100% (8/8) y *Proteus spp.* 100% (8/8); en el segundo grupo suplementado con una dieta basal con extracto de plantas (DEP) el resultado fue de *Enterobacter spp.* 37.5% (3/8), *Escherichia Coli.* 100% (8/8), *Proteus spp.* 87.5% (7/8), en la dieta basal con probióticos (DPB) se obtuvo *Enterobacter spp.* 37.5% (3/8), *Escherichia Coli.* 75% (6/8), *Proteus spp.* 100% (8/8) y la dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC): *Enterobacter spp.* 62.5% (5/8), *Escherichia Coli.* 100%(8/8), *Proteus spp.* 100% (8/8).

**Tabla 4.** Resultados de la presencia de enterobacterias de la familia Enterobacteriaceae en fase de acabado

Tratamientos	Fase de acabado (21 a 35 días)		
	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Proteus spp.</i>
DCSA	75%	100%	100%
DEP	37.5%	100%	87.5%
DPB	37.5%	75%	100%
DAPC	62.5%	100%	100%

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)

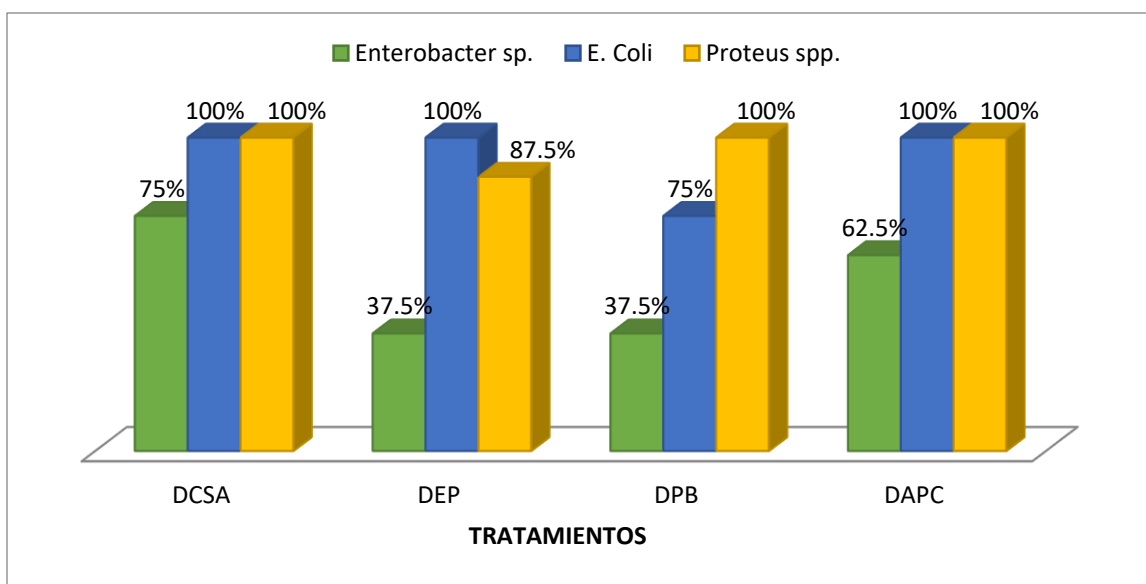


FIGURA 3: Cuadro comparativo de los resultados de la presencia de enterobacterias de la familia *Enterobacteriaceae*

<sup>1</sup>Tratamientos experimentales: Dieta control estándar sin aditivos (DCSA); Dieta basal con extracto de plantas (DEP); Dieta basal con probióticos (DPB) y Dieta con antibiótico promotor de crecimiento (DAPC)

La salud intestinal de las aves es actualmente objeto de gran estudio, ya que este se relaciona con el desarrollo e integridad de la mucosa, con la composición de la microbiota intestinal y con el sistema inmunológico (Gadde *et al.*, 2017).

