



# ***Bacillus subtilis* mejora el desarrollo de órganos digestivos, la morfología del intestino y el rendimiento productivo en pollos de engorde**

## ***Bacillus subtilis* improve digestive organs development, intestinal morphology and growth performance in broilers**

Carlos Abel Maya-Ortega<sup>1\*</sup> ; Tomás Antonio Madrid-Garcés<sup>1</sup> ; Jaime Eduardo Parra-Suescún<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Producción Animal. Medellín - Antioquia, Colombia; e-mail: camayao@unal.edu.co; tamadridg@unal.edu.co; jeparrasu@unal.edu.co

\*autor de correspondencia: camayao@unal.edu.co

**Cómo citar:** Maya-Ortega, C.A.; Madrid-Garcés, T.A.; Parra-Suescún, J.E. 2022. *Bacillus subtilis* mejora el desarrollo de órganos digestivos, la morfología del intestino y el rendimiento productivo en pollos de engorde. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(2):e1848. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n2.2022.1848>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

**Recibido:** febrero 2 de 2021

**Aceptado:** septiembre 22 de 2022

**Editado por:** Helber Adrián Arévalo Maldonado

### **RESUMEN**

La regulación en el uso de antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal requiere de la búsqueda de alternativas nutricionales seguras, que mejoren la salud intestinal y el rendimiento productivo en los animales, mientras protegen la salud del consumidor. La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de *Bacillus subtilis* sobre el desarrollo de órganos digestivos, la morfología del intestino y el rendimiento productivo, en pollos de engorde. 192 pollos Cobb 500 de un día de edad fueron asignados aleatoriamente a una de tres dietas: basal libre de antibióticos (D1), basal adicionada con 10 ppm de avilamicina (D2) o basal adicionada con 50 ppm de esporas de *B. subtilis* (D3), durante 42 días. Los días 21 y 42 de edad, se determinó la conversión alimenticia (CA), la ganancia acumulada de peso (GAP) y se evaluó el desarrollo de los principales órganos digestivos y la histomorfología de cada segmento del intestino delgado, mediante el sacrificio de 48 aves (8 aves/dieta/día). El uso de *B. subtilis* incrementó significativamente la CA y la GAP. Por otra parte, *B. subtilis* aumentó la alometría del intestino en comparación con el uso de antibióticos, aunque no

se evidenciaron diferencias significativas para el peso de órganos digestivos, entre ambos tratamientos; *B. subtilis* mejoró la altura de las vellosidades y disminuyó la profundidad de las criptas, significativamente. *B. subtilis* favorece el desempeño productivo en pollos de engorde, mejora el desarrollo de órganos digestivos y la histomorfología del intestino delgado.

Palabras clave: Antibiótico; *Bacillus subtilis*; Morfología intestinal; Pollos de engorde; Rendimiento productivo.

### **ABSTRACT**

Regulation in the use of growth promoters antibiotics in animal feed has led to the search for safe nutritional alternatives that improve intestinal health and growth performance in animal, while protecting consumer health. The aim was to assess the effect of *Bacillus subtilis* on the digestive organs development, intestinal morphology and growth performance in broilers. A total of 192 one-day old Cobb 500 chicks, were randomized and assigned to one of three diets: basal diet free of antibiotics (D1) or basal diet

added with 10ppm of avilamicyn (D2) or basal diet added with 50ppm of *B. subtilis*'s spores (D3) for 42 days. On days 21 and 42 the feed conversion ratio (FCR) and average body weight (ABW) were determined; also, eight birds per treatment were euthanized to assess the development of digestive organs and the histomorphology in the different sections of the small intestine. The use of *B. subtilis* significantly increased FCR and ABW. On the other hand, *B. subtilis* significantly small intestine length compared to antibiotic growth promoter, but there was no differences in the weight of the digestive organs between *B. subtilis* and antibiotic diet, in addition *B. subtilis* improve villus height and decreased crypt depth significantly. In conclusion, the use of *B. subtilis* improve growth performance, digestive organs development and small intestine histomorphology in broilers.

Keywords: Antibiotics; *Bacillus subtilis*; Growth performance; Gut morphology; Broilers.

## INTRODUCCIÓN

Las producciones avícolas, a nivel comercial, vienen creciendo rápidamente, para hacer frente a las altas demandas de proteína de origen animal, como consecuencia del acelerado crecimiento de la población mundial (Roa *et al.* 2018). Algunas ciencias, como la genética y la nutrición, han sido indispensables para incrementar la eficiencia productiva de las aves. En la actualidad, para la producción de pollo de engorde, se cuenta con aves mejoradas genéticamente, con altas tasas de crecimiento y mayor eficiencia en la acreción muscular (Henchion *et al.* 2017); sin embargo, la susceptibilidad de las aves al estrés y a las alteraciones del ambiente intestinal causado, principalmente, por desequilibrios en la microbiota normal del intestino (Henchion *et al.* 2017; Sokale *et al.* 2019), desencadenan la aparición de procesos inflamatorios, daños en la integridad del intestino y disminución en la capacidad para digerir y absorber los nutrientes del alimento, comprometiendo el rendimiento productivo y la rentabilidad de las granjas (Oviedo-Rondón, 2019).

El suministro de antibióticos en bajas dosis, como promotores de crecimiento (APC), a través del alimento, es una estrategia para mitigar el efecto que tienen los desbalances microbianos intestinales sobre el rendimiento productivo (Salim *et al.* 2018); no obstante, en los últimos años, ha aumentado la preocupación en los consumidores y en la comunidad científica, sobre la aparición de bacterias resistentes a antibióticos y por la presencia de residuos de estos compuestos en el producto final y el medio ambiente, lo que se ha convertido en un riesgo para la salud pública (Mohammadi Gheisar & Kim, 2018).

