

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Evaluación de un coctel de bacteriófagos liofilizados como promotores de crecimiento en pollos de engorde

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

Autores:

Ana Gabriela Bernal Naula

Laura Vanesa Gutama Pérez

Director:

Fabián Manuel Astudillo Riera

ORCID:  0000-0001-9180-5477

Cuenca, Ecuador

2024 - 11 - 26

Resumen

El sector avícola comprende una de las agroindustrias más grandes e importantes del sector agropecuario mundial; como en toda producción enfrenta, problemas de resistencia bacteriana a los antibióticos. En la actualidad se adoptan medidas para enfrentar este creciente problema, una alternativa es la reducción de uso de antibióticos como promotores de crecimiento siendo una buena opción el uso de bacteriófagos. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de cócteles de bacteriófagos liofilizados como promotores de crecimiento en pollos de engorde sobre los parámetros productivos y morfometría intestinal. Se utilizaron 288 pollitos Cobb 500 distribuidos aleatoriamente en cuatro tratamientos: **T1**, Dieta base más placebo (Gelatina y Leche descremada), **T2**, Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada, **T3**, Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina y **T4**, Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina. Se evaluó el consumo de alimento, peso corporal, índice de conversión alimenticia, mortalidad y al final de la crianza la morfometría intestinal. La administración de los bacteriófagos se realizó vía oral dos veces a la semana a una concentración de 1×10^4 UFP/ml. El estudio tuvo una duración de 49 días. La aplicación de los bacteriófagos en T2 y T4 mostró mejores pesos a los 49 días, el consumo de alimento a los 21 días y la ganancia de peso a los 49 días fue mayor para T4, no hubo significancia estadística entre los tratamientos para la ganancia de peso, sin embargo, el índice de conversión alimenticia fue mejor para los grupos donde se aplicaron bacteriófagos T2, T3 y T4. En cuanto a mortalidad, peso de molleja y proventrículo y morfometría intestinal no hubo significancia entre los tratamientos. En conclusión, la administración de bacteriófagos son una buena alternativa para mejorar los parámetros productivos en la crianza de pollos de engorde.

Palabras clave del autor: bacteriófagos liofilizados, lioprotectores, promotores de crecimiento, avicultura



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

The poultry sector comprises one of the largest and most important agribusinesses in the world agricultural sector; as in all production, it faces, among others, the problems of bacterial resistance to antibiotics. At present, measures are being adopted to face this growing problem; one alternative is the reduction of the use of antibiotics as growth promoters, being the use of bacteriophages a good option. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effectiveness of lyophilized bacteriophage cocktails as growth promoters in broilers on productive parameters and intestinal morphometry. A total of 288 Cobb 500 chicks randomly distributed in four treatments were used: **T1**, Base diet plus placebo (Gelatin and Skim Milk), **T2**, Base diet plus bacteriophages in Skim Milk vehicle, **T3**, Base diet plus bacteriophages in Gelatin vehicle and **T4**, Base diet plus bacteriophages in Skim Milk and Gelatin vehicle. Feed consumption, body weight, feed conversion rate, mortality and intestinal morphometry were evaluated at the end of the rearing period. Bacteriophages were administered orally twice a week at a concentration of 1×10^4 PFU/ml. The study lasted 49 days. The application of bacteriophages in T2 and T4 showed better weights at 49 days, feed consumption at 21 days and weight gain at 49 days was higher for T4, there was no statistical significance between treatments for weight gain, however, the feed conversion rate was better for the groups where bacteriophages were applied T2, T3 and T4. In terms of mortality, gizzard and proventriculus weight and intestinal morphometry, there was no significance between treatments. In conclusion, the administration of bacteriophages is a good alternative to improve productive parameters in broiler breeding.

Author Keywords: lyophilized bacteriophages, lyoprotectants, growth promoters, poultry



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

1.	Introducción.....	12
2.	Objetivos	14
2.1.	General	14
2.2.	Específicos.....	14
3.	Revisión de Literatura.....	15
3.1.	Avicultura en Ecuador.....	15
3.2.	Resistencia antimicrobiana.....	15
3.3.	Bacteriófagos	17
3.4.	Efecto de los bacteriófagos sobre los parámetros productivos	18
3.5.	Administración vía oral de bacteriófagos	18
3.6.	Liofilización.....	19
3.6.1.	Agentes aditivos protectores utilizados en la liofilización para mejorar la viabilidad de bacteriófagos	20
3.7.	Consumo de agua en pollos.....	21
4.	Materiales y Métodos.....	24
4.1.	Área de estudio.....	24
4.2.	Diseño experimental	24
4.3.	Actividades experimentales	25
4.3.1.	Actividades de laboratorio	25
4.3.1.1.	Preparación de inóculo	25
4.3.2.	Actividades de campo.....	26
4.3.2.1.	Actividad N°1: Preparación del galpón.....	26
4.3.2.2.	Actividad N°2: Recepción de pollitos bebés.....	26
4.3.2.3.	Actividad N°3: Administración de bacteriófagos liofilizados en agua	27

4.3.2.4.	Actividad N°4: Pesaje y vacunación de pollos	28
5.	Análisis estadístico	29
6.	Resultados y discusión.....	30
6.1.	Peso corporal.....	30
6.2.	Consumo alimento.....	30
6.3.	Ganancia de peso e índice de conversión	31
6.4.	Mortalidad	33
6.5.	Peso de molleja y proventrículo y longitud de intestino.....	34
6.6.	Morfometría Intestinal	34
6.7.	Porcentajes y tipo Inflamación.....	35
7.	Conclusiones.....	37
8.	Recomendaciones	38
9.	Referencias	39
10.	Anexos	47

Índice de figuras

Figura 1. Mapa satelital, ubicación geografía granja comercial AVICOLAS SANTA ROSITA, Parroquia Sinincay.....	24
Figura 2. Reactivos y preparación para la obtención de cultivos bacterianos/ bacteriófagos	47
Figura 3. Siembra de la <i>E. coli</i> TOP10F'	48
Figura 4. Inoculación de los bacteriófagos en cajas Petri.....	49
Figura 5. Cosecha de bacteriófagos.....	49
Figura 6. Centrifugación del suspendido de bacteriófagos.....	50
Figura 7. Regulación de pH de la solución de bacteriófagos concentrada	50
Figura 8. Dosificación y etiquetado del coctel de bacteriófagos listos para liofilizar	51
Figura 9. Liofilización de la solución de bacteriófagos.....	51
Figura 10. Soluciones con bacteriófagos, liofilizados y congelados.....	52
Figura 11. Preparación del galpón.	53
Figura 12. Recepción de pollitos bebes Cobb 500	55
Figura 13. Cronograma de actividades durante la crianza de las aves.....	59

Índice de tablas

Tabla 1. Consumo diario de agua en pollos en 12 parvadas en la Granja de Investigación Aplicada de Pollos	22
Tabla 2. Peso promedio en dos períodos de tiempo (21 y 49 días).....	30
Tabla 3. Consumo promedio en dos períodos de tiempo (21 y 49 días)	31
Tabla 4. Ganancia de peso en dos períodos de tiempo (21 y 49 días)	32
Tabla 5. Índice de conversión en dos períodos temporales (21 y 49 días).....	33
Tabla 6. Mortalidad en dos períodos temporales (21 y 49 días)	34
Tabla 7. Peso de molleja y longitud del intestino	34
Tabla 8. Longitud de vellosidades y profundidad de criptas	35
Tabla 9. Score realizado para determinar el grado y tipo de inflamación mediante un análisis histológico del Duodeno	36

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Dios y la virgen María por brindarme la fortaleza y paz necesaria para cumplir esta anhelada meta en mi vida, no ha sido sencillo mucho menos fácil, pero han puesto en mi camino a muchas personas que en un sin número de maneras me han brindado su apoyo y cariño. A mi amada madre Nelly, que con su dulzura y paciencia siempre será mi ejemplo, siempre presente para recordarme lo fuerte que puedo ser ante todas las adversidades en mi vida, te amo mamita hermosa. A mí querido padre Miguel, gracias por ser un ejemplo de trabajo y constancia en mi vida.

A Paúl, mi compañero de vida y amado esposo que siempre está dispuesto a apoyarme y entregar con mucho amor todo para su hogar, gracias por todo tu esfuerzo y amor en este camino, este triunfo es nuestro. De igual manera a sus padres Sandra y Pedro quienes siempre con su generoso e inmenso amor han sido un apoyo para mi familia en cada momento. Para mi princesa hermosa Camila, mi amada hija quien a su corta edad ha sido muy madura y comprensiva, siempre apoyándome y siendo una niña de quien me siento muy orgullosa, mi motor de vida por siempre. A mis queridos hermanos Diego y Jonnathan, quienes con su amor y apoyo siempre me han hecho sentir que soy una parte importante en su vida y su ejemplo.

A nuestro tutor el Dr. Fabián Astudillo por confiar en nosotras para este proyecto y por ser una guía fundamental para cumplir esta anhelada meta. Al Dr. Antonio Vallecillo por ser un excelente guía y siempre estar dispuesto a ayudarnos en cada paso de este proyecto.

A mi compañera de tesis y gran amiga Lau, siempre dispuesta a poyarme y ser parte de mis locuras, gracias por ser mi compañera en esta ardua y gratificante etapa de nuestras vidas, gracias por estar en cada momento con lágrimas y risas que pasamos para cumplir este anhelado sueño. A todos mis amigos, compañeros y docentes quienes me permitieron ser parte de sus vidas e historias.

Finalmente, a mi pequeña Luna, contigo aprendí a ser una mamá perruna, gracias por haber sido mi compañera en tantas largas noches de estudio, tus ronquidos me hacían sentir acompañada, fuiste mi compañera en muchas prácticas y hoy sé que desde el cielo chocas tu patita con mi mano. A mi Chiripa, un angelito más que me cuida desde el cielo, gracias por siempre hacerme sentir tu amor en cada arrebatado recibimiento. Simplemente gracias por su amor tan puro.

Ana Gabriela Bernal Naula

Dedicatorias

Esta tesis la dedico en primer lugar a Dios y la virgen María que siempre han sido mi pilar de fortaleza y paz para cumplir esta tan anhelada meta. A mis padres por ser mi ejemplo de perseverancia y lucha en cada momento en mi vida.

A mi amada madre, Nelly, que siempre con su amor me ha impulsado a ser una mejor persona cada día, siempre demostrando la paz que tiene su corazón y la fortaleza inquebrantable que la caracteriza, siempre haciéndome sentir que soy su orgullo.

A Paul, mi compañero de vida, mi amado esposo, quien aguantó todas mis crisis emocionales y quien me levantó siempre con su amor y paz, haciéndome sentir que soy invencible y que puedo con todo lo que me proponga.

A mí amada hija Camila, quien supo compartir a su mami con esta ardua etapa universitaria, siempre atenta, cariñosa, educada y una excelente estudiante, una niña llena de amor y simplemente la mejor compañera en este camino.

A Paul y Cami, mi amado hogar, quienes han estado cada noche y cada día siempre alentándome y apoyándome desde el primer día en que decidí retomar mis estudios, este anhelado sueño es un logro familiar y lo hemos cumplido juntos.

A Lau, mi gran amiga y compañera de tesis, quien diría que desde el primer día que nos vimos conectaríamos así de bien, ahora logramos este anhelado sueño juntas y estoy segura de que seguiremos compartiendo muchas historias más. Deseo y anhelo muchos éxitos en tu vida profesional amiga querida. Dios te bendiga siempre.

Ana Gabriela Bernal Naula

Agradecimientos

Primeramente, agradezco a Dios y a la Virgen María, por la salud, la fortaleza, la sabiduría y sobre todo por darme la oportunidad de llegar hasta este momento y cumplir uno de mis más grandes sueños.

Agradezco también a mi querida madre Teresa, por ser mi motivo de superación y estar siempre para mí, por su apoyo incondicional desde el inicio de este gran sueño, hasta el final de este largo camino, mami te admiro mucho gracias, por tanto. A mí querido padre José por su paciencia y apoyo en todo momento.

A mí querida abuelita Angelita, por su cariño y sus palabras de aliento, fue y es un ejemplo de esfuerzo y valentía para superar las adversidades.

A mi prima hermana Mary, con quien he compartido buenos y malos momentos, gracias por la paciencia en los días de desesperación y por las veces que me has ayudado y has estado conmigo para escucharme.

A nuestro tutor de tesis, Dr. Fabián Astudillo por su asesoramiento para llevar a cabo la culminación de este proyecto de tesis. Al Dr. Antonio Vallecillo por su paciencia y haber sido incondicional durante todo este proceso.