En todas las fases de crianza se observa que en todos los grupos experimentales hubo presencia de *E. coli* mostrando que esta bacteria forma parte de la microbiota normal de las aves desde el nacimiento. De acuerdo con Kabir (2009) después del nacimiento los pollos comienzan a desarrollar su flora intestinal que es compuesta por diversos tipos de *E. Coli* siendo adquiridas por el contacto con otras aves, cama, bebederos, comederos, etc.

Así, el número de estas bacterias va aumentando con la edad de las aves. Esto corrobora los hallazgos del presente estudio.

Diversos estudios utilizando aditivos comerciales como probióticos (Murry et al., 2010; Molnár et al., 2011; Gadde et al., 2017), extracto de plantas y APC mostraron efectos significativos en la reducción de *E. Coli* en el intestino de las aves. Sin embargo, en caso de los APC, según Zanatta et al. (2004), el 76% de las cepas de *E. coli* de origen aviar se consideran como bacterias resistentes y el 77.5% se consideran multirresistentes, de este modo el uso de antibacterianos no tendría efecto sobre la reducción de estas bacterias, posiblemente debido a que la bacteria forma parte desde las primeras etapas de vida de las aves (Broom, 2018), siendo resistente también a otros aditivos.

En el estudio presentado por Quiroa (2019), donde utilizó el *Bacillus subtilis* como probiótico en pollos de engorde para ayudar a reducir o controlar la proliferación de *E. Coli*, el autor no encontró diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre el grupo control y el grupo suplementado con el probiótico debido a que en la evaluación microbiológica de las aves se encontraron colonias que correspondían a *Escherichia Coli* enteropatógena en ambos tratamientos, lo que impidió el probiótico tuviera una colonización exitosa en la microbiota de las aves

En un estudio donde se evaluó el efecto probiótico (*Lactobacillus spp.* y *Bacillus spp.*) en la crianza de pollos de engorde, la adición de probióticos en la alimentación tuvo un efecto positivo en la conversión alimenticia (2.35), ganancia de peso y hubo una disminución en la tasa de mortalidad (1.84%) a comparación del grupo sin suplemento. En cuanto a la variable Costo Beneficio, el grupo suplementado con probiótico mostró una mejor rentabilidad y un costo de beneficio de 0.57 centavos por cada dólar invertido.

El género *Enterobacter* son bacilos Gram negativo, son anaerobios facultativos. Su estructura es muy similar a la de *Escherichia coli*, además de ser considerados patógenos oportunistas que forma parte de la microbiota de algunos animales y del ser humano. En el presente estudio, en cuanto a la presencia de *Enterobacter spp.*, en la etapa de inicio y crecimiento se encontró presencia de la bacteria en el grupo de aves sin aditivos y con APC; mientras que, a los 35 días de edad en todos los grupos experimentales se encontró



presencia de *Enterobacter spp.* Así, la suplementación de los extractos de plantas y probióticos tendría efectos positivos durante la fase de inicio y crecimiento.

En todas las fases de crianza el *Enterobacter spp.*, estuvo presente en las aves alimentadas con la dieta sin aditivos y con la dieta con APC. Esto muestra que el *Enterobacter spp.*, sería resistente a la bacitracina, así, el uso rutinario de los APC en la producción avícola fomentó la selección de poblaciones bacterianas resistentes. Las bacterias desarrollan resistencia por familia de antibióticos, pero una bacteria puede volverse multiresistente, es decir, resistente, simultáneamente, a varias familias de antibióticos (Apata, 2009). Diversos mecanismos pueden explicar la resistencia bacteriana a los APC; la bacteria puede producir enzimas que destruyen o modificar la estructura del antibiótico; los antibióticos pueden ser incapaces de penetrar la superficie de las bacterias; la bacteria puede tener una vía bioquímica alternativa que desvía la reacción particular que es inhibida por el antibiótico o puede tener una entrada de enzimas, ribosomas u otros componentes celulares que no se ven afectados por el uso de un antibiótico en particular (Pelczar *et al.*, 1993 Lin *et al.*, 2013).