En enero de 2006, la Unión Europea prohibió el uso de antibióticos, como medida profiláctica en producciones animales; sin embargo, países como Estados Unidos tiene una regulación más estricta (Dodds, 2017). Actualmente, en Colombia, se adopta la prohibición de algunos antimicrobianos promotores del crecimiento-APC (Colistina, Polimixina B, Furazolidona, Nitrofurazona y Furaltona), en la alimentación animal (Resolución ICA N° 1082, 1995; Resolución ICA N° 22747, 2018). Así, los investigadores en el área de la nutrición animal, se han dado a la tarea de buscar

alternativas biológicamente seguras a los APC's, que garanticen el bienestar de los animales, el rendimiento productivo y la salud del consumidor (Mehdi *et al.* 2018).

Entre las alternativas alimenticias más estudiadas, se encuentran probióticos, prebióticos, enzimas, ácidos orgánicos y fitobióticos (Sugiharto, 2016). Por su parte, diversos estudios muestran resultados favorables en la administración de probióticos, específicamente, mediante el uso de *B. subtilis*, evidenciando efectos favorables sobre la morfometría del epitelio intestinal, disminuyendo el pH y modificando la composición de los ecosistemas microbianos, presentes a lo largo del tracto gastrointestinal-TGI (Chávez *et al.* 2016; Lokapirnasari *et al.* 2017; Chowdhury *et al.* 2018), lo cual, se ve reflejado en un mejor aprovechamiento de los nutrientes y un mayor rendimiento productivo de los animales (Liu *et al.* 2018; Park *et al.* 2020). Estas bondades, han hecho de los probióticos, especialmente *B. subtilis*, una posible alternativa como sustituto al uso de antibióticos, promotores del crecimiento.

Con el fin de aportar resultados frente a la búsqueda de alternativas para disminuir el uso de antibióticos en la alimentación animal, el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar el efecto que tiene la inclusión de *B. subtilis* sobre el desarrollo de órganos digestivos, la morfología del intestino delgado y el rendimiento productivo en pollos de engorde.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los procedimientos experimentales llevados a cabo dentro del estudio siguieron los lineamientos estipulados en las guías "The International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals". Esta investigación fue avalada por El Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales-CICUA, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (CEMED-013. Mayo 04 de 2018).

Para el abordaje de la investigación, se desarrolló en la estación agraria San Pablo, perteneciente a la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, ubicada en el municipio de Rionegro, a una altitud de 2.100 m s.n.m. y una temperatura que oscila entre los 12 y 18 °C. Para la investigación, se utilizaron un total de 192 pollos machos de línea COBB500, de un día de nacidos, alojados en corrales en piso, con cama de viruta. La cría, se llevó a cabo siguiendo los procedimientos experimentales de una granja comercial. Cinco horas antes de la llegada de los pollitos, las criadoras fueron encendidas con la finalidad de precalentar el galpón y alcanzar una temperatura promedio de 32 °C, al momento de la recepción. Las aves recibieron agua y alimento a voluntad durante todo el periodo experimental, que tuvo una duración de 42 días.

**Dietas.** Se elaboró una dieta basal ajustada a los requerimientos nutricionales de los animales sin la adición de antibiótico y probiótico. Los tratamientos utilizados se establecieron de la siguiente manera:

- Dieta Control (D1): dieta basal sin la adición de antibiótico y probiótico.
- Dieta 2 (D2): dieta basal más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm).
- Dieta 3 (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas), a razón de 50 ppm.

El plan de alimentación fue dividido en dos etapas, para lo cual, se realizó una dieta de iniciación (1-21 días) y finalización (22-42 días) (Tabla 1), cumpliendo los requerimientos nutricionales establecidos por la distribuidora comercial. La adición del antimicrobiano (avilamicina) en el alimento, se realizó según las indicaciones de la casa productora, a razón de 10 gramos por tonelada (10 ppm). La cantidad de *Bacillus subtilis* (PB6 ATCC-PTA 6737, ®Kemin Industries, Inc., EEUU) incorporada en la dieta 3, se llevó a cabo atendiendo la recomendación del fabricante; esto es 50 gramos por tonelada de alimento, para garantizar una dosis de  $10^8$  UFC.

**Parámetros Zootécnicos.** Dentro de los parámetros zootécnicos se evaluaron: peso acumulado (PA), peso final, ganancia acumulada de peso (GAP) y conversión alimenticia (CA) (Chávez *et al.* 2016; Madrid-Garcés *et al.* 2017). Las mediciones se realizaron en un total de 144 aves.

Conversión alimenticia (CA):

$$CA = \frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Peso Ganado}} \quad \text{ecuación 1}$$

Ganancia acumulada de peso (GAP):

$$GAP = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso Inicial}}{\text{Edad (días)}} \quad \text{ecuación 1}$$

**Eutanasias humanitarias y toma de muestras.** Durante la fase de experimentación, se realizaron eutanasias escalonadas a las aves, de la siguiente forma: los días 21 y 42, se sacrificaron 24 aves (ocho aves por dieta), respectivamente, para un total de 48 aves. Todas las aves fueron sacrificadas 3 horas después de su última comida. Los animales, se sedaron por inhalación de Nitrox y, posteriormente, se les realizó eutanasia humanitaria con dióxido de carbono, durante 3 minutos (Chávez *et al.* 2016).