También quiero agradecer a mi querida amiga y compañera de tesis Gabi, por todos los buenos y malos momentos que hemos compartido juntas, he aprendido mucho de ti, gracias por tu apoyo incondicional, tu tiempo, paciencia y sobre todo por creer en mi para culminar esta meta tan anhelada.

A mis amigos, compañeros de clases por todo el tiempo compartido y a mis docentes por la paciencia para transmitirnos sus conocimientos.

Por último, a mis fieles amigos, mis mascotas Max y Firu, mis compañeros en toda situación, gracias por llegar a mi vida.

Laura Vanesa Gutama Pérez

Dedicatorias

Este trabajo de titulación va dedicado a Dios por la fortaleza recibida para poder culminar con éxito esta etapa.

A mis padres, a quienes respeto y admiro mucho por su sacrificio y esfuerzo diario para salir adelante. En especial a mi querida madre Teresa por la paciencia, el cariño y por permitirme cumplir mis sueños a mi ritmo. A mí querida abuelita Angelita, por su amor incondicional y a mi prima hermana Mary.

A mi compañera de tesis y mejor amiga Gabi, por su amistad incondicional y nunca dejarme sola, por demostrarme que la verdadera amistad si existe. Muchos éxitos y bendiciones querida Gabi, los sueños si se cumplen.

Laura Vanesa Gutama Pérez

1. Introducción

La industria avícola en la actualidad busca alternativas que sustituyan el uso de promotores de crecimiento de tipo antibiótico; los mismos son usados para tratar y prevenir infecciones en animales, sin embargo, en los últimos años ha aumentado el interés en el uso de bacteriófagos, puesto que la resistencia bacteriana encontrada tanto en humanos como en animales ha incrementado, por ello la prohibición en algunos países sobre el uso de antibióticos como promotores de crecimiento es una variable a tener en cuenta (Honorio *et al.*, 2021).

Referente a la producción de carne de pollo y huevos de mesa, Ecuador es autosustentable, lo que significa que toda la producción se consume dentro del país y no importa productos avícolas. Por lo tanto, estamos comprometidos con la Soberanía y Seguridad Alimentaria del Ecuador. En 2023 se produjo en el país 549 mil toneladas de carne de pollo a partir de la cría de 292 millones de pollos de engorde, lo que significa que un ecuatoriano consume en promedio 30,14 kg de carne de pollo al año. En cuanto al huevo de mesa, Ecuador produjo 3.648 millones de huevos en 2023, con promedio 9,9 millones de huevos por día. En Ecuador, el consumo per cápita es de 200 huevos al año. (CONAVE, 2023a).

Los bacteriófagos como sustituto de los promotores de crecimiento tipo antibiótico ayudan a controlar los principales patógenos bacterianos que afectan a las aves, como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, además, de mejorar los parámetros productivos en pollos broilers y gallinas de postura (Honorio *et al.*, 2021). Los bacteriófagos son los depredadores naturales de las bacterias, estos virus actúan como parásitos intracelulares de las mismas y tienen alta especificidad, por lo cual, no afectan a los microorganismos benéficos (González *et al.*, 2020).

Según Principi *et al.*, (2019); las propiedades antimicrobianas de los bacteriófagos los convierte en una alternativa prometedora a los antibióticos, para tales aplicaciones se requiere el desarrollo de estrategias que aseguran su producción en gran escala, la viabilidad de las partículas fágicas durante la administración y la estabilidad del almacenamiento.

Entre la manera más sencilla y rentable para la administración de bacteriófagos en pollos está la vía oral a través del agua o alimento; las principales desventajas de este tipo de inoculación es que los bacteriófagos presentan una viabilidad nula cuando son expuestos a temperaturas superiores a 4°C o a los propios ácidos gástricos del sistema digestivo de las aves (Manohar & Ramesh, 2019). Por ello se han desarrollado técnicas para incrementar la viabilidad de los bacteriófagos teniendo en cuenta que el pH óptimo para los bacteriófagos es de 7 y el pH

gástrico (en ciertos compartimentos) de los pollos es de 2,8 (Colom *et al.*, 2015). Una de estas técnicas involucra el método de la liofilización o llamado también secado al frío, esta técnica ha resultado ser muy prometedora, ya que es capaz de mantener una alta viabilidad de estos bacteriófagos (Moreno & Cab, 2023).

Por tanto, la presente investigación analiza el efecto que tiene la utilización de bacteriófagos liofilizados en la avicultura y específicamente en la crianza de pollos de engorde sobre los parámetros productivos.

2. Objetivos

2.1. General

Evaluar la efectividad de cócteles de bacteriófagos liofilizados como promotores de crecimiento tipo antibiótico en pollos de engorde sobre los parámetros productivos y morfometría intestinal.

2.2. Específicos

- Evaluar la funcionalidad como crioprotector a la Leche descremada, Gelatina y la combinación de ambos materiales para la preparación de cocteles de bacteriófagos liofilizados.
- Comparar el efecto de los cócteles de bacteriófagos liofilizados en las variables de consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, índice de productividad y mortalidad.
- Valorar la morfometría intestinal de las aves como respuesta a los cócteles de bacteriófagos utilizado en los diferentes tratamientos.

3. Revisión de Literatura

3.1. Avicultura en Ecuador

La carne es consumida cada vez más a nivel mundial, por lo que la industria agropecuaria debe estar mejorando constantemente la eficiencia en la producción animal. En avicultura, la genética y la nutrición para pollos de engorde están siendo perfeccionadas constantemente para atender esta demanda, mejorando el desempeño productivo y el peso final a sacrificio (AviNews, 2019).

El objetivo de Ecuador es proveer a su población y al mundo con proteínas de alta calidad, por lo que el país sigue trabajando en la exportación de carne de pollo. En el 2022, con 263 millones de pollos criados, el país ha producido 495 mil toneladas de carne de pollo y 3.812 millones de huevos de mesa aptos para una nutrición de alta calidad, lo que fortalece el compromiso del sector avícola con el desarrollo y la producción de carne de pollo. El sector avícola confirma datos positivos sobre la exportación de carne de pollo: de mayo a octubre de 2023 se exportaron 440 toneladas a Las Bahamas, con un total de 690 toneladas al cierre del año (CONAVE, 2023b).

De acuerdo con Espín, (2023) en Ecuador, el valor bruto de la avicultura ecuatoriana es de 2 mil millones de dólares que representa el 2% del PIB (Producto interno bruto) nacional. En tanto la participación en el PIB agropecuario es del 18%. La avicultura ecuatoriana tiene una gran importancia socioeconómica, ya que además de contribuir con la seguridad y soberanía alimentaria del país, representa una de las proteínas de mejor calidad y más accesible para la población. En 2023, la industria avícola generó 220 mil empleos directos y miles indirectos. En cuanto a la producción de carne de pollo, alcanzó las 549 mil toneladas al año y en gallinas de postura aproximadamente 14,5 millones de aves con una producción anual de 3.650 millones de huevos (CONAVE, 2023c).

3.2. Resistencia antimicrobiana

El uso inadecuado de antibióticos y quimioterapéuticos es posiblemente el factor más importante que promueve la aparición, selección y diseminación de microorganismos resistentes a los antibióticos tanto en medicina veterinaria como humana. Esta resistencia adquirida se produce no sólo en bacterias patógenas sino también en el microbioma endógeno de individuos expuestos (animales y humanos) o poblaciones (Miles et al., 2006; Boncompte et al., 2022). Los antibióticos veterinarios se han utilizado ampliamente en las

industrias ganadera, avícola y acuícola con fines de promoción del crecimiento (Jo *et al.*, 2023).

El sector avícola comprende una de las agroindustrias más grandes e importantes del sector agropecuario mundial; como en toda producción enfrenta los problemas de resistencia bacteriana a los antibióticos (Honorio *et al.*, 2021). Entre las enfermedades avícolas de origen bacteriano, la Salmonelosis es la más común e importante debido a las pérdidas económicas que genera al sector por elevadas tasas de mortalidad, baja producción y causa de zoonosis en salud pública. Otras de las enfermedades que más pérdidas económicas generan en las producciones avícolas en Estados Unidos y todo mundo son Colibacilosis, Campylobacteriosis, Clostridiosis y la Listeriosis (Yang *et al.*, 2020). Las cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) multirresistentes a antibióticos son la base para la diseminación de dicha resistencia a poblaciones completas de aves de corral (Hernández-Fillor *et al.*, 2017).

La propagación de bacterias resistentes a múltiples fármacos en animales productores de alimentos incluidos los pollos de engorde, es un problema de salud pública mundial (Samah *et al.*, 2022). Controlar el crecimiento de bacterias resistentes a múltiples fármacos y limitar la transmisión de genes de resistencia a los antimicrobianos en pollos de engorde podría ser una estrategia de mitigación eficaz. Para contrarrestar la propagación de bacterias resistentes a múltiples fármacos entre patógenos zoonóticos en animales destinados a la producción de alimentos y reducir el riesgo de su transmisión a los seres humanos o al medio ambiente, es necesario disminuir el uso de antibióticos en la cría de animales (Llagostera & Cortés, 2020; Orenga, 2021). Por lo tanto, la presión de selección de antibióticos para la resistencia de las bacterias de las aves de corral es alta y, en consecuencia, su microbiota fecal contiene una proporción relativamente alta de bacterias resistentes a antimicrobianos (Miles *et al.*, 2006; Principi *et al.*, 2019).

El uso de antibióticos en bajas dosis como promotores de crecimiento es una práctica extendida para ayudar a los animales a modular el microbioma intestinal, suprimiendo levemente las bacterias entero-patógenas (AviNews, 2019). Las bacterias resistentes pueden causar graves efectos en la salud directamente o mediante la transmisión de los rasgos de resistencia a los antibióticos a los patógenos, provocando enfermedades difíciles de tratar y que, por tanto, tienen mayores tasas de morbilidad y mortalidad (Economou & Gousia, 2015; Vallenás *et al.*, 2022).

En las aves de corral, los antibióticos utilizados con fines terapéuticos suelen administrarse a través del agua, a diferencia del uso para promover el crecimiento, en el que los antibióticos

se añaden al pienso. Los antibióticos más utilizados son las Penicilinas (Amoxicilina), Quinolonas (Enrofloxacina), Tetraciclinas (Doxiciclina, Oxitetraciclina), Macrólidos (Eritromicina, Tilosina), Aminoglucósidos, la combinación Sulfonamida/Trimetoprim, Polimixinas (Colistina) y otros antimicrobianos (Tiamulina) (Hofacre *et al.*, 2013; Apolo & Barragán, 2015; Samah *et al.*, 2022).

Casi todos los países están adoptando medidas para enfrentar este creciente problema, entre las cuales está la reducción de uso de antibióticos como promotores de crecimiento (AGP por sus siglas en inglés, antibiotics as growth promoters). En 2012, la FDA (Por sus siglas en inglés, Federal drugs administration) promovió un programa voluntario sin supervisión para reducir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en los Estados Unidos, en 2017 algunas acciones fueron promulgadas para preservar la eficacia de los tratamientos antibióticos con la prohibición de AGP. Por otra parte, el gobierno de China decidió controlar la resistencia a antibióticos en bacterias de origen animal en el 2020, implementando regulaciones estrictas en el registro, mercadeo y vigilancia de uso de estas moléculas, la reducción de AGP en planes a nivel nacional y realizando pruebas de residuos en productos de origen animal. Además, en Nueva Zelanda la asociación de veterinarios quiere eliminar completamente el uso de antibióticos a través del gerenciamiento de la salud y bienestar animal hacia el 2030 (Zuccarelli, 2020).

Para contrarrestar la resistencia antimicrobiana se han probado probióticos, bacteriófagos, inhibidores del crecimiento bacteriano, estimulantes del sistema inmunológico innato y péptidos antimicrobianos (Wang *et al.*, 2017). La terapia con bacteriófagos es una de las formas más efectivas de tratar infecciones bacterianas resistentes a los medicamentos en animales sin alterar su microbioma intestinal normal. Los bacteriófagos tienen una serie de cualidades que los convierten en agentes terapéuticos potencialmente atractivos para enfermedades bacterianas, la excelente especificidad y eficacia para lisar bacterias dañinas específicas es una de ellas (Nabil *et al.*, 2018; Rydman & Bamford, 2002).

3.3. Bacteriófagos

Los bacteriófagos o fagos se consideran una de las alternativas más prometedoras a los antibióticos debido a sus propiedades antimicrobianas naturales. Estos virus de alta especificidad que infectan bacterias tienen aplicaciones en una amplia gama de campos que incluyen la agricultura, la alimentación y la terapia humana o animal (Clark & March, 2006). Los bacteriófagos son un tipo de virus que infectan únicamente a las bacterias. Esta

característica hace de ellos una herramienta muy eficaz como terapia dirigida para el control de microorganismos resistentes a los antibióticos o desinfectantes (Boncompte *et al.*, 2022).