Durante la etapa de inicio y crecimiento no se observó presencia de *Enterobacter spp.*, en las aves alimentadas con las dietas conteniendo extracto de plantas y probióticos. Siendo bastante variable el porcentaje obtenido en relación con las aves del grupo sin aditivos y con APC. El efecto positivo de la suplementación de los probióticos frente a *Enterobacter spp.*, a nivel intestinal, puede estar asociado a que los microorganismos presentes en los probióticos actuarían como barrera de bacterias patógenas al ocupar los receptores o sitios de unión de la mucosa intestinal, de este modo las bacterias patógenas no se unirían a dichos receptores, siendo incapaces de establecerse y colonizar el intestino debido a la presencia de otros microorganismos (Blajman *et al.*, 2014). Mead (2000) determinó que se necesitan aproximadamente 40 bacterias para cubrir el superficie de una célula intestinal, así, las bacterias patógenas serían eliminadas por exclusión competitiva.

Por otra parte, Kamel (2001) indicó un mecanismo de acción importante de ciertos extractos vegetales puede ser su capacidad para influir en las características de la superficie celular bacteriana, como la hidrofobicidad y en consecuencia, cambiar sus propiedades de virulencia, al no poder adherirse a la superficie bacteriana o inhibiendo su actividad ATPasa.

De este modo es importante considerar que la respuesta de los extracto de plantas y probióticos en la etapa de inicio y crecimiento sobre la presencia de *Enterobacter spp.*, podría estar relacionada con la dosis administrada y la concentración de estos productos durante la etapa de acabado. Sin embargo, también es importante considerar que ensayos de tipo experimental presentan mejores resultados comparados a granjas comerciales, puesto que es más fácil manejar la temperatura, densidad, etc., haciendo que exista una baja carga patógena.

Un estudio sobre la resistencia de antibióticos de uso veterinario en aves beneficiadas, donde usaron 12 antibióticos (Enrofloxacina, Colistina, Norfloxacina, Nitrofurantoina, Ceftazidima, Cloranfenicol, Trimetoprima Sulfametoxazol, Amoxicilina, Ciprofloxacina, Eritromicina, Ácido Nalidíxico, Ampicilina), determinó que el 75% de bacterias aisladas eran de la familia Enterobacteriaceae, dentro de estas se encontraba el género *Enterobacter spp.* mostrando que *Enterobacter sakazakii* al único antibiótico que presenta sensibilidad es a Ciprofloxacina y *Enterobacter cloacae* resulta resistente a 10 antibióticos, excepto a Ciprofloxacina y Norfloxacina (Dota, 2017). Según Gali (2010) indica que el porcentaje de las bacterias de la familia Enterobacteriaceae en especial *Enterobacter spp.*, ha generado resistencia inclusive a las cefalosporinas de tercera generación a causa del desarrollo de enzimas Betalactamasas lo que deja en evidencia que podrían causar problemas de salud pública a la población.

Los probióticos también han sido empleados para la disminución o inhibición de *Enterobacter spp.* como este estudio realizado en México donde hizo uso de *Bifidobacterium longum* donde se muestra evidencia de un 99% de inhibición en el crecimiento de *Enterobacter cloacae* empleando los metabolitos bacterianos de *B. longum* en cultivos in vitro, la actividad inhibitoria en dosis de 20 y 40 mg/ml dio como resultado en el registro de inhibición 99.8% y 99.9% respectivamente donde se concluye que a mayor concentración de metabolitos bacterianos de *B. longum* se observa mayor inhibición de *Enterobacter cloacae* (Barrón et al., 2019).

Los extractos de plantas han sido otra alternativa para el control del crecimiento de *Enterobacter spp.* se realizó un estudio donde se empleó el extracto en metanol de hojas Stevia Rebaudiana Bertoni pulverizada sobre bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* donde concluyeron que la Stevia por sí sola no tiene algún efecto inhibitorio sobre los organismos Gram negativos sin embargo en bacterias Gram positivas tiene una acción inhibitoria mínima a partir de dosis de 200 mg/ml. (Buitrago, 2008)