Después del sacrificio, se realizó un corte desde la parte anterior del cuello hasta la cloaca, cortando solo la piel. Se realizaron dos pequeños cortes laterales hasta llegar a las costillas y, luego un corte de las costillas en dirección craneal. Se evaluó la presencia de exudados y el estado de sacos aéreos. Posteriormente, se extrajo en un solo paquete los órganos del tracto gastrointestinal y anexos: estómago, hígado, páncreas, bazo, intestino delgado y grueso (Svihus, 2014). Se identificó y se diseccionó cada uno de los segmentos de intestino delgado, utilizando tijeras de disección con punta recta, como se describe a continuación: duodeno (desde el píloro hasta la porción distal de la vuelta duodenal), yeyuno (desde la porción distal del giro duodenal al divertículo de Meckel), íleon (desde el divertículo de Meckel hasta el inicio de los ciegos) y ciegos (Barrera-Barrera *et*

*al.* 2014). Cada uno de los fragmentos y órganos digestivos fueron lavados con solución salina fría, pesados en una báscula de precisión digital y medidos con un metro convencional (Madrid-Garcés *et al.* 2017). Los pesos de los órganos fueron convertidos a porcentaje de peso vivo (% P.V) (Ecuación 3). Para determinar la ontogénesis del crecimiento de los diferentes órganos y su relación con el peso corporal, se utilizó el coeficiente de Crecimiento Alométrico (CA) (Ecuación 4) (Chávez *et al.* 2016).

$$\% P.V = \frac{\text{peso del organo}}{\text{peso del ave}} * 100 \quad \text{ecuación 3}$$

$$C.A = \frac{O_n / O_h}{P_{Cn} / P_{Ch}} \quad \text{ecuación 4}$$

Donde:  $O_n$  = peso del órgano al día  $n$  de la evaluación;  $O_h$  = peso al nacimiento;  $P_{Cn}$  = peso corporal al día de la evaluación y  $P_{Ch}$  = peso corporal al nacimiento.

Finalmente, cada segmento del intestino delgado fue alineado y medido en una mesa sin ningún tipo de tensión y se tomaron 2 cm del centro de duodeno, yeyuno e íleon. Una vez cortada cada muestra, se hizo un lavado por infusión con solución salina fría de la porción removida para eliminar impurezas y la digesta contenida; posteriormente, cada una de las muestras tomadas fue almacenada en formalina, al 10 % (Madrid-Garcés *et al.* 2017).

**Análisis morfométrico del Intestino delgado.** Transcurrido 48 horas después de la colecta, las muestras de las diferentes secciones del intestino fueron almacenadas en formalina al 10 % y enviadas al laboratorio, para ser analizadas por expertos.

**Procesamiento histotécnico:** Los tejidos, se fijaron en formalina tamponada al 10 %, por 48 horas, a 4 °C, incluidos en parafina, cortados a 4  $\mu$ m de espesor y coloreados con Hematoxilina-Eosina, para ser lavados y almacenados en etanol:agua (75:25, v:v) (Chávez *et al.* 2016). Estos cortes fueron microdiseccionados, para determinar el promedio de la altura y ancho de las vellosidades intestinales, así como la profundidad de las criptas adyacentes. En cada lámina se montaron tres cortes transversales.

**Evaluación microscópica y análisis morfométrico de imágenes:** Los cortes histológicos fueron analizados cuantitativamente, mediante un procesamiento de imágenes digitales computarizadas, así: para la identificación de las zonas tisulares, se hizo uso de un microscopio óptico Leica (Meyer, Houston, TX, USA); luego, se capturaron las imágenes correspondientes, con una cámara para microscopía digital instantánea Motican 2300 (Motic, Hong Kong, China), con una resolución de 3 megapíxeles, en un aumento de 200x y se analizaron dichas imágenes con el software para tratamiento de imágenes Motic® Images plus 2.0 (Motic, Hong Kong, China).

Las variables morfométricas que se midieron en cada corte histológico fueron (Chávez *et al.* 2016):

- Altura: una vez se estableció la base de la vellosidad, desde su punto medio, se trazó una línea hasta el ápice.

Tabla 1. Aporte nutricional de la dieta basal (DB) diseñada en dos etapas: iniciación y finalización. modelo Brody, según biotipo racial, sexo, zona y época de nacimiento.

<b>Ingrediente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Iniciación</b>	<b>Finalización</b>
Maíz	%	55,41	56,49
Gluten de maíz	%	3,00	0,00
Soya integral	%	7,39	10,00
Torta de soya	%	22,19	20,64
Hemoglobina	%	1,43	1,00
Aceite de soya	%	1,99	4,61
Pre mezcla	%	0,69	0,68
Carbonato de calcio	%	1,29	1,11
Sal de mar	%	0,20	0,28
Bicarbonato de sodio	%	0,18	0,04
<b>Aporte nutricional</b>		<b>Iniciación</b>	<b>Finalización</b>
Humedad	%	10,926	10,845
Energía metabolizable (aves)	KCAL/kg	3 152.165	3 299.259
Proteína bruta	%	21,474	19,976
Grasa	%	8,301	10,213
Extracto Libre de N (ELN)	%	49,673	50,195
Fibra bruta	%	2,927	2,801
Cenizas	%	6,108	5,379
Calcio	%	0,997	0,832
Fósforo disponible	%	0,418	0,360
Fósforo total	%	0,648	0,580
Lisina	%	1,363	1,270
Metionina	%	0,650	0,602
Metionina+ Cisteína	%	0,993	0,924
Treonina	%	0,901	0,825
Triptófano	%	0,242	0,222
Arginina	%	1,336	1,228
Isoleucina	%	0,881	0,815
Leucina	%	1,902	1,802
Valina	%	1,042	0,915

- Ancho: con una línea, se unieron los bordes apicales de las células epiteliales de lados opuestos, ubicadas, aproximadamente, en la mitad de la vellosidad.
- Profundidad de la cripta: se obtuvo trazando una línea o segmentos continuos, desde su apertura hasta el fondo de la misma.