La terapia con bacteriófagos se acepta cada vez más como una estrategia de intervención antimicrobiana respetuosa con el medio ambiente, eficaz para atacar específicamente patógenos bacterianos, para prevenir la transmisión de bacterias resistentes de los alimentos a los humanos y viceversa (Orenga, 2021). Se han reportado algunas aplicaciones exitosas, incluyendo el tratamiento de infecciones de *E. coli* en terneros, cerdos, corderos y aves de corral (Barrow *et al.*, 1998; Huff *et al.*, 2003; Clark & March, 2006).

A pesar de algunos intentos exitosos, la terapia con bacteriófagos en veterinaria ha presentado resultados variables. Estas disparidades se deben en parte a las graves condiciones fisicoquímicas que encuentran los bacteriófagos en su camino a través del sistema digestivo y en el lugar de la infección (Joerger, 2003; Jończyk *et al.*, 2011). De hecho, se ha demostrado que la viabilidad y supervivencia de los bacteriófagos se ven afectadas por factores como la acidez y la temperatura, que provocan modificaciones en los componentes estructurales y los ácidos nucleicos de los bacteriófagos (Ackermann *et al.*, 2004).

En cuanto a la administración, los bacteriófagos, sobre los antibióticos, estos se multiplican de manera logarítmica, de ahí que necesitarían menor número de aplicaciones, reduciendo, de esta forma el periodo de tratamiento (Principi *et al.*, 2019).

3.4. Efecto de los bacteriófagos sobre los parámetros productivos

Los cocteles de bacteriófagos han mostrado efectos positivos sobre los parámetros productivos en pollos de engorde y gallinas de postura. Se puede decir que los bacteriófagos influyen indirectamente sobre los parámetros productivos al reducir las bacterias potencialmente patógenas y favorecen a la multiplicación de las bacterias benéficas, lo que resulta en un mejor aprovechamiento de los nutrientes. Los bacteriófagos pueden ser utilizados como promotores de crecimiento en los momentos críticos como el despiece, vacunación y traslado, evitando el aumento de bacterias potencialmente patógenas, que afectan negativamente los parámetros productivos (Honorio *et al.*, 2021).

3.5. Administración vía oral de bacteriófagos

Las preparaciones a base de bacteriófagos destinada al uso en aves de corral, en la producción y en la industria avícola debe ser segura y eficaz. La dosis y la vía de administración el momento de la administración de los productos a base de bacteriófagos, así

como el uso concomitante de otras preparaciones o vacunaciones también son de suma importancia (Żbikowska *et al.*, 2020).

La vía oral es la más práctica y rentable en crianza comercial, ya que permite realizar tratamientos en grandes cantidades de aves con menos tiempo y recursos, mediante el agua o alimento (Moreno *et al.*, 2024). Se demostró que los bacteriófagos agregados tanto en el agua como en el alimento llegan a los distintos órganos internos afectados por las bacterias (Hong *et al.*, 2013; Seo *et al.*, 2018). Los efectos de la fagoterapia son dependientes de la concentración, cantidad de dosis y la duración del tratamiento, justificando de esta manera la utilización de los bacteriófagos en crianza comercial ya que reducen la mortalidad y el estrés en las aves (Honorio *et al.*, 2021). Se han intentado estrategias como la encapsulación con relativo éxito, pero suelen ser complejas y requieren varios pasos de optimización (Nobrega *et al.*, 2016).

Los bacteriófagos administrados por vía oral para controlar patógenos zoonóticos enfrentan desafíos importantes, estos están relacionados con las condiciones hostiles que se encuentran en el tracto gastrointestinal de las aves, como la temperatura, salinidad y principalmente pH, que es muy bajo en ciertos compartimentos. La supervivencia de los bacteriófagos en estas condiciones puede verse comprometida e intervenir en el tratamiento (Nobrega *et al.*, 2016).

En la investigación de Colom *et al.*, (2015), demostró que el pH gástrico de los pollos es aproximadamente 2,8, siendo el pH 7 el óptimo para estos virus, con una reducción de títulos de bacteriófagos a medida que disminuye el pH es decir no resisten a medios muy ácidos ($\text{pH}<3$). Es natural que muchos se pierdan en ese tramo del tracto digestivo y es necesario protegerlos (Kaikabo *et al.*, 2017; Tie *et al.*, 2018).

3.6. Liofilización

La interrupción del crecimiento microbiano es un principio fundamental de la liofilización, donde prevalece la viabilidad y estabilidad genética del cultivo durante un período prolongado. Debido a que no requiere un suministro constante de Nitrógeno líquido o eléctrico, este método es mejor que otras técnicas como la criopreservación (Santelices & Castro, 2019).

En el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. dentro del grupo de Nanotecnología y Biocontrol Microbiano, se están desarrollando técnicas para incrementar la viabilidad y vida de los bacteriófagos. Una de estas técnicas involucra un método de liofilización o secado en frío, utilizando sistemas poliméricos biocompatibles y biodegradables

como agentes aditivos protectores. Esta técnica resulta prometedora, porque es capaz de incrementar la vida de anaquel de bacteriófagos hasta por dos meses, lo cual es de importancia en la salud humana y animal (Moreno & Cab, 2023).

Este proceso consta principalmente de dos etapas. la primera, la biomolécula de interés es congelada junto con algún aditivo protector, mientras que, en la segunda, mediante el uso de un liofilizador, la muestra es sometida a alto vacío y el agua congelada es removida por sublimación sin pasar por estado líquido, quedando únicamente la muestra de interés y el aditivo protector en una matriz compacta seca (Manohar & Ramesh, 2019).

Una vez liofilizado el inóculo de bacteriófagos junto con un aditivo protector, está listo para poder ser agregado al alimento o agua de bebida de manera práctica y efectiva. Asegurando así una mayor concentración de bacteriófagos íntegros al interior de los organismos tratados, aumentando su efectividad ante una posible infección bacteriana (Moreno *et al.*, 2024).

La liofilización tiene muchos beneficios sobre la criopreservación. Por ejemplo, tiene un bajo costo de mantenimiento porque los microorganismos congelados se mantienen en viales o ampollas de vidrio, que a su vez se almacenan en gavetas sin necesidad de energía eléctrica. Estos viales o ampollas de vidrio son el método ideal para enviar muestras a terceros porque son de tamaño pequeño y fáciles de distribuir. Una ventaja de la criopreservación es que el material requiere ser cultivado antes de despacharlo, mientras que el microorganismo no requiere ser cultivado antes de despacharlo (John & Glyn, 2007; Ávila *et al.*, 2015).

3.6.1. Agentes aditivos protectores utilizados en la liofilización para mejorar la viabilidad de bacteriófagos

El principal objetivo de utilizar aditivos protectores para la liofilización es crear una capa alrededor de los bacteriófagos para no dejarlos expuestos al medio externo e incrementar su viabilidad (Malenovská, 2014; Zhang *et al.*, 2018). Los aditivos protectores más utilizados incluyen biopolímeros como la Gelatina, Alginato y azúcares, como la Lactosa y Trehalosa, los cuales comparten características únicas que incluyen biocompatibilidad, biodegradabilidad, nula toxicidad y alta estabilidad estructural, que permiten transportar a los bacteriófagos en diferentes fluidos biológicos con mínimo deterioro (Rosner *et al.*, 2021).

Investigaciones anteriores demostraron que el uso de Leche desnatada, Gelatina, Peptona, Glutamato de sodio, Polietilenglicol, Glicerol y otros azúcares como Manitol, Sacarosa y Trehalosa son excipientes eficaces para la liofilización de bacteriófagos (Puapermpoonsiri *et al.*, 2010). Los azúcares se consideran buenos excipientes para la liofilización de

bacteriófagos porque pueden estabilizar los bacteriófagos durante el proceso de liofilización y también ayudan en el almacenamiento en estantería de los productos de bacteriófagos (Manohar & Ramesh, 2019).

La Leche en polvo descremada es un lioprotector popular porque previene el daño celular estabilizando los componentes de la membrana, proporcionando una capa protectora a las células que inhibe la formación de cristales gracias a su contenido de proteínas y creando poros en la estructura del producto liofilizado, lo que facilita la rehidratación. A su vez, tiene la ventaja de ser un lioprotector económico y fácil de obtener (Grauer et al., 2015; Quintero et al., 2023).

La Gelatina o Hidrolizado de colágeno, es un hidrocoloide que se utiliza como agente gelificante. Está compuesto por proteína derivada de hueso o piel y se obtiene por hidrólisis parcial del Colágeno, tanto de ganado vacuno como ganado porcino. Se lo utiliza como agente gelificante y fuente de proteínas. La Gelatina además tiene un alto poder de reticulación por la presencia de grupos amino primarios que durante los procesos de congelación protege a los bacteriófagos del estrés mecánico (González, 2020; Zimmermann, 2020).

3.7. Consumo de agua en pollos

Una forma de evaluar el desempeño de la parvada es medir el consumo de agua de los pollos. El consumo de agua y alimento de los pollos aumenta constantemente a medida que envejece la parvada; este consumo es aproximadamente 1,6 a 2,0 veces mayor (Watkins & G.T., 2010). La gran representatividad de este elemento en los diferentes tejidos animales puede explicar el consumo de agua que es necesario para realizar las funciones vitales del organismo (Rubio, 2005).

Tabla 1. Consumo diario de agua en pollos en 12 parvadas en la Granja de Investigación Aplicada de Pollos

Galones por 1000 aves												
Edad (días)	Uso mín.	Uso máx.	Uso prom.	Edad (días)	Uso mín.	Uso máx.	Uso prom.	Edad (días)	Uso mín.	Uso máx.	Uso prom.	
1	0	0	0	19	34,75	51,78	43,07	37	55,57	87,49	74,45	
2	3,8	7,80	6,36	20	37,22	54,59	44,08	38	56,54	92,33	77,16	
3	5,59	11,27	7,7	21	38,7	56,07	46,19	39	61,99	91,80	78,69	
4	9,39	14,17	10,98	22	35,57	54,71	47,23	40	67,15	95,99	78,92	
5	10,7	16,66	12,84	23	39,07	59,43	49,63	41	65,14	99,26	80,83	
6	11,9	16,95	10,04	24	37,96	62,89	53,28	42	66,24	96,43	82,32	
7	13,34	19,36	16,96	25	43,26	65,58	64,58	43	68,97	92,61	81,01	
8	14,46	21,66	17,69	26	42,29	64,76	64,34	44	65,63	90,7	80,19	
9	12,66	23,17	19,51	27	46,33	69,41	67,56	45	69,37	91,83	81,18	
10	19,39	29,16	22,64	28	49,06	71,73	59,96	46	66,19	97,36	83,39	
11	19,38	30,08	25,71	29	53,33	76,82	63,08	47	69,00	91,2	81,76	
12	23,01	31,4	27,83	30	52,94	76,83	63,08	48	71,72	97	82,26	
13	26,04	36,33	30,19	31	47,83	79,26	65,66	49	67,22	97,7	85,9	
14	28,39	37,94	32,78	32	66,16	78,76	68,29	50	72,72	93,16	86,41	
15	29,92	40,64	34,78	33	59,55	84,47	70,1	51	77,05	99,95	85,29	
16	29,71	40,64	36,71	34	65,33	88,12	70,22	52	74,86	98,08	86,69	
17	30,66	46,14	38,94	35	69,12	85,49	72,59	53	76,08	96,19	87,82	
18	32,61	49,07	41,30	36	66,15	87,38	73,21	54	76,45	98,83	87,6	

Fuente: El Sitio Avícola mayor (Watkins & G.T., 2010).

Czarick & Fairchild (2020), demostraron que el consumo de agua está muy relacionado con el consumo de alimento. Entre los factores que intervienen en el consumo de agua está la edad, el sexo, la temperatura medioambiental y la composición nutricional del alimento. La ingesta de agua está íntimamente relacionada al consumo de pienso y a la edad del ave (Kirkpatrick & Fleming, 2008).

El sexo del ave también influye en su consumo de agua. Desde la primera semana de vida, los machos consumen más agua que las hembras. La proporción agua y pienso es también mayor en los machos que en las hembras. Las diferencias en el consumo de agua entre los sexos se deben a variaciones en el tejido adiposo (las hembras tienen más grasa que los machos y la grasa tiene un menor contenido de agua que la proteína) (Kirkpatrick & Fleming, 2008).