Por otra parte, la bacteria *Proteus spp.*, es un género de la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativa que poseen flagelos peritricos, son anaerobios facultativos además son residentes habituales del tracto intestinal de algunos animales como las aves y el hombre. Diversos estudios mostraron que los intestinos de las aves actuarían como reservorio natural de *Proteus spp.*, los cuales actuarían como parásitos comensales. Los resultados mostraron colonias positivas a *Proteus spp.*, en todos los grupos experimentales en la etapa de crecimiento y acabado, en la etapa de inicio no se encontró presencia de esta bacteria en las aves alimentadas con probióticos. La estructura química de los lipopolisacáridos que posee la bacteria puede jugar un papel importante en la adaptación de *Proteus spp.* a las condiciones ambientales y mejorando su patogenicidad, de este modo se encontró presencia de la bacteria en todos los grupos experimentales, indicando que los aditivos utilizados tuvieron efectos reducidos en el control de la bacteria.

Kwiecińska-Piróg *et al.* (2011) encontraron presencia de *Proteus spp.*, en muestras de cloaca en crías de cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*); mencionando que en las cigüeñas la bacteria sería más susceptible a los antibióticos que las cepas aisladas de seres humanos y aves domésticas. Mientras que, en el 2018 se realizó un estudio para probar la actividad antimicrobiana del extracto de Hidroetanólico de mejorana (*Origanum majorana*) en cepas purificadas de *Proteus spp.*, donde se observaron halos de inhibición que llegaron a un máximo de 10.3 mm con extractos al 100% teniendo como resultado que el extracto que se obtiene a partir de la Mejorana posee características antimicrobianas frente a las cepas de *Proteus spp.*, (Guevara *et al.*, 2018).

En el estudio de Dota (2017) sobre la resistencia de antibióticos de uso veterinario en aves beneficiadas, donde usaron 12 antibióticos entre ellos la Enrofloxacin, Colistina, Norfloxacin, Nitrofurantoína, Ceftazidima, Cloranfenicol, Trimetoprima Sulfametoxazol, Amoxicilina, Ciprofloxacina, Eritromicina, Ácido Nalidíxico y Ampicilina, determinó que el 75% de bacterias aisladas eran de la familia Enterobacteriaceae, *Proteus spp.* se encontró en ese grupo donde el 100% de las bacterias resultó resistente a 9 antibióticos de la lista mencionada previamente excepto al Cloranfenicol, Ceftazidima y Enrofloxacin.

La Organización Mundial de la Salud divulgó en 2017 la lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos, donde menciona a las doce familias más peligrosas para la salud, esta lista se divide en tres categorías: crítica, alta o media. La familia Enterobacteriaceae se encuentra dentro de esta lista, dentro de las

cuales se nombra a las siguientes especies *Escherichia Coli*, *Proteus mirabilis* entre otros, que son causantes de infecciones graves para la salud pública. Sin dejar de mencionar que *Enterobacter* también es considerado una bacteria de potencial peligro para la salud de aves como también en seres humanos ya que su tasa de mortalidad es alta (40 – 80%) donde puede producir secuelas neurológicas (Dota, 2017).

## CONCLUSIÓN

Mediante los resultados presentados, se puede concluir que es importante adicionar aditivos a las dietas con la finalidad de reducir la presencia y controlar la proliferación de enterobacterias patógenas en el intestino de las aves además de tener como alternativa más saludable a los probióticos o extractos de plantas.

La inclusión del extracto de plantas y del probiótico permitió la reducción de *Enterobacter spp.*, *E. Coli* y *Proteus spp.*, en las diferentes fases de crianza (inicio, crecimiento y acabado). Así mismo la inclusión temprana (fase de inicio y crecimiento) de probiótico y el extracto de plantas resultó tener efectos positivos en la reducción de las *Enterobacter spp.*

## REFERENCIAS

- Apata D. 2009. Antibiotic resistance in poultry. *Int J Poult Sci.* 8: 404-408
- Blajman J, Zbrun M, Astesana D, Berisvil A. Scharpen A. Fusari L. Frizzo L. 2015. Probióticos en pollos parrilleros: una estrategia para los modelos productivos intensivos. *Rev Argent Microbiol.*47: 360-367.
- Blajman E. Frizzo L. Zbrun M. Astesana D. Fusari M. . Soto L. Rosmini M. Signorini M. 2014. Probiotics and broiler growth performance: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Br Poult Sci.* 55: 483-494
- Buitrago C. 2008. Actividad antimicrobiana del extracto en metanol de *Stevia Rebaudiana* sobre bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*) y Gram-positivas (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*) contaminantes de cavidad oral e importantes en enfermedad periodontal. *Rev. Fed. Odontol. Colomb.* 71: 24-34.