El valor promedio para cada variable, se calculó después de realizar mediciones en ocho vellosidades y sus correspondientes criptas intestinales. Debido al hecho de que la altura de las vellosidades puede variar en cada pliegue intestinal (siendo más corta en el ápice), se requería que cada región estuviera igualmente representada en la evaluación. En consecuencia, se eligió un pliegue circular de la mucosa, midiendo dos vellosidades desde la parte inferior, dos a la

derecha, dos desde el lado izquierdo y dos desde el vértice (Chávez *et al.* 2016).

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Para el análisis de las variables productivas, se realizó un modelo de medidas repetidas en el tiempo, bajo un diseño completamente al azar, con tres tratamientos (dieta) y cuatro repeticiones (12 pollos por repetición), para un total de 144 aves. Cada uno de los animales fue asignado aleatoriamente a una de las tres dietas y se registró el peso de los pollos, los días 21 y 42. El análisis estadístico, se realizó según el procedimiento Proc Mixed del SAS®.

Para el análisis de las variables morfométricas y el desarrollo de órganos digestivos, se realizó un modelo de parcelas, divididas bajo un esquema de aleatorización completamente al azar (cuatro repeticiones). Las parcelas grandes estuvieron constituidas por las dietas y las subparcelas por los diferentes días de sacrificio. Cada animal fue asignado aleatoriamente a cada uno de los tratamientos (dieta \* edad de sacrificio) y cada tratamiento tuvo un total de

Tabla 2. Parámetros productivos evaluados los días 21 y 42, en pollos alimentados con una dieta basal o dieta basal suplementada con antibiótico (avilamicina) o probiótico (*B. subtilis*). Ganancia diaria de peso (GDP); conversión alimenticia promedio (CAP). (D1): dieta sin la adición de antibiótico y probiótico; (D2): dieta control más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm); (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas) a razón de 50 ppm. A, B, C dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio), no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

Variable	Edad (días)	Dieta			Valor p
		D1	D2	D3	
GAP (gr)	21	1095,5 <sup>B</sup>	1098,0 <sup>B</sup>	1128,6 <sup>A</sup>	<0,001
	42	2808,5 <sup>C</sup>	2887,5 <sup>B</sup>	2950,5 <sup>A</sup>	<0,001
Consumo Alimento (gr)	21	1402,24 <sup>A</sup>	1394,46 <sup>A</sup>	1410,75 <sup>A</sup>	0,0236
	42	4381,26 <sup>A</sup>	4215,02 <sup>B</sup>	4159,5 <sup>C</sup>	<0,001
CAP	21	1,28 <sup>A</sup>	1,27 <sup>A</sup>	1,25 <sup>A</sup>	0,372
	42	1,56 <sup>A</sup>	1,46 <sup>AB</sup>	1,41 <sup>B</sup>	<0,001

Un resumen del peso medio de los órganos digestivos, como porcentaje del peso vivo del animal (%PV), es presentado en la tabla 3. En general, se puede observar que el uso de *B. subtilis* (D3) estimula, de manera significativa ( $p < 0,05$ ), el crecimiento de órganos digestivos, en comparación a la dieta control (D1). Además, se encontró un efecto estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) con la adición de *B. subtilis* respecto al uso de avilamicina (D2) en órganos, como ventrículo, intestino e hígado y un efecto estadísticamente similar ( $p > 0,05$ ), para el crecimiento del proventrículo.

El coeficiente medio de alometría para los diferentes órganos es presentado en la tabla 4. Las dietas D2 y D3 incrementaron, de manera significativa ( $p < 0,05$ ), el desarrollo de órganos, como ventrículo, intestino, hígado y páncreas con respecto a D1; sin embargo, el uso de *B. subtilis* en el alimento favoreció, de manera significativa, el desarrollo de intestino e hígado, en comparación con los órganos de las aves que recibieron antibiótico, promotor de crecimiento en la dieta.

ocho repeticiones. El análisis estadístico fue desarrollado usando el procedimiento GLM del SAS®. El procedimiento de comparaciones múltiples, se realizó mediante una prueba de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2, se presenta un resumen del rendimiento zootécnico de las aves sometidas a las diferentes dietas. Se puede observar que la ganancia diaria de peso (GDP) incrementó, de manera significativa ( $p < 0,05$ ), en aquellas aves que recibieron *B. subtilis* (D3), en comparación con las aves que recibieron avilamicina, como promotor de crecimiento (D2). Por su parte, se logró una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) en la tasa de conversión alimenticia promedio (CAP), al final del periodo experimental, mediante el uso de *B. subtilis* (D3) en la dieta, frente a los resultados obtenidos con la dieta control (D1); sin embargo, entre el uso de *B. subtilis* y avilamicina no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

En cuanto a la longitud media de las diferentes secciones del intestino (duodeno, yeyuno, íleon y ciego) presentada en la tabla 5, se puede observar que la adición de *B. subtilis* incrementó, de manera significativa ( $p < 0,05$ ), la longitud de las diferentes secciones intestinales, en comparación a la dieta control; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre el uso de *B. subtilis* y avilamicina, como promotor de crecimiento, para las variables mencionadas anteriormente.

En la tabla 6, se presentan los resultados de las variables relacionadas con la morfometría de duodeno, yeyuno e íleon. Se puede observar, que el uso de *B. subtilis* incrementó, de manera significativa ( $p < 0,05$ ), la altura de las vellosidades en duodeno, yeyuno e íleon, en comparación al resultado obtenido bajo el uso de avilamicina (D2), en la dieta. Del mismo modo, se puede observar una menor profundidad ( $p < 0,05$ ) de las criptas intestinales en los tres

Tabla 3. Efecto de *B. subtilis* sobre el peso de diferentes órganos, como porcentaje del peso vivo en pollos de engorde. Porcentaje del peso vivo (%PV). (D1): dieta sin la adición de antibiótico y probiótico; (D2): dieta control más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm); (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas), a razón de 50 ppm. A, B, C dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio), no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ). EEM corresponde al error estándar de la media.