La temperatura ambiental tiene un impacto significativo en el consumo de agua. A una temperatura de 21°C en bebederos de campana, el consumo de agua de los pollos es aproximadamente el doble que el de pienso. La evaporación de agua a través del sistema respiratorio durante el jadeo es una de las principales formas en que las aves regulan su temperatura corporal. Sin embargo, las aves que experimentan estrés de calor aumentarán

su consumo. Por encima de 21°C, la ingesta de agua del ave aumenta de 6 a 7% por cada grado Centígrado (NRC, 1994; Fairchild & Ritz, 2009).

Cualquier nutriente en la composición del alimento que aumente la excreción mineral por los riñones también aumenta el consumo de agua. El consumo de agua aumenta con más proteínas en la dieta, lo que aumenta la relación agua/alimento. El consumo de agua aumenta cuando hay más sal en la dieta y alimentos ricos en Potasio como la Soya y la Melaza (Chango, 2015).

4. Materiales y Métodos

4.1. Área de estudio

El trabajo de campo consistió en el empleo del coctel de bacteriófagos como promotor de crecimiento. El experimento se realizó en la granja comercial AVICOLAS SANTA ROSITA, localizada en la parroquia Sinincay del cantón Cuenca provincia del Azuay.



Figura 1. Mapa satelital, ubicación geografía granja comercial AVICOLAS SANTA ROSITA, Parroquia Sinincay.

Fuente: Google maps 2024.

4.2. Diseño experimental

Para la investigación se empleó 288 pollitos Cobb 500 mixtos de 1 día de edad con un peso promedio de 53,5 g, fueron distribuidos aleatoriamente en 32 jaulas experimentales con 9 pollitos cada una. Los tratamientos fueron: T1 Dieta Base más placebo (Gelatina más Leche descremada), T2 Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada, T3 Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina y T4 Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina. La dosis de bacteriófagos administrada en el agua de bebida tuvo una concentración de 1×10^4 UFP (Unidades formadoras de placas líticas)/ml. Cada semana se evaluó consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia, mortalidad y al final de la crianza se valoró la morfometría intestinal.

Todos los pollitos recibieron alimento *ad libitum* durante la primera semana, además se administró vacunas y vitaminas (Figura 13). La temperatura inicial para la crianza fue de 33°C durante la primera semana, misma que se fue disminuyendo semanalmente (-3°C) hasta llegar a una temperatura ambiente; además las aves tuvieron una ventilación adecuada durante todo el proceso de crianza. El estudio tuvo una duración de 49 días.

4.3. Actividades experimentales

4.3.1. Actividades de laboratorio

El trabajo de laboratorio consistió en la obtención y preparación de los cócteles de bacteriófagos con los diferentes crioprotectores (vehículos) se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca. Se replicaron procesos elaborados en investigaciones previas como: la preparación del inóculo en la que se utilizó bacterias del género *E. coli* (Pérez & Astudillo, 2020); la preparación de inóculos con concentrado de bacteriófagos recuperados (Gómez & Paccha, 2022). De estos inóculos se utilizaron para esta investigación cuatro bacteriófagos (vB-Eco_122, vB-Eco_133, vB-Eco_211, vB-Eco_441) que fueron congelados y liofilizados en presencia de Leche descremada, Gelatina y la mezcla de ambas sustancias para favorecer la viabilidad de las partículas virales a fin de evaluar la utilidad de los cócteles como promotores de crecimiento.

4.3.1.1. Preparación de inóculo

Preparar soluciones con bacteriófagos, congelarlos y liofilizarlos

Materiales de laboratorio y equipos: platina de agitación, pipetas, vortex, viales de vidrio de 5ml y de 30ml, autoclave.

Materiales químicos: Agua destilada, Leche descremada en polvo, Gelatina, solución Buffer.

Materiales biológicos: Concentración de bacteriófagos recuperados (Gómez & Paccha, 2022).

Procedimiento para la realizar la titulación de bacteriófagos

Paso 1. En la platina de agitación se mezcló a 800 r.p.m. 60 ml de agua destilada con 2 g de Leche en polvo hasta que se diluya y se fue añadiendo 10 veces la solución Buffer. La solución se ajustó con 40 ml de agua destilada para tener un volumen de 100 ml.

Paso 2. Se realizó el mismo procedimiento con 2 g de Gelatina y de igual manera para la mezcla de 1 g de Leche y 1 g de Gelatina.

Paso 3. Después se tomó el volumen respectivo de los cuatro bacteriófagos, se agitó en el vortex y fueron inoculados en las soluciones preparadas (Leche, Gelatina y Leche/Gelatina).

Paso 4. De esta preparación se tomó 1 ml y se colocó en los viales de vidrio de 5 ml anteriormente rotulados para finalmente proceder a la liofilización. Adicional se colocó 30 ml de agua destilada en los envases de vidrio más grandes, para después ser esterilizados en el autoclave.

Paso 5. El proceso de liofilización se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad del Azuay (UDA), dicho procedimiento duró aproximadamente 12 horas. Obteniendo de esta manera los viales con el liofilizado de los cocteles bacteriófagos, estos se conservaron a una temperatura de -80 °C, mismos que estuvieron listos para la administración en la fase de campo.

4.3.2. Actividades de campo

4.3.2.1. Actividad N°1: Preparación del galpón

Materiales y equipos: Planchas MDF, tiras de madera, cortinas, bebederos, comederos, bandejas de iniciación, tamo de arroz, criadoras, cilindros de gas.

Materiales químicos: Formaldehido, Cal, Yodo.

Procedimiento para la preparación del galpón previo a la recepción de los pollitos.

Paso 1. Tras el tiempo de vacío sanitario (15 días), se realizó el aseo y desinfección del galpón y de los materiales a utilizar como cortinas internas y externas, bebederos, comederos y bandejas.

Paso 2. Se armó las unidades experimentales con las planchas de MDF con una dimensión de 0,80 m de alto por 1,00 m de ancho y se identificó.

Paso 3. Se colocaron las cortinas internas y externas y se instalaron las criadoras con los cilindros de gas.

Paso 4. En cada unidad experimental se colocó cal, tamo de arroz (10 cm de altura), un bebedero y comedero. Quedando listo el galpón para la recepción de los pollitos.

4.3.2.2. Actividad N°2: Recepción de pollitos bebés

Materiales y equipos: unidades experimentales, balanza, termómetro y registros.

Materiales químicos: Cal.

Materiales biológicos: pollitos bebes Cobb 500.

Procedimiento para la recepción de pollitos bebes

Paso 1. Los pollitos al llegar fueron pesados y analizados físicamente mediante el test de Score de Pasgar, teniendo respuesta óptima a todos los parámetros.

Paso 2. En cada unidad experimental fueron colocados al azar 9 pollitos, teniendo en total 32 unidades experimentales.

Paso 3. Durante la primera semana se administró alimento *ad libitum*, hubo control de iluminación, temperatura y ventilación.

Paso 4. Se estableció un calendario de vacunación, las vacunas administradas fueron Newcastle más bronquitis al día 8, Gumboro al día 15 y refuerzo de Newcastle más bronquitis al día 21 (Figura 13).

Paso 5. Se administró vitaminas y minerales a la recepción y posvacunal (Figura 13).

4.3.2.3. Actividad N°3: Administración de bacteriófagos liofilizados en agua

Materiales y equipos: unidades experimentales, balanza, registros, jeringas.

Materiales químicos: cal, hipoclorito de sodio, agua destilada

Materiales biológicos: pollitos bebes, bacteriófagos liofilizados.

Procedimiento para la administración de bacteriófagos en agua de bebida

Paso 1. Se restringió el consumo de agua durante dos horas previo a la administración de los bacteriófagos.

Paso 2. Los viales conservados en ultracongelación en el laboratorio de Biología Molecular de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca fueron transportados al galpón tomando en cuenta las medidas de bioseguridad.

Paso 3. En el galpón cada vial que contenía el coctel de bacteriófagos fue diluido con 1 ml de agua destilada, esta solución abastecía a 5 litros de agua para tener una concentración final de 1×10^4 UFP/ml.

Paso 4. De los 5 litros preparados se midió la cantidad de agua a administrar para cada unidad experimental según la tabla de consumo de alimento y agua (en una relación 1:2). Se tomó

en cuenta el respectivo tratamiento para administrar el bacteriófago con el vehículo correspondiente.

La administración se realizó dos días a la semana, especialmente después de situaciones de estrés como la recepción, pesaje y vacunación.

4.3.2.4. Actividad N°4: Pesaje y vacunación de pollos

Materiales y equipos: unidades experimentales, balanza, registros.

Materiales químicos: Cal, Vacuna de Newcastle más Bronquitis, Vacuna de Gumboro.

Materiales biológicos: pollitos Cobb 500.

Procedimiento para el pesaje y vacunación de los pollitos, y obtención de datos de parámetros productivos

Paso 1. La vacunación se realizó vía oculonasal al día 8 (Newcastle más Bronquitis), día 15 (Gumboro), día 21 (revacunación de Newcastle más Bronquitis).

Paso 2. Se realizó el pesaje semanal individual del pollito de cada unidad experimental hasta cumplir las 7 semanas de crianza, el peso fue registrado en gramos/animal.

Paso 3. Para el consumo de alimento (g/ave), se registró el peso del alimento ofrecido para la semana menos el peso del alimento sobrante.

Paso 4. Para la ganancia de peso (g/ave), se registró el peso final del ave en pie menos el peso inicial para el número de días de crianza. Los pesos fueron registrados desde el día 1 del estudio, semanalmente hasta el final de la crianza.

Paso 5. Para el índice de conversión alimenticia se registró el consumo de alimento por ave en kg para el peso actual del ave en kg.

Paso 6. Para la mortalidad (%) se registró el número de aves muertas por cien para el número de aves iniciales.

Paso 7. La morfometría intestinal se realizó al finalizar la crianza, se sacrificó un pollo de cada repetición, de los cuales se tomó una muestra del segmento del duodeno misma que se envió al laboratorio de patología para su respectivo análisis (altura de vellosidades y profundidad de cripta en um), además se midió la longitud del intestino en cm y se pesó la molleja y proventrículo en g.

5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se usó un Diseño en Bloques Completos al Azar con el uso del factor principal Tratamientos en 4 niveles y como variable de control local las repeticiones siendo en total 8. En cada variable evaluada, se determinaron los residuos del modelo, los mismos que sirvieron para calcular el test de normalidad (*Shapiro Wilks test*), que en caso de no ser significativo se estableció el uso de una prueba paramétrica ($p > 0,01$). En general, cuando la prueba de normalidad resultó significativa ($p < 0,01$), se usaron los resultados del ANOVA no paramétrico (*Kruskal Wallis test*) al mismo nivel de significancia ($\alpha = 0,05$). Por otro lado, cuando se encontró significancias estadísticas en los análisis de varianza, se determinaron pruebas pos hoc tanto en el ANOVA paramétrico (*Duncan test*) y no paramétrico (*Rank test*).

6. Resultados y discusión

6.1. Peso corporal

En la variable peso promedio a los 21 días y peso promedio a los 49 días no hubo significancia estadística ($p > 0,05$) (Tabla 2), los datos en esta investigación demostraron valores ligeramente mayores en la variable peso promedio a los 49 días para el T4 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina) siendo 3089,4 g mayor en comparación con los demás tratamientos, lo que coincide con Aguilar et al., (2023) en su investigación “Efecto de la aplicación de colífagos en el control de *Escherichia coli* en pollos de engorde” donde revelan datos numéricos que demuestran que el peso de las aves fue levemente mayor cuando se emplearon bacteriófagos. Por otro lado Ortiz et al., (2017) en su experimento demuestran que, en sus diferentes tratamientos tanto por vía oral como por vía intramuscular, el uso de bacteriófagos no afectó el peso final de las aves. Finalmente, Honorio et al., (2021) menciona que los bacteriófagos no solo se han utilizado para proteger de enfermedades a los animales, sino también han jugado un papel fundamental en la tasa de crecimiento y eficiencia alimenticia.