- Barrón M. Mireles C. Cuéllar L. Eguiarte J. Quiñones Y. 2019. Inhibición de *Enterobacter cloacae* por *Bifidobacterium longum*. *Rev. Investigación y Ciencia*, 27: 19-26.
- Broom L. 2018. Gut barrier function: Effects of (antibiotic) growth promoters on key barrier components and associations with growth performance. *Poult Sci*. 97: 1572-1578.
- Cobb Vantres. 2018. Pollo de engorde: Guía de manejo. [Internet], [20 febrero 2019]. Disponible en: [https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/ec35b0ab1e/Broiler-Guide-2019-ESP-WEB\\_2.22.2019.pdf](https://www.cobb-vantress.com/assets/Cobb-Files/ec35b0ab1e/Broiler-Guide-2019-ESP-WEB_2.22.2019.pdf)
- Dota C. 2017. Resistencia a antibióticos de uso veterinario en *Enterobacterias* y *Campylobacter* aisladas de pollos faenados expendidos en el Mercado “El Arenal” de Cuenca. Tesis de Ingeniera en Alimentos. Ecuador: Univ del Azuay 26 p.
- Gadde U. Oh S. Lee Y. Davis E. Zimmerman N. Rehberger T. Lillehoj H .2017. The Effects of Direct-fed Microbial Supplementation, as an Alternative to Antibiotics, on Growth Performance, Intestinal Immune Status, and Epithelial Barrier Gene Expression in Broiler Chickens. *Probiotics Antimicrob Proteins* 9: 397-405.
- Gali D. 2010. *Enterobacterias* Antibioticoterapia. Informe de la red de salud de cuba.
- Guevara E. López S. 2018. Actividad antimicrobiana del extracto hidroetanólico de mejorana (*Origanum majorana*). *Rev. Caribeña de Ciencias Sociales*. 6 -9.
- [HSA] Humane Slaughter Association. 2016. Sacrificio práctico de aves de corral. [Internet] [26 junio 2020]. Disponible en: <https://www.hsa.org.uk/sacrificio-prctico-de-aves-de-corrall-introduccin/introduccin-4>
- Kabir S. 2009. The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 10: 3531-3546.
- Kamel C. 2001. Tracing modes of action and the roles of plant extracts in non-ruminants. *Recent advances in animal nutrition*. 2001: 135-150.

- Kwiecińska-Piróg J, Bogiel T, Gospodarek E, Kasprzak M, Jerzak L, Kamiński P. 2011. The susceptibility of *Proteus mirabilis* strains isolated from white stork (*Ciconia ciconia*). *Med Dosw Mikrobiol.* 63: 139–144.
- Lin J, Hunkapiller A, Layton A, Chang Y, Robbins K. 2013. Response of intestinal microbiota to antibiotic growth promoters in chickens. *Foodborne Phat Dis.* 10: 331-337
- Mead G. 2000. Prospects for competitive exclusion treatment to control Salmonella and other foodborne pathogens in poultry. *Vet J.* 159: 111-123.
- Molnár A, Podmaniczky B, Kürti P, Tenk I, Glávits R, Virág G, Szabó Z. 2011. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcass quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. *Br Poult Sci.* 52: 658-665.
- Murry A, Hinton A, Morrison H. 2004. Inhibition of growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Clostridium perfringens* on chicken feed media by *Lactobacillus salivarius* and *Lactobacillus plantarum*. *Int J Poult Sci.* 3: 603-607.
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Ginebra [Internet], [12 agosto 2019]. Disponible <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- Pelczar J, Chan S, Krieg R. 1993. *Microbiology: Concepts and Applications*. 1ª ed. New York: McGraw-Hill. p 80-100.
- Quiroa A. 2019. Utilización de *Bacillus subtilis* como probiótico en pollos de engorde para la reducción de *Escherichia coli*. Tesis de Médico Veterinario. Guatemala: Univ San Carlos de Guatemala 32p.
- Torres C, Zarazaga M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales:¿ Vamos por el buen camino?. *Gaceta Sanitaria.* 16: 109-112.