Órganos	Edad (días)	Dieta			Valor P
		D1	D2	D3	
Proventrículo (%PV)	21	0,33 <sup>A</sup>	0,38 <sup>B</sup>	0,41 <sup>B</sup>	<0,001
	42	0,50 <sup>A</sup>	0,61 <sup>B</sup>	0,60 <sup>B</sup>	<0,001
Ventrículo (%PV)	21	1,49 <sup>A</sup>	1,47 <sup>A</sup>	1,69 <sup>B</sup>	0,008
	42	2,40 <sup>A</sup>	2,74 <sup>B</sup>	2,81 <sup>C</sup>	<0,001
Intestino completo (%PV)	21	4,90 <sup>A</sup>	5,45 <sup>B</sup>	5,50 <sup>B</sup>	<0,001
	42	7,15 <sup>A</sup>	7,37 <sup>B</sup>	8,38 <sup>C</sup>	0,017
Hígado (%PV)	21	2,40 <sup>A</sup>	2,58 <sup>B</sup>	2,63 <sup>B</sup>	0,002
	42	3,31 <sup>A</sup>	3,32 <sup>A</sup>	3,84 <sup>B</sup>	0,003
Páncreas	21	0,21 <sup>A</sup>	0,20 <sup>A</sup>	0,24 <sup>A</sup>	0,654
	42	0,33 <sup>A</sup>	0,34 <sup>A</sup>	0,36 <sup>A</sup>	0,328

Tabla 4. Efecto del uso de *B. subtilis* sobre el coeficiente de alometría, para diferentes órganos digestivos. Coeficiente de alometría por órgano (C.A.O). (D1): dieta sin la adición de antibiótico y probiótico; (D2): dieta control más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm); (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas), a razón de 50 ppm. A, B, C dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio), no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ). EEM corresponde al error estándar de la media.

CAO	Edad (días)	Dieta			Valor P
		D1	D2	D3	
Proventrículo	21	0,18 <sup>A</sup>	0,24 <sup>A</sup>	0,26 <sup>A</sup>	0,549
	42	0,32 <sup>A</sup>	0,34 <sup>A</sup>	0,39 <sup>A</sup>	0,461
Ventrículo	21	0,24 <sup>A</sup>	0,24 <sup>A</sup>	0,21 <sup>A</sup>	0,639
	42	0,32 <sup>A</sup>	0,39 <sup>AB</sup>	0,45 <sup>B</sup>	0,005
Intestino completo	21	0,27 <sup>A</sup>	0,29 <sup>A</sup>	0,32 <sup>A</sup>	0,321
	42	0,36 <sup>A</sup>	0,43 <sup>AB</sup>	0,50 <sup>B</sup>	0,001
Hígado	21	0,35 <sup>A</sup>	0,35 <sup>A</sup>	0,40 <sup>A</sup>	0,487
	42	0,42 <sup>A</sup>	0,60 <sup>B</sup>	0,77 <sup>C</sup>	<0,001
Páncreas	21	0,26 <sup>A</sup>	0,43 <sup>B</sup>	0,46 <sup>B</sup>	<0,001
	42	0,44 <sup>A</sup>	0,51 <sup>AB</sup>	0,56 <sup>B</sup>	<0,001

segmentos evaluados, cuando se adicionó *B. subtilis*, en la dieta de las aves.

El uso de probióticos en la alimentación animal, como alternativa al uso de antibióticos promotores de crecimiento (APC), ha demostrado resultados favorables sobre la salud del intestino y el rendimiento productivo de los animales. Son diversos los modos de acción, mediante los cuales, los probióticos permiten obtener un mejor aprovechamiento de los nutrientes presentes en la

dieta, incrementando, así, la eficiencia productiva de los animales (Sugiharto, 2016; Lokapirnasari *et al.* 2017).

Un indicador importante en la rentabilidad de las granjas es el rendimiento productivo de los animales. Acorde con los resultados zootécnicos obtenidos en la presente investigación, se ha reportado en la literatura que el uso de *B. subtilis* tiene un efecto similar o estadísticamente superior sobre la ganancia diaria de peso y la tasa de conversión alimenticia, en comparación al uso de APC's (Gong

Tabla 5. Influencia de *B. subtilis* sobre la longitud de diferentes secciones intestinales en pollos de engorde. (D1): dieta sin la adición de antibiótico y probiótico; (D2): dieta control más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm); (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas), a razón de 50 ppm. A, B, C dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio), no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ). EEM corresponde al error estándar de la media.

Longitud sección intestinal (cm)	Edad (días)	Dieta			Valor P
		D1	D2	D3	
Duodeno	21	26,5 <sup>A</sup>	25,0 <sup>A</sup>	25,0 <sup>A</sup>	0,739
	42	27,0 <sup>A</sup>	30,5 <sup>B</sup>	31,5 <sup>B</sup>	0,003
Yeyuno	21	48,5 <sup>A</sup>	47,5 <sup>A</sup>	46,0 <sup>A</sup>	0,592
	42	55,0 <sup>A</sup>	60,0 <sup>AB</sup>	63,5 <sup>B</sup>	<0,001
Íleon	21	50,0 <sup>A</sup>	57,0 <sup>B</sup>	53,5 <sup>C</sup>	<0,001
	42	52,0 <sup>A</sup>	60,5 <sup>B</sup>	63,5 <sup>B</sup>	<0,001
Ciegos	21	11,5 <sup>A</sup>	10,0 <sup>A</sup>	10,0 <sup>A</sup>	0,462
	42	14,0 <sup>A</sup>	16,0 <sup>B</sup>	16,0 <sup>B</sup>	<0,001

Tabla 6. Efecto de *B. subtilis* sobre la altura de las vellosidades y profundidad de las criptas, en las diferentes secciones del intestino delgado. (D1): dieta sin la adición de antibiótico y probiótico; (D2): dieta control más la adición de antibiótico (Avilamicina 10 ppm); (D3): dieta control más la adición de *B. subtilis* (en forma de esporas), a razón de 50 ppm. A, B, C dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio), no difieren estadísticamente ( $P > 0,05$ ).