Tabla 2. Peso promedio en dos períodos de tiempo (21 y 49 días)

Edad (días)	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Peso Promedio 21 días (g) ave/tx	725,0 (10,11)	727,6 (7,87)	735,8 (13,56)	728,2 (7,85)
Peso Promedio 49 días (g) ave/tx	2.980,2 (32,69)	3.070,9 (53,96)	3.017,3 (22,10)	3.089,4 (37,23)

T1 = Dieta Base más placebo; T2 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada; T3 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina; T4 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina

6.2. Consumo alimento

El análisis estadístico en las variables consumo y consumo promedio a los 21 días (Tabla 3) mostró significancia estadística ($p < 0,05$), en donde T4 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina) presentó un consumo de 1.0418,8 g por repetición y de 1.111,1 g en el consumo promedio por ave, siendo mayor en comparación con los demás tratamientos, lo que difiere con Anh et al., (2022) que reportó en su estudio en el cual las aves

del grupo control (1 a 35 días), es decir, las aves que dentro de su composición dietaria no tenía bacteriófagos, obtuvieron un mayor consumo. Por otro lado, en las variables Consumo y Consumo Promedio a los 49 días, no hubo significancia estadística ($p > 0,05$), lo que coincide con Upadhaya *et al.*, (2021) que en su investigación obtuvieron resultados similares a los expresados en este experimento, ya que estos autores demostraron que la adición de bacteriófagos no tuvo efectos sobre el consumo de alimento. Finalmente, Aguilar *et al.*, (2023) en su investigación también corroboraron que no existe diferencia estadística significativa para el consumo de alimento.

Tabla 3. Consumo promedio en dos períodos de tiempo (21 y 49 días)

	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Consumo 21 días (g) rep/tx	10.075ab (203,32)	9.881,3a (247,84)	9.875a (201,56)	10.418,8b (283,31)
Consumo 49 días (g) rep/tx	49.537,5 (926,53)	48.050,0 (1207,01)	47.437,5 (877,89)	49.350,0 (696,03)
Consumo promedio 21 días (g) ave/tx	1.074,7ab (6,56)	1.085,4ab (16,66)	1.067,6a (11,63)	1.111,1b (19,81)
Consumo promedio 49 días (g) ave/tx	5.286,5 (54,98)	5.279,0 (94,40)	5.129,1 (43,42)	5.268,7 (47,30)

T1 = Dieta Base más placebo; T2 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada; T3 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina; T4 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según *Test de Duncan*.

6.3. Ganancia de peso e índice de conversión

Para la ganancia de peso (Tabla 4), no hubo significancia estadística ($p > 0,05$) en la comparación entre los tratamientos, sin embargo, en los dos períodos de tiempo T2 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Leche), T3 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Gelatina) y T4 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina) destacan con un valor ligeramente mayor en comparación con T1(Dieta base + placebo); en donde T2 mostró una ganancia de peso de 674,1 g a los 21 días y de 3.017,4 a los 49 días, T3 mostró una ganancia de peso de 682,3 g a los 21 días y de 2.963,8 g a los 49 días y el T4 mostró una ganancia de peso de 674,7 g a los 21 días y de 3.035,9 g a los 49 días. Lo que

concuerda con Kim *et al.*, (2014) que en su estudio establecieron que la ganancia de peso de las aves con dietas complementadas con bacteriófagos no obtuvo diferencias estadísticas a comparación con los otros tratamientos que no tenían dentro de su plan dietario bacteriófagos. Sin embargo, los resultados expuestos por Anh *et al.*, (2022) mostraron que la ganancia de peso fue mayor en los pollos tratados con bacteriófagos a los 35 días de crecimiento y mantuvo esa tendencia durante todo el periodo de crianza. Por otro lado, Upadhyaya *et al.*, (2021) también demostraron que la ganancia de peso fue directamente proporcional al consumo de bacteriófagos añadidos en las dietas. Confirmando de esta manera que los tratamientos donde se aplicaron bacteriófagos son los que muestran valores más altos en la variable ganancia de peso en comparación con el grupo control.

Tabla 4. Ganancia de peso en dos periodos de tiempo (21 y 49 días)

		Tratamientos*			
		T1	T2	T3	T4
		Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Ganancia peso 21 días	media	671,5 (10,11)	674,1 (7,87)	682,3 (13,56)	674,7 (7,85)
Ganancia peso 49 días	media	2.926,7 (32,69)	3.017,4 (53,96)	2.963,8 (22,10)	3.035,9 (37,23)

T1 = Dieta Base más placebo; T2 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada; T3 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina; T4 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según *Test de Duncan*.

Para el índice de conversión tanto para los 21 y 49 días el análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p < 0,05$). Siendo el índice de conversión alimenticia la cantidad de alimento transformado (en gramos) a peso vivo (en gramos), en donde la cantidad de alimento transformado debe ser lo menor posible para obtener el mayor rendimiento del producto. En esta investigación en el caso del Índice de conversión a los 21 días (Tabla 5), el T3 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Gelatina) mostró el mejor índice de conversión en comparación con los demás tratamientos. Por otro lado, para el Índice de conversión a los 49 días, los tratamientos T2, T3 y T4 mostraron un mejor índice de conversión en comparación con T1 (Dieta base + placebo), lo cual demostró que los mejores índices de conversión a los 49 días fueron para los tratamientos en donde se administraron bacteriófagos. Estos datos no coinciden con Aguilar *et al.*, (2023), que en su estudio los resultados no mostraron

diferencia significativa para la variable índice de conversión. Por otro lado Anh *et al.*, (2022), en su estudio “Application of phages to control *Escherichia coli* infections in native Noi chickens” demostró que las aves que recibieron bacteriófagos sin desafío fueron las que tuvieron el mejor índice de conversión en comparación con el grupo control negativo que no recibieron bacteriófagos en un periodo de 1 a 35 días, lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación.

Tabla 5. Índice de conversión en dos periodos temporales (21 y 49 días)

	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Índice de Conversión 21 días	1,48ab (0,02)	1,49ab (0,01)	1,45a (0,02)	1,52b (0,02)
Índice de Conversión 49 días	1,8b (0,01)	1,72a (0,03)	1,7a (0,02)	1,71a (0,01)

T1 = Dieta Base más placebo; T2 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada; T3 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina; T4 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según *Test de Duncan*.

6.4. Mortalidad

Para la variable Mortalidad (Tabla 6), no hubo significancia estadística ($p > 0,05$) entre los tratamientos, sin embargo, la mortalidad existente en esta investigación es consecuencia de factores externos. Por otro lado, en el trabajo realizado por Aguilar *et al.*, (2023) en donde se evaluó el “Efecto de la aplicación de colífagos en el control de *Escherichia coli* en pollos de engorde” demostraron la efectividad de los bacteriófagos ya que en los grupos en donde se aplicaron colífagos fueron los que tuvieron menor mortalidad, coincidiendo con Gohary *et al.*, (2014) que en su estudio reveló que la mortalidad fue baja cuando se usan bacteriófagos en combinación con antibióticos. Además, Oliveira *et al.*, (2010) demostró en su estudio una disminución del 25 y 43 % de mortalidad y morbilidad en pollos cuando se usaron dosis de cocteles de bacteriófagos de 10^9 UFP/ml de phi F78E por vía oral. Finalmente, Mohammad *et al.*, (2019) sugiere en su estudio que el uso de un solo bacteriófago, como el empleo de un coctel de bacteriófagos infectadas con *E. coli* presentaron una mortalidad más baja en comparación con aves infectadas que no recibieron fagos en sus dietas.

Tabla 6. Mortalidad en dos periodos temporales (21 y 49 días)

	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Mortalidad 21 días (%)	0% (---)	2,8% (1,8%)	1,25% (1,25%)	0% (---)
Mortalidad 49 días (%)	0% (---)	2,8% (1,8%)	1,25% (1,25%)	1,25% (1,25%)

T1 = Dieta Base más placebo; T2 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada; T3 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Gelatina; T4 = Dieta base más bacteriófagos en vehículo de Leche descremada y Gelatina

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según *Test de Duncan*.

6.5. Peso de molleja y proventrículo y longitud de intestino

Para la variable Peso de molleja y proventrículo (Tabla 7), no hubo significancia estadística ($p > 0,05$). Mientras que en el longitud del intestino T3 (Dieta base + bacteriófagos en vehículo de Gelatina) indicó un mayor promedio ($232,4 \pm 4,92$), comparado con el Tratamiento 2, en la investigación realizada por Upadhyaya *et al.*, (2021) concluyen que la inclusión de bacteriófagos al 0,05 % fue directamente proporcional al desarrollo de la bolsa de Fabricio, el bazo y además aumentó el peso relativo en molleja, también reportaron que las características del intestino fueron mejores cuando se usan bacteriófagos.

Tabla 7. Peso de molleja y longitud del intestino

	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Peso molleja y proventrículo (g)	70 (2,25)	67,1 (1,90)	71,6 (1,41)	67,8 (2,68)
Longitud intestinal (cm)	220,3ab (5,21)	215,a (4,69)	232,4b (4,92)	220,9ab (3,28)

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según *Test de Duncan*.

6.6. Morfometría intestinal

Para las variables Longitud de vellosidades y Profundidad de cripta (Tabla 8), no se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0,05$), lo que nos lleva a confirmar que no hubo cambios morfológicos tras la administración de bacteriófagos en los diferentes tratamientos

de esta investigación, coincidiendo con Araújo *et al.*, (2022) que evaluaron en su investigación el intestino de forma histomorfológica (Íleon y Ciego), en donde valoraron parámetros como la altura de las vellosidades del Íleon y la profundidad de las criptas de Íleon y el Ciego y concluyeron que no hubo cambios morfológicos. Por su parte Burel, (2012) señala que la adición de bacteriófagos en la dieta influye sobre el sistema inmunológico intestinal y por ende sobre la salud general de las aves, proporcionando un mejor desarrollo y conservación del intestino en general.

Tabla 8. Longitud de vellosidades y profundidad de criptas

	Tratamientos*			
	T1	T2	T3	T4
	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)	Media (EE)
Longitud vellosidades (micrómetros)	526,02 (40,50)	542,62 (21,18)	538,28 (33,14)	552,60 (28,72)
Profundidad criptas (micrómetros)	44,45 (2,57)	41,91 (2,07)	39,79 (1,83)	41,52 (1,32)

* Letras diferentes (a, b) determinaron significancias estadísticas ($p < 0,05$), según Test de Duncan.

6.7. Grado y tipo de inflamación

Como dato adicional para esta investigación se valoró la salud e integridad intestinal, esto se realizó con la valoración histológica para determinar el grado de inflamación, utilizando un score (0 a 3) acorde al grado de afectación y presencia de linfocitos y células plasmáticas (Tabla 9). Tras el análisis histopatológico se determinó que T1 (Dieta base + placebo) presentó en todos sus grupos una inflamación entre leve y moderada de tipo linfoplasmocítica. Por otro lado, los tratamientos T2, T3 y T4 en los cuales se administró bacteriófago mostraron grupos con menor inflamación leve e incluso en algunos grupos no hubo presencia de inflamación, lo cual coincide con la investigación de Araújo *et al.*, (2022) en donde se concluye que la presencia del fago M13 no resultó en lesiones intestinales y no tuvo impacto en la salud intestinal de las aves.

La identificación de focos inflamatorios es uno de los indicadores utilizados para evaluar la integridad intestinal. Según Apolo *et al.*, (2021) el intestino debe funcionar al máximo para impulsar el crecimiento de las aves, metabolizar los alimentos y controlar la respuesta inmunitaria. La inflamación intestinal es una respuesta genérica de la inmunidad innata que

protege al huésped de estímulos nocivos. No solo los patógenos infecciosos causan la inflamación, además de las inflamaciones bacterianas agudas, existe un tipo de inflamación estéril o crónica no infecciosa causada por la presencia de factores antinutricionales en el alimento de las aves (Kogut et al., 2018; Blanch, 2021).

Tabla 9. Score realizado para determinar el grado y tipo de inflamación mediante un análisis histológico del Duodeno

Tratamiento-repetición	Inflamación Presencia o ausencia	Tipo de inflamación	Tratamiento-repetición	Inflamación Presencia o ausencia	Tipo de inflamación
T1R1	1	Linfoplasmocítica	T3R1	0	NA
T1R2	1	Linfoplasmocítica	T3R2	1	Linfoplasmocítica
T1R3	1	Linfoplasmocítica	T3R3	0	NA
T1R4	1	Linfoplasmocítica	T3R4	1	Linfoplasmocítica
T1R5	1	Linfoplasmocítica	T3R5	1	Linfoplasmocítica
T1R6	1	Linfoplasmocítica	T3R6	2	Linfoplasmocítica
T1R7	2	Linfoplasmocítica	T3R7	1	Linfoplasmocítica
T1R8	1	Linfoplasmocítica	T3R8	0	NA
T2R1	1	Linfoplasmocítica	T4R1	1	Linfoplasmocítica
T2R2	1	Linfoplasmocítica	T4R2	0	NA
T2R3	2	Linfoplasmocítica	T4R3	0	NA
T2R4	0	NA	T4R4	1	Linfoplasmocítica
T2R5	1	Linfoplasmocítica	T4R5	0	NA
T2R6	1	Linfoplasmocítica	T4R6	2	Linfoplasmocítica
T2R7	0	NA	T4R7	0	NA
T2R8	0	NA	T4R8	2	Linfoplasmocítica

Códigos para determinar el grado de inflamación: ausencia (0), leve (1), moderada (2), severa (3), ausencia de lesiones (NA).