Valdizán C. Carcelén F. Ara M. Bezada S. Jiménez R. Asencios A. Guevara J. 2019. Efecto de la inclusión de probiótico, prebiótico y simbiótico en la dieta sobre los parámetros productivos del cuy (*Cavia porcellus*). *Rev Inv Vet Perú*. 30: 590-597.

Villarraga O. 2016. Aislamiento, ubicación e identificación de la colonización de las bacterias situadas en intestino delgado, ciegos y colon en el ciclo completo de pollos de engorde de la línea COBB. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Colombia: Univ. De la Salle. 10 p.

Zanatta F. Kanashiro I. Castro M. Cardoso P. Tessari C. Pulici P. 2004. Suscetibilidade de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária a antimicrobianos. *Arq Inst Biol*. 71: 283- 286.

## RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 041- DACMVZ-DAFCVB-U. CIENTÍFICA-2019

Lima, 08 de abril de 2019

Visto el proyecto de tesis presentado por la Bachiller **PACSI MUÑOZ ELIZABETH KATHERINE**, egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se expide la presente Resolución:

**CONSIDERANDO:**

- ✓ Que, para optar el título profesional de Médico Veterinario Zootecnista en la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Científica del Sur, es necesario la realización y sustentación de una tesis.
- ✓ Que, el Reglamento de Tesis pertinente, dispone que el Proyecto de Tesis debe ser presentado a la Carrera de acuerdo al perfil aprobado, el cual debe ser dictaminado por el Comité de Investigación.
- ✓ Que, la Bachiller **PACSI MUÑOZ ELIZABETH KATHERINE**, ha cumplido con presentar su proyecto de tesis titulado **"DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS BACTERIANOS OPORTUNISTAS DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE AISLADOS EN POLLOS DE ENGORDE SUPLEMENTADOS CON UN PRONUTRIENTE COMERCIAL, UN ANTIBIÓTICO PROMOTOR DE CRECIMIENTO Y UN PROBIÓTICO COMERCIAL"**, bajo la Dirección de la Mg. Raquel Watanabe Waanabe.
- ✓ Que la Comisión de Grados y Títulos de la Carrera ha emitido una evaluación favorable y recomienda la inscripción del proyecto citado.

Estando a lo dispuesto por el Reglamento General de la Universidad Científica del Sur, el Reglamento de Tesis de la Carrera y a las normas vigentes, en uso de las atribuciones conferidas a la Carrera,

**SE RESUELVE:**

1. **APROBAR** el Proyecto de Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista titulado: **"DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS BACTERIANOS OPORTUNISTAS DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE AISLADOS EN POLLOS DE ENGORDE SUPLEMENTADOS CON UN PRONUTRIENTE COMERCIAL, UN ANTIBIÓTICO PROMOTOR DE CRECIMIENTO Y UN PROBIÓTICO COMERCIAL"**
2. Declarar a la Bach. **PACSI MUÑOZ ELIZABETH KATHERINE**, expedita para la realización del Proyecto de Tesis aprobado.
3. Nombrar a la Mg. Raquel Watanabe Watanabe como Director del Proyecto de Tesis que realizará la alumna citada.
4. Disponer la inscripción del proyecto de tesis aprobado en el Registro de Tesis para optar el Título Profesional de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la CIENTÍFICA.

Regístrese, comuníquese y archívese.



**Dr. Manuel Rosemberg Barrón**  
Director Académico  
Medicina Veterinaria y Zootecnia