Variable	Día 21				Valor p
		D1	D2	D3	
Altura vellosidad ( $\mu\text{m}$ )	Duodeno	1278,0 <sup>C</sup>	1441,9 <sup>B</sup>	1521,3 <sup>A</sup>	<0,001
	Yeyuno	1276,5 <sup>C</sup>	1356,5 <sup>B</sup>	1521,1 <sup>A</sup>	<0,001
	Íleon	884,6 <sup>C</sup>	1205,7 <sup>B</sup>	1343,5 <sup>A</sup>	<0,001
Profundidad cripta ( $\mu\text{m}$ )	Duodeno	53,6 <sup>A</sup>	50,1 <sup>B</sup>	40,5 <sup>C</sup>	<0,001
	Yeyuno	62,8 <sup>A</sup>	59,5 <sup>B</sup>	54,2 <sup>C</sup>	<0,001
	Íleon	74,4 <sup>A</sup>	70,3 <sup>B</sup>	57,6 <sup>C</sup>	<0,001
<b>Día 42</b>					
Altura vellosidad ( $\mu\text{m}$ )	Duodeno	1658,7 <sup>C</sup>	1745,0 <sup>B</sup>	1830,2 <sup>A</sup>	<0,001
	Yeyuno	1661,5 <sup>C</sup>	1699,4 <sup>B</sup>	1911,9 <sup>A</sup>	<0,001
	Íleon	1200,9 <sup>C</sup>	1205,7 <sup>B</sup>	1343,5 <sup>A</sup>	<0,001
Profundidad cripta ( $\mu\text{m}$ )	Duodeno	48,6 <sup>A</sup>	39,9 <sup>B</sup>	31,1 <sup>C</sup>	<0,001
	Yeyuno	52,1 <sup>A</sup>	51,8 <sup>A</sup>	38,5 <sup>C</sup>	<0,001
	Íleon	65,2 <sup>A</sup>	56,9 <sup>B</sup>	47,8 <sup>C</sup>	<0,001

*et al.* 2018). Además, se ha evidenciado la capacidad de *B. subtilis* para contrarrestar los impactos desfavorables en las diferentes infecciones causadas por *Clostridium perfringens* o *Coccidia* sp., sobre el desempeño productivo (Park *et al.* 2020). Son diversos los estudios realizados en los que se alcanza un mejor desempeño zootécnico en pollos de engorde, mediante el uso de *B. subtilis*, como alternativa a los APC's (Goodarzi Borojjeni *et al.* 2018).

Un mejor rendimiento productivo es estrechamente ligado a una óptima salud intestinal (Li *et al.* 2017). Los principales mecanismos, mediante los cuales, los probióticos permiten conservar la salud del intestino, son la producción de ácidos orgánicos, bacteriocinas o simplemente por exclusión competitiva de microorganismos. Por lo anterior, la adición de probióticos en el alimento, permite modular los ecosistemas microbianos presentes a lo largo del intestino

(Gadde *et al.* 2017), garantizando la simbiosis estable entre los microorganismos intestinales y el hospedante, disminuyendo el gasto catabólico asociado a la hiperactivación del sistema inmune, protegiendo la integridad del intestino y favoreciendo el buen funcionamiento del epitelio intestinal, para cumplir, con eficiencia, con los procesos de digestión del alimento y la absorción de los nutrientes (Madrid-Garcés *et al.* 2017; Omonijo *et al.* 2018).

La importancia en el desarrollo óptimo (CA) de los órganos del tracto gastrointestinal radica en la capacidad para obtener de la dieta los nutrientes necesarios para garantizar las funciones de mantenimiento y crecimiento de los animales (Gao *et al.* 2019; Modina *et al.* 2019). Cuando el órgano crece en la misma proporción al peso corporal, CA es de 1; si el crecimiento del órgano es más lento al peso corporal, CA es menor a 1 y cuando CA es mayor a 1, hay un crecimiento rápido con relación a la ganancia total de peso corporal (Chávez *et al.* 2016). Por lo anterior, estudios realizados en pollos de engorde han reportado que la inclusión de *B. subtilis* incrementa, de manera significativa, el peso y el coeficiente alométrico (CA) de los órganos digestivos (Chávez *et al.* 2016), resultados similares a los obtenidos en la presente investigación. Además, *B. subtilis* tiene la capacidad de contrarrestar el efecto de microorganismos patógenos (como coccidia) y de mejorar el desarrollo y el crecimiento del intestino delgado, en pollos de engorde (Wang *et al.* 2018).

El óptimo desarrollo y la protección de la superficie del epitelio intestinal permite obtener una mayor área de contacto entre el contenido intestinal y las vellosidades y microvellosidades que albergan a los enterocitos, encargados de la digestión y el transporte de los nutrientes (Thongsong *et al.* 2019; Wang *et al.* 2020). Por tanto, un mejor desarrollo del epitelio intestinal, principalmente a nivel de duodeno y yeyuno, está asociado a una mayor eficiencia en la digestión y absorción de nutrientes (Peng *et al.* 2016), mientras que la disminución en la profundidad de las criptas, se asocia a un menor gasto energético, producto de la disminución en la tasa de mitosis en la base de la cripta, con el fin de reemplazar los enterocitos desprendidos en la parte apical de la vellosidad (M'sadeq, 2019). Estudios realizados en pollos de engorde, incluyendo esta investigación, reportan que el uso de *B. subtilis* incrementa la altura de las vellosidades y disminuye la profundidad de las criptas intestinales (Wilson *et al.* 2018; Li *et al.* 2019).