7. Conclusiones

- Este estudio determinó que los crioprotectores utilizados (Leche descremada, Gelatina y la combinación de ambos vehículos) para la preparación de cocteles de bacteriófagos liofilizados tuvieron una funcionalidad positiva frente a la administración vía oral en pollos de engorde como promotores de crecimiento.
- La administración en los diferentes tratamientos de los cocteles bacteriófagos en pollos de engorde mediante el agua de bebida demostró tener mejores resultados en cuanto a los parámetros consumo de alimento, peso corporal e índice de conversión alimenticia frente al tratamiento control.
- La adición de bacteriófagos en la dieta determinó que el grado de inflamación para los tratamientos 2, 3 y 4 en los cuales se administró bacteriófagos mostraron menor grado de inflamación además no presentaron alteración en su morfometría intestinal en comparación con el grupo control, proporcionando de esta manera una mejor salud e integridad intestinal en las aves, permitiendo que el desarrollo sea mejor y así obtener un buen rendimiento en los parámetros productivos.

8. Recomendaciones

La administración vía oral de cocteles bacteriófagos son una alternativa eficaz como promotores de crecimiento frente al uso de antibióticos, además que en la industria avícola esta práctica resultaría ser fácil y rentable para el productor, lo que incentiva a la indagación y pruebas de otras formas de presentación cómo alternativas para la administración oral de los bacteriófagos, a más de poder analizar la rentabilidad del uso de estos en la crianza de aves tanto de manera técnica como convencional.

9. Referencias

- Ackermann, H., Tremblay, D., & Moineau, S. (2004). *Long-term bacteriophage preservation.* WFCC Newsletter. 38. 35-40.
- Aguilar, J., & Peralta, A. (2023). *Efecto de la aplicación de colífagos en el control de Escherichia coli en pollos de engorde.* <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/40682>
- Anh, L. H., Loc, H. T., Xuan, N. H., Thanh, L. M., Mo, T. T. H., Lan, L. T. T., & Ngu, N. T. (2022). Application of Phages to Control Escherichia coli Infections in Native Noi Chickens. AAVS, *Adv.Anim.Vet.Sci.*, 10(7), 1518–1524. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.7.1518.1524>
- Apolo, G., & Rodríguez, D. (2021). Efecto de dos niveles de harina de laritaco (*Vernonanthura patens*) sobre la respuesta productiva y morfometría intestinal en pollos de engorde. *RIVEP*, 32(2), 18385. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I2.18385>
- Apolo, J., & Barragán, S. (2015). *Aislamiento de Escherichia coli en pollos de engorde con afección respiratoria y determinación de la sensibilidad frente a los antibióticos utilizados en el cantón Balsas, provincia de El Oro.* [https://dspace.unl.edu.ec//handle/123456789/10710](http://dspace.unl.edu.ec//handle/123456789/10710)
- Araújo, F., Valadares, E., Goulart, L., Figueiredo, P., Pereira, E., Carneiro, L., Santana, A., Bragine, T., Machado, L., Medeiros, A., & Fonseca, B. B. (2022). Alternative use of phage display: phage M13 can remain viable in the intestines of poultry without causing damage. *AMB Express*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01407-9>
- Ávila, L. C., Naranjo, J. M., & Higuita, J. C. (2015). *Viability of yeast and bacteria preserved by lyophilization: Effect of lyoprotectant agents* (Vol. 10).
- AviNews. (2019). *La última chance de los antibióticos como promotores de crecimiento.* AviNews, La Revista Global de Avicultura. <https://avineWS.com/el-ultimo-chance-de-los-antibioticos-como-promotores-de-crecimiento/>
- Barriosnuevo, K. (2017). *Evaluación de diferentes vías de administración de un fago lítico en gallinas comerciales infectadas experimentalmente con Salmonella gallinarum.* <https://repositorio.unicordoba.edu.co/server/api/core/bitstreams/f968a161-49c9-416a-9c04-f274ed88318c/content>

- Barrow, P., Lovell, M., & Berchieri, A. (1998). Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clin Diagn Lab Immunol*, 5(3), 294–298. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cdli.5.3.294-298.1998>
- Blanch, A. (2021). *Inflamación intestinal inducida por el alimento y estrés oxidativo en aves*. Avicultura BMeditores. <https://bmeditores.mx/avicultura/inflamacion-intestinal-inducida-por-el-alimento-y-estres-oxidativo-en-aves/>
- Boncompte, I., Llorens, J., & Gregori, P. (2022). *Los bacteriófagos, una herramienta complementaria en S. Infantis*. <https://avinews.com/los-bacteriofagos/>
- Chango, M. (2015). *Aqua de bebida: principal nutriente - 2*. El Sitio Avicola. <https://www.elsitioavicola.com/articles/2859/agua-de-bebida-principal-nutriente-2/>
- Clark, J. R., & March, J. B. (2006). Bacteriophages and biotechnology: vaccines, gene therapy and antibacterials. *Trends in Biotechnology*, 24(5), 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.03.003>
- Colom, J., Cano-Sarabia, M., Otero, J., Cortés, P., MasPOCH, D., & Llagostera, M. (2015). Liposome-Encapsulated Bacteriophages for Enhanced Oral Phage Therapy against *Salmonella* spp. *Appl Environ Microbiol*, 81(14), 4841. <https://doi.org/10.1128/AEM.00812-15>
- CONAVE. (2023a). *Cifras actualizadas del sector avícola - CONAVE*. <https://conave.org/informacion-sector-avicola-publico/>
- CONAVE. (2023b). *Cifras positivas en la exportación de carne de pollo del Ecuador - CONAVE*. Conave.Org. <https://conave.org/cifras-positivas-en-la-exportacion-de-carne-depollo-del-ecuador/>
- CONAVE. (2023c). *Información sector avícola*. Conave.Org. <https://conave.org/informacion-sector-avicola-publico/>
- Czarick, M., & Fairchild, B. (2020). La Naturaleza cíclica de los pollos. AviNews. chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://avinews.com/download/naturalez-a-consumo-agua.pdf
- Economou, V., & Gousia, P. (2015). Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infect Drug Resist*, 8, 49–61. <https://doi.org/10.2147/IDR.S55778>

- Espín, D. (2023). *La avicultura alimenta al Ecuador*. AviNews, La Revista Global de Avicultura.
<https://avineWS.com/diana-espin-la-avicultura-alimenta-a-ecuador/>
- Fairchild, B., & Ritz, C. (2009). *Poultry Drinking Water Primer*. Extension Poultry Scientists.
<https://extension.uga.edu/publications/detail.html?number=B1301&title=poultry-drinking-water-primer>
- Gohary, F. A., Huff, W. E., Huff, G. R., Rath, N. C., Zhou, Z. Y., & Donoghue, A. M. (2014). Environmental augmentation with bacteriophage prevents colibacillosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 93(11), 2788–2792. <https://doi.org/10.3382/PS.2014-04282>
- Gómez, M., & Paccha, L. (2022). *Caracterización fenotípica y molecular de colifagos líticos*.
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/38707>
- González. (2020). *Optimización de procesos para la producción industrial de bacteriófagos*.
- González, A., Ponce, L., Alcivar, J., Valverde, Y., & Gabriel, J. (2020). Suplementación alimenticia con promotores de crecimiento en pollos de engorde Cobb 500. *J. Selva Andina Anim.*, 7(1), 3–16. <https://doi.org/10.36610/J.JSAAS.2020.070100003>
- Grauer, A., Grunberg, K., & Zardo, S. (2015). *Puesta a punto de un protocolo de liofilización para la creación de bancos bacterianos*.
- Hernández-Fillor, R. E., Báez-Arias, M., Alfonso-Zamora, P., & Espinosa-Castaño, I. (2017). Susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelícula en aislados de Escherichia coli procedentes de gallinas ponedoras. *Rev Salud Anim.*, 39(3), 00–00. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2017000300005&lng=pt&nrm=iso&tlng=es
- Hofacre, C. L., Fricke, J. A., & Inglis, T. (2013). Antimicrobial Drug Use in Poultry. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 569–587. <https://doi.org/10.1002/9781118675014.CH34>
- Hong, S. S., Jeong, J., Lee, J., Kim, S., Min, W., & Myung, H. (2013). Therapeutic effects of bacteriophages against *Salmonella gallinarum* infection in chickens. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 23(10), 1478–1483. <https://doi.org/10.4014/JMB.1304.04067>
- Honorio, C. E., Vallenás, Y., & Bazán, J. (2021). Bacteriophage cocktail as a substitute for antibiotic-type growth promoters in poultry. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 499–508. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.054>

- Huff, W. E., Huff, G. R., Rath, N. C., Balog, J. M., & Donoghue, A. M. (2003). Bacteriophage Treatment of a Severe *Escherichia coli* Respiratory Infection in Broiler Chickens. *Avian Diseases*, 47(4), 1399–1405. <https://doi.org/10.1637/7041>
- Jo, S. J., Kwon, J., Kim, S. G., & Lee, S. J. (2023). The Biotechnological Application of Bacteriophages: What to Do and Where to Go in the Middle of the Post-Antibiotic Era. *Microorganisms* 2023, Vol. 11, Page 2311, 11(9), 2311. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11092311>
- Joerger, R. D. (2003). Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. *Poultry Science*, 82(4), 640–647. <https://doi.org/10.1093/PS/82.4.640>
- John, D., & Glyn, S. (2007). *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. 368. <https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2>
- Jończyk, E., Kłak, M., Międzybrodzki, R., & Górska, A. (2011). The influence of external factors on bacteriophages-review. *Folia Microbiologica*, 56(3), 191–200. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12223-011-0039-8>
- Kaikabo, A. A., Abdulkarim, S. M., & Abas, F. (2017). Evaluation of the efficacy of chitosan nanoparticles loaded Φ KAZ14 bacteriophage in the biological control of colibacillosis in chickens. *Poultry Science*, 96(2), 295–302. <https://doi.org/10.3382/PS/PEW255>
- Kim, J. H., Kim, J. W., Lee, B. B., Lee, G. I., Lee, J. H., Kim, G. B., & Kil, D. Y. (2014). Effect of dietary supplementation of bacteriophage on growth performance and cecal bacterial populations in broiler chickens raised in different housing systems. *Livestock Science*, 170, 137–141. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.09.005>
- Kirkpatrick, K., & Fleming, E. (2008). *Calidad del agua. chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/SPRossTechNoteWaterQuality.pdf*
- Kogut, M. H., Genovese, K. J., Swaggerty, C. L., He, H., & Broom, L. (2018). Inflammatory phenotypes in the intestine of poultry: not all inflammation is created equal. *Poultry Science*, 97(7), 2339–2346. <https://doi.org/10.3382/PS/PEY087>
- Llagostera, M., & Cortés, P. (2020). *Visión actual de la terapia fágica en la producción avícola*. <https://avinews.com/vision-actual-de-la-terapia-fagica-en-la-produccion-avicola/>

- Malenovská, H. (2014). The influence of stabilizers and rates of freezing on preserving of structurally different animal viruses during lyophilization and subsequent storage. *Journal of Applied Microbiology*, 117(6), 1810–1819. <https://doi.org/10.1111/JAM.12654>
- Manohar, P., & Ramesh, N. (2019). Improved lyophilization conditions for long-term storage of bacteriophages. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51742-4>
- Miles, T. D., McLaughlin, W., & Brown, P. D. (2006). Antimicrobial resistance of Escherichia coli isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet Res*, 2, 7. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-2-7>
- Moreno, L., & Cab, L. (2023). *Vista de Bacteriófagos como biocontrol de enfermedades bacterianas en mamíferos*. Grupo de Nanotecnología y Biocontrol Microbiano, Centro de Investigaciones Biológicas Del Noroeste, S. C. La Paz, Baja California Sur, México. <http://mastozoologiamexicana.com/ojs/index.php/theryaixmana/article/view/316/314>
- Moreno, L., Hernández, L., & Quiroz, E. (2024). Bacteriófagos y producción de alimentos. *RDU*, 25(1). <https://doi.org/10.22201/cuiaeед.16076079e.2024.25.1.2>
- Nabil, N. M., Tawakol, M. M., & Hassan, H. M. (2018). Assessing the impact of bacteriophages in the treatment of Salmonella in broiler chickens. *Infection Ecology & Epidemiology*, 8(1). <https://doi.org/10.1080/20008686.2018.1539056>
- Nobrega, F. L., Costa, A. R., Santos, J. F., Siliakus, M. F., Van Lent, J. W. M., Kengen, S. W. M., Azeredo, J., & Kluskens, L. D. (2016). Genetically manipulated phages with improved pH resistance for oral administration in veterinary medicine. *Sci Rep*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep39235>
- NRC. (1994). National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition. *Nutrient Requirements of Poultry*. <https://doi.org/10.17226/2114>
- Oliveira, A., Sereno, R., & Azeredo, J. (2010). In vivo efficiency evaluation of a phage cocktail in controlling severe colibacillosis in confined conditions and experimental poultry houses. *Veterinary Microbiology*, 146(3–4), 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.05.015>
- Orenga, C. (2021). *Phage-Stop-AMR – JPIAMR*. <https://www.jpiamr.eu/projects/phage-stop-amr/>