Los probióticos muestran la capacidad de proteger el epitelio intestinal, ya que disminuyen la tasa de descamación, asociada a la acción de bacterias patógenas (Gadde *et al.* 2017), mientras mejoran el desarrollo e integridad del intestino e incrementan el metabolismo, por un aumento en la actividad enzimática en los enterocitos (Gong *et al.* 2018).

La adición de *B. subtilis* en la dieta de pollos de engorde mejora el desarrollo de órganos digestivos, principalmente, la alometría del intestino delgado y la morfología del epitelio intestinal, además, de una mejor tasa de conversión alimenticia. De esta manera, *B. subtilis* se considera una alternativa eficaz y biológicamente segura ante el uso de antibióticos, promotores de crecimiento en pollos de engorde.

**Agradecimientos.** Al personal de apoyo de la Estación de Producción Animal “San Pablo” de la Universidad Nacional de Colombia, por su dedicación y compromiso en el desarrollo del proyecto. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. Este manuscrito es derivado del trabajo de grado “Efecto en la adición de compuestos antimicrobianos en la dieta sobre la microbiota y parámetros intestinales (íleon) en pollos de engorde” del primer autor, para optar al título de Magíster en Ciencias Agrarias. Financiación: Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Registro único de proyectos. Código HERMES 37384.

## REFERENCIAS

1. BARRERA-BARRERA, M.H.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, S.P.; TORRES-VIDALES, G. 2014. Efectos de la adición de ácido cítrico y un probiótico comercial en el agua de bebida, sobre la morfometría del duodeno y parámetros zootécnicos en pollo de engorde. Orinoquia (Colombia). 18(2):52-62.
2. CHÁVEZ, L.; LÓPEZ, A.; PARRA, J. 2016. Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. Archivos de Zootecnia. 65(249):51-58. <http://dx.doi.org/10.21071/az.v65i249.441>
3. CHOWDHURY, S.; MANDAL, G.P.; PATRA, A.K. 2018. Different essential oils in diets of chickens: 1. Growth performance, nutrient utilisation, nitrogen excretion, carcass traits and chemical composition of meat. Animal Feed Science and Technology. 236:86-97. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.002>
4. DODDS, D.R. 2017. Antibiotic resistance: a current epilogue. Biochemical Pharmacology. 134:139-146. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.12.005>
5. GADDE, U.D.; OH, S.; LEE, Y.; DAVIS, E.; ZIMMERMAN, N.; REHBERGER, T.; LILLEHOJ, H.S. 2017. Dietary *Bacillus subtilis* based direct fed microbials alleviate LPS-induced intestinal immunological stress and improve intestinal barrier gene expression in commercial broiler chickens. Research in Veterinary Science. 114:236-243. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.05.004>
6. GAO, J.; YIN, J.; XU, K.; LI, T.; YIN, Y. 2019. What is the impact of diet on nutritional diarrhea associated with gut microbiota in weaning piglets: a system review. BioMed Research International. 2019:6916189. <https://doi.org/10.1155/2019/6916189>
7. GONG, L.; WANG, B.; MEI, X.; XU, H.; QIN, Y.; LI, W.; ZHOU, Y. 2018. Effects of three probiotic *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activities, antioxidative capacity, serum immunity, and biochemical parameters in



- broilers. *Animal Science Journal*. 89(11):1561-1571.  
<https://doi.org/10.1111/asj.13089>
8. GOODARZI BOROOJENI, F.; VAHJEN, W.; MÄNNER, K.; BLANCH, A.; SANDVANG, D.; ZENTEK, J. 2018. *Bacillus subtilis* in broiler diets with different levels of energy and protein. *Poultry Science*. 97(11):3967-3976.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pey265>
  9. HENCHION, M.; HAYES, M.; MULLEN, A.M.; FENELON, M.; TIWARI, B. 2017. Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*. 6(7):53.  
<https://doi.org/10.3390/foods6070053>
  10. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA. 1995. Resolución No. 1082. 20 de abril de 1995. ICA. Disponible desde Internet en:  
<https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/regulacion-y-control-de-medicamentos-veterinarios/resoluciones-prohibicion-o-restriccion-de-sustanci/06-res-1082-95-furazolidona.aspx>
  11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA. 2018. Resolución 22747 de 2018. "Por medio de la cual se prohíbe la importación, fabricación, registro, comercialización y uso de aditivos que contengan polimixina E (colistina) y polimixina B como promotores de crecimiento en especies animales productoras de alimentos para el consumo humano". ICA. Disponible desde Internet en:  
<https://www.ica.gov.co/getattachment/4972ba67-e1ba-4b2a-89ed-09f54f5c62b4/2018R22747.aspx>
  12. LI, C.-L.; WANG, J.; ZHANG, H.-J.; WU, S.-G.; HUI, Q.-R.; YANG, C.-B.; FANG, R.-J.; QI, G.-H. 2019. Intestinal morphologic and microbiota responses to dietary *Bacillus spp.* in a broiler chicken model. *Frontiers in Physiology*. 9:1968.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01968>
  13. LI, Y.; SONG, Z.; KERR, K.A.; MOESER, A.J. 2017. Chronic social stress in pigs impairs intestinal barrier and nutrient transporter function, and alters neuro-immune mediator and receptor expression. *Plos One*. 12(2):e0171617.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171617>
  14. LIU, Y.; ESPINOSA, C.D.; ABELILLA, J.J.; CASAS, G.A.; LAGOS, L.V.; LEE, S.A.; KWON, W.B.; MATHAI, J.K.; NAVARRO, D.M.D.L.; JAWORSKI, N.W.; STEIN, H.H. 2018. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Animal Nutrition*. 4(2):113-125.  
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.01.007>
  15. LOKAPIRNASARI, W.P.; DEWI, A.R.; FATHINAH, A.; HIDANAH, S.; HARIJANI, N.; SOEHARSONO, S.; KARIMAH, B.; ANDRIANI, A.D. 2017. Effect of probiotic supplementation on organic feed to alternative antibiotic growth promoter on production performance and economics analysis of quail. *Veterinary World*. 10(12):1508-1514.  
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1508-1514>
  16. M'SADEQ, S.A. 2019. Effect of dietary supplementation of miaclost on performance and gut morphology in broiler chickens challenged with *Escherichia coli*. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2(50):506-514.  
<https://doi.org/10.36103/ijas.v2i50.650>
  17. MADRID-GARCÉS, T.A.; LÓPEZ-HERRERA, A.; PARRA-SUESCÚN, J.E. 2017. La ingesta de aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides*) mejora la morfología intestinal en Broilers. *Archivos de zootecnia*. 67(260):470-476.  
<https://doi.org/10.21071/az.v0i0.3876>
  18. MEHDI, Y.; LÉTOURNEAU-MONTMINY, M.P.; GAUCHER, M.-L.; CHORFI, Y.; SURESH, G.; ROUISSI, T.; BRAR, S.K.; CÔTÉ, C.; AVALOS RAMIREZ, A.; GODBOUT, S. 2018. Use of antibiotics in broiler production: global impacts and alternatives. *Animal Nutrition*. 4(2):170-178.  
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.03.002>
  19. MODINA, S.C.; POLITO, U.; ROSSI, R.; CORINO, C.; DI GIANCAMILLO, A. 2019. Nutritional regulation of gut barrier integrity in weaning piglets. *Animals*. 9(12):1045.  
<https://doi.org/10.3390/ani9121045>
  20. MOHAMMADI GHEISAR, M.; KIM, I.H. 2018. Phytobiotics in poultry and swine nutrition: a review. *Italian Journal of Animal Science*. 17(1):92-99.  
<https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1350120>
  21. OMONIJO, F.A.; NI, L.; GONG, J.; WANG, Q.; LAHAYE, L.; YANG, C. 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Animal Nutrition*. 4(2):126-136.  
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.09.001>
  22. OVIEDO-RONDÓN, E.O. 2019. Holistic view of intestinal health in poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 250:1-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.009>
  23. PARK, I.; LEE, Y.; GOO, D.; ZIMMERMAN, N.P.; SMITH, A.H.; REHBERGER, T.; LILLEHOJ, H.S. 2020. The effects of dietary *Bacillus subtilis* supplementation, as an alternative to antibiotics, on growth performance, intestinal immunity, and epithelial barrier integrity in broiler chickens infected with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*. 99(2):725-733.  
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.002>
  24. PENG, Q.Y.; LI, J.D.; LI, Z.; DUAN, Z.Y.; WU, Y.P. 2016. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on growth performance, carcass traits and jejunal

- morphology in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 214:148-153.  
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.010>
25. ROA, M.L.; GUZMAN, Y.E.; NAVARRO, C.A. 2018. Efecto del uso de probióticos en la morfometría intestinal de pollos de engorde. *Archivos de Zootecnia (Colombia)*. 67(257):93-98.  
<https://doi.org/10.21071/az.v0i0.3878>
26. SALIM, H.M.; HUQUE, K.S.; KAMARUDDIN, K.M.; BEG, M.A.H. 2018. Global restriction of using antibiotic growth promoters and alternative strategies in poultry production. *Science Progress*. 101(1):52-75.  
<https://doi.org/10.3184/003685018X15173975498947>
27. SOKALE, A.O.; MENCONI, A.; MATHIS, G.F.; LUMPKINS, B.; SIMS, M.D.; WHELAN, R.A.; DORANALLI, K. 2019. Effect of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the intestinal structural integrity and growth performance of broiler chickens under necrotic enteritis challenge. *Poultry Science*. 98(11):5392-5400.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pez368>
28. SUGIHARTO, S. 2016. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 15(2):99-111.  
<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001>
29. SVIHUS, B. 2014. Function of the digestive system. *Journal of Applied Poultry Research*. 23(2):306-314.  
<https://doi.org/10.3382/japr.2014-00937>
30. THONGSONG, B.; WIYAPORN, M.; KALANDAKANOND-THONGSONG, S. 2019. Blood glucose, amino acid profiles and nutrient transporter gene expressions in the small intestine of low and normal birthweight piglets during the early suckling period. *The Veterinary Journal*. 247:1-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.006>
31. WANG, M.; YANG, C.; WANG, Q.; LI, J.; HUANG, P.; LI, Y.; DING, X.; YANG, H.; YIN, Y. 2020. The relationship between villous height and growth performance, small intestinal mucosal enzymes activities and nutrient transporters expression in weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 104(2):606-615.  
<https://doi.org/10.1111/jpn.13299>
32. WANG, X.; KIESS, A.S.; PEEBLES, E.D.; WAMSLEY, K.G.S.; ZHAI, W. 2018. Effects of *Bacillus subtilis* and zinc on the growth performance, internal organ development, and intestinal morphology of male broilers with or without subclinical coccidia challenge. *Poultry Science*. 97(11):3947-3956.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pey262>
33. WILSON, F.D.; CUMMINGS, T.S.; BARBOSA, T.M.; WILLIAMS, C.J.; GERARD, P.D.; PEEBLES, E.D. 2018. Comparison of two methods for determination of intestinal villus to crypt ratios and documentation of early age-associated ratio changes in broiler chickens. *Poultry Science*. 97(5):1757-1761.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pex349>