- Pérez, A., & Astudillo, K. (2020). Caracterización molecular de aislados de *Escherichia coli* en pollos de carne (*Gallus gallus domesticus*) de la provincia de Azuay, Ecuador. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/35014>
- Principi, N., Silvestri, E., & Esposito, S. (2019). Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in Pharmacology*, 10(MAY), 513. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2019.00513/BIBTEX>
- Puapermpoonsiri, U., Ford, S. J., & van der Walle, C. F. (2010). Stabilization of bacteriophage during freeze drying. *International Journal of Pharmaceutics*, 389(1–2), 168–175. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2010.01.034>
- Quintero, M., Montoya, D., Restrepo, D., & González, D. (2023). Conservación de bacterias por liofilización en la Colección de Microorganismos. *Biota Colombiana*, 24(2). <https://revistas.humboldt.org.co/index.php/biota/article/view/1127>
- Rosner, D., Clark, J., Schneider, C., & Gibb, B. (2021). Formulations for Bacteriophage Therapy and the Potential Uses of Immobilization. *Pharmaceuticals 2021, Vol. 14, Page 359*, 14(4), 359. <https://doi.org/10.3390/PH14040359>
- Rubio, J. (2005). *Suministro de agua de calidad en granjas de Broilers*. www.LibreriaAgropecuaria.com
- Rydman, P. S., & Bamford, D. H. (2002). The lytic enzyme of bacteriophage PRD1 is associated with the viral membrane. *Journal of Bacteriology*, 184(1), 104–110. <https://doi.org/10.1128/JB.184.1.104-110.2002>
- Samah, E., Tolba, H. M. N., Hamed, R. I., & Al-Atfeehy, N. M. (2022). Bacteriophage therapy as an alternative biocontrol against emerging multidrug resistant *E. coli* in broilers. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3380–3389. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2022.02.015>
- Santelices, C., & Castro, J. (2019). *Preservación de microorganismos por liofilización*.
- Seo, B. J., Song, E. T., Lee, K., Kim, J. W., Jeong, C. G., Moon, S. H., Son, J. S., Kang, S. H., Cho, H. S., Jung, B. Y., & Kim, W. Il. (2018). Evaluation of the broad-spectrum lytic capability of bacteriophage cocktails against various *Salmonella* serovars and their effects on weaned pigs infected with *Salmonella typhimurium*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(6), 851. <https://doi.org/10.1292/JVMS.17-0501>

- Tie, K., Yuan, Y., Yan, S., Yu, X., Zhang, Q., Xu, H., Zhang, Y., Gu, J., Sun, C., Lei, L., Han, W., & Feng, X. (2018). Isolation and identification of *Salmonella pullorum* bacteriophage YSP2 and its use as a therapy for chicken diarrhea. *Virus Genes*, 54(3), 446–456. <https://doi.org/10.1007/S11262-018-1549-0>
- Upadhyaya, S. D., Ahn, J. M., Cho, J. H., Kim, J. Y., Kang, D. K., Kim, S. W., Kim, H. B., & Kim, I. H. (2021). Bacteriophage cocktail supplementation improves growth performance, gut microbiome and production traits in broiler chickens. *J Animal Sci Biotechnol*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00570-6>
- Vallenás, Y. P. A., Bautista-Valles, M. F., Llaque-Chávarri, F., Mendoza-Coello, M. E., Vallenás-Sánchez, Y. P. A., Bautista-Valles, M. F., Llaque-Chávarri, F., & Mendoza-Coello, M. E. (2022). Cóctel de bacteriófagos como sustituto de antimicrobianos en dermatología de animales de compañía. *J. Selva Andina Anim. Sci.*, 9(2), 97–117. <https://doi.org/10.36610/J.JSAAS.2022.090200097>
- Wang, S., Peng, Q., Jia, H. M., Zeng, X. F., Zhu, J. L., Hou, C. L., Liu, X. T., Yang, F. J., & Qiao, S. Y. (2017). Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with *Lactobacillus plantarum* B1. *Poultry Science*, 96(8), 2576–2586. <https://doi.org/10.3382/PS/PEX061>
- Watkins, S., & G.T. (2010). *Consumo de agua en pollos - El Sitio Avicola*. El Sitio Avicola. <https://www.elsitioavicola.com/articles/1755/consumo-de-agua-en-pollos/>
- Yang, Y., Xie, X., Tang, M., Liu, J., Tuo, H., Gu, J., Tang, Y., Lei, C., Wang, H., & Zhang, A. (2020). Exploring the profile of antimicrobial resistance genes harboring by bacteriophage in chicken feces. *Science of the Total Environment*, 700. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.134446>
- Żbikowska, K., Michalczuk, M., & Dolka, B. (2020). The use of bacteriophages in the poultry industry. *Animals*, 10(5), 872. <https://doi.org/10.3390/ANI10050872>
- Zhang, Y., Peng, X., Zhang, H., Watts, A. B., & Ghosh, D. (2018). Manufacturing and ambient stability of shelf freeze dried bacteriophage powder formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 542(1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2018.02.023>
- Zimmermann, J. (2020). *Aplicación de diferentes matrices transportadoras de probióticos destinadas a cerdos en producción primaria*. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/5824>

Zuccarelli, P. (2020). *Uso de antibióticos como promotores del crecimiento en animales*. TSI Group - Tecnosoluciones Integrales. <https://tecnosolucionescr.net/blog/164-uso-de-antibioticos-como-promotores-del-crecimiento-en-animales>

10. Anexos

Fase de laboratorio

Figura 2. Reactivos y preparación para la obtención de cultivos bacterianos/ bacteriófagos

Pesaje de Reactivos



Preparación y esterilización del Agar y caldo nutritivo



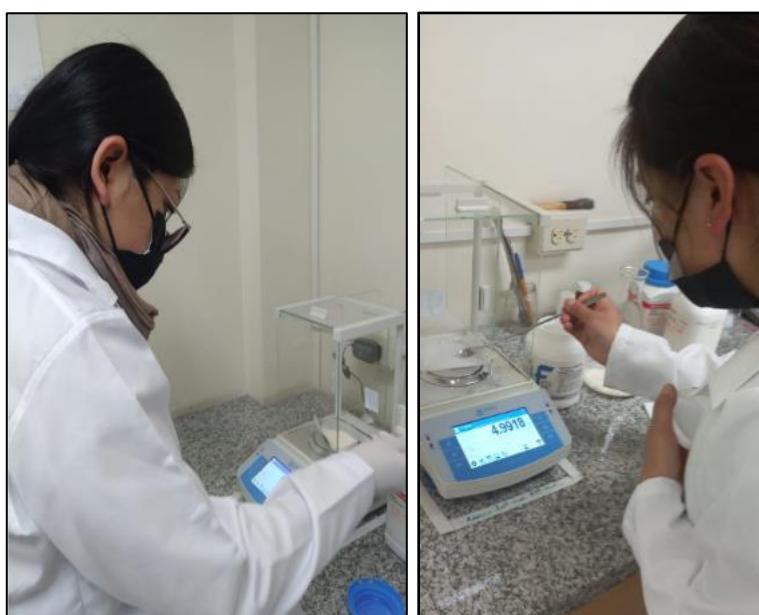


Figura 3. Siembra de la *E. coli* TOP10F'



Figura 4. Inoculación de los bacteriófagos en cajas Petri



Figura 5. Cosecha de bacteriófagos



Figura 6. Centrifugación del suspendido de bacteriófagos

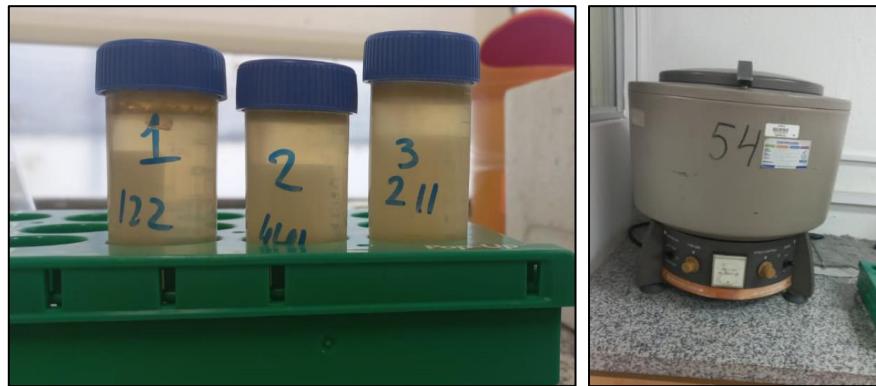


Figura 7. Regulación de pH de la solución de bacteriófagos concentrada



Figura 8. Dosificación y etiquetado del coctel de bacteriófagos listos para liofilizar



Figura 9. Liofilización de la solución de bacteriófagos

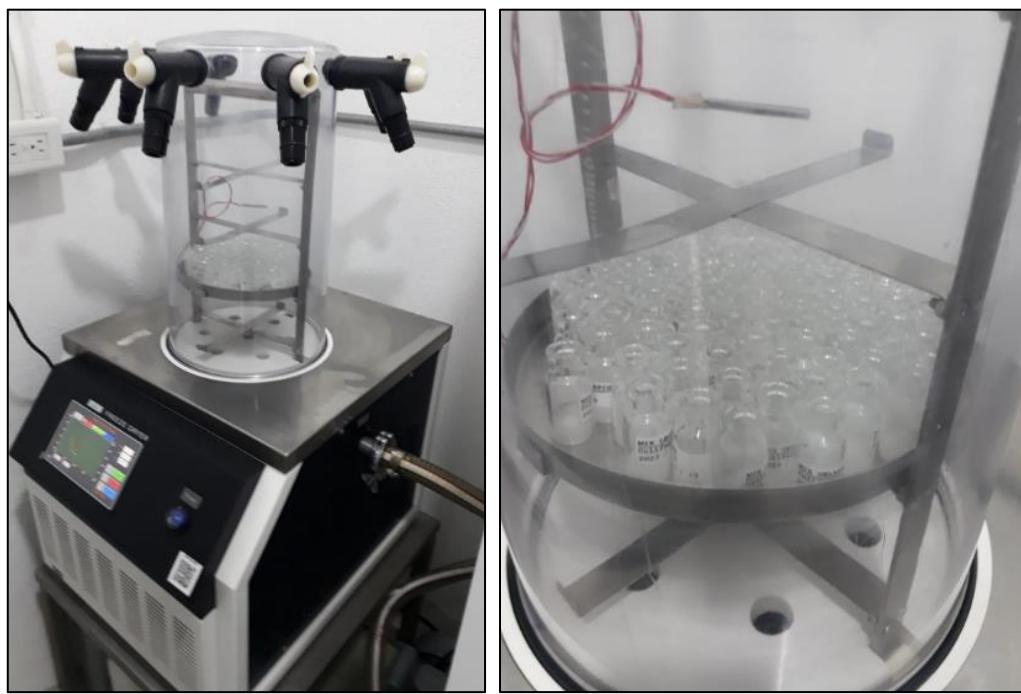
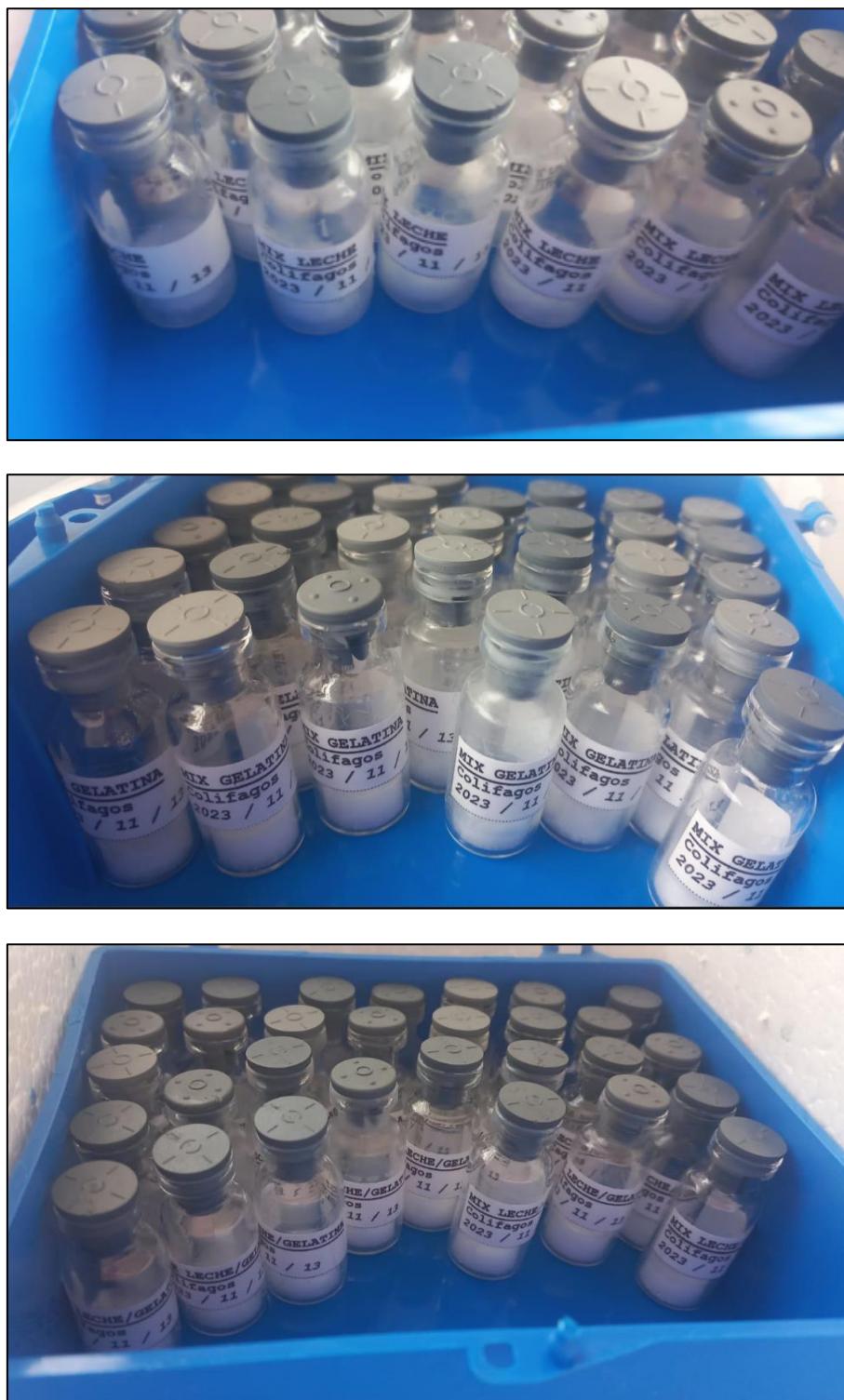


Figura 10. Soluciones con bacteriófagos, liofilizados y congelados



Fase de campo

Figura 11. Preparación del galpón.

Materiales para la preparación del galpón; criadoras, banderas, bebederos, balanza



Colocación de cortinas externas para el galpón y adecuación de las unidades experimentales

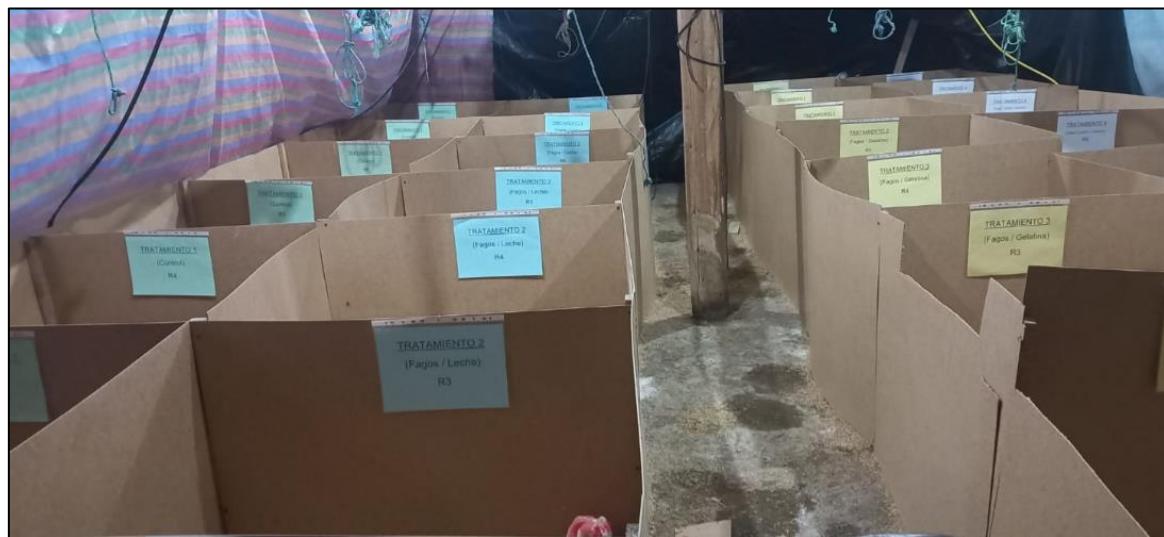


Figura 12. Recepción de pollitos bebés Cobb 500

Pesaje al día 1 y evaluación física de los pollitos



Figura 13 Administración de bacteriófagos

Medición de agua, preparación de bacteriófagos y administración a cada grupo



La Administración de bacteriófagos se realizó 2 días a la semana previa restricción de agua de 2 horas



Figura 14 Pesaje semanal de cada pollito





Figura 15 Recolección de datos

Los datos recolectados fueron del peso, alimento restante y alimento ofrecido. Se realizó semanalmente.

Peso Pollos Edad (d)									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R1 119	121	116	119	125	119	126	130	124	129
R2 145	144	142	141	148	146	146	149	148	147
R3 216	216	209	207	203	199	194	194	197	205
R4 138	125	123	128	128	124	126	126	124	126
R5 301	302	295	292	293	293	291	291	295	294
R6 104	102	103	104	102	100	108	107	105	105
R7 193	193	193	198	196	191	191	190	190	195
R8 200	202	192	192	181	208	200	190	190	190

Alimento Restante (Kg) 8 dias									
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
R1 1,0	1,0	0,96	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
R2 0,75	0,75	0,66	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
R3 0,75	0,75	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
R4 1,0	1,0	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
R5 0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
R6 1,0	1,0	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
R7 0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
R8 1,15	1,15	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95

Alimento Ofrecido (Kg) 8 dias									
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
R1 120	120	120	120	120	120	120	120	120	120
R2 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R3 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R4 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R5 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R6 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R7 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
R8 125	125	125	125	125	125	125	125	125	125

Figura 16 Vacunación de pollitos

Inoculación y vacunas administradas a los 7, 14 y 21 días



Figura 17 Alimentación de los pollitos

La alimentación se realizó por un tiempo de 10 horas en un intervalo de tiempo 7am a 5pm



Figura 18 Toma de muestras para laboratorio y obtención de datos

Rotulación de pollos según el grupo y repetición, se tomó 1cm de la sección del duodeno, se conservó en formol, pesaje de la molleja y medición de la longitud del intestino

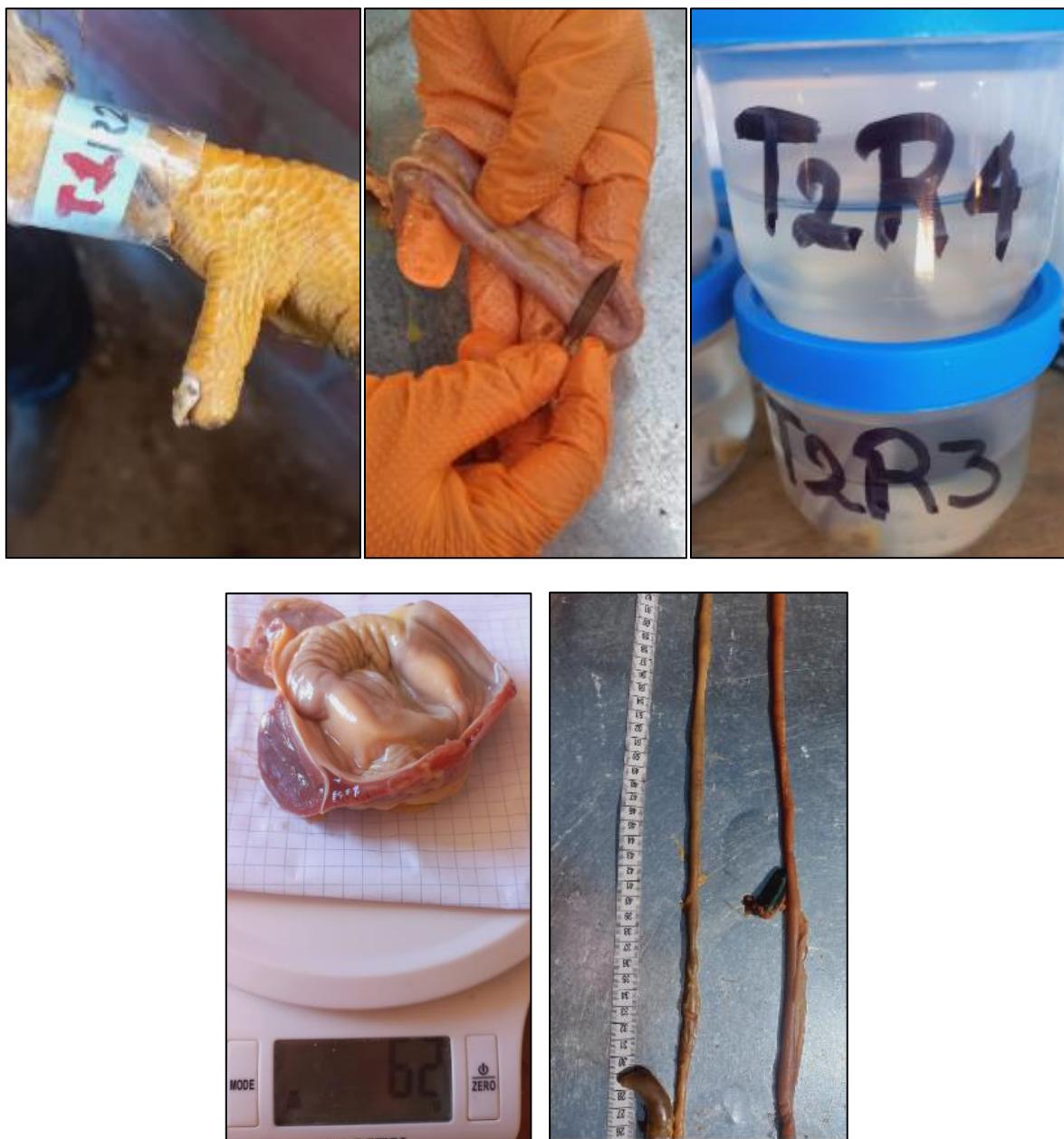


Figura 13. Cronograma de actividades durante la crianza de las aves

	Consumo alimento frente consumo agua(1:2)						BACTERIOFAGOS						Cronograma
	Edad (días)	Peso (g)	Consumo alimento (g)	Consumo alimento acumulado (g)	Consumo de agua lit (ratio: agua/peso:2)	Consumo de agua acumulado lit (ratio: agua/peso:2)	Días ADMINISTRACIÓN ml	Dosis ml (9)	Repi-Rept (8)	Vol X Gr(9) para ¼	Repi-Rept para ¼	Viales	
S E M A N A 1	0	42											
	1	55	13		0,026		26,00	234,00	1872,00	58,50	468,00	1	Jueves 07/12/2023 Fagos
	2	71	16		0,032		32,00	288,00	2304,00	72,00	576,00	1	viernes 08/12/2023 Fagos
	3	90	19		0,038		38,00	342,00					sábado 09/12/2023
	4	112	22		0,044		44,00	396,00					domingo 10/12/2023
	5	138	26		0,052		52,00	468,00					lunes 11/12/2023 Vit y Minerales
	6	168	30		0,060		60,00	540,00					martes 12/12/2023 Vit y Minerales
S E M A N A 2	7	202	34	180	0,068	0,360	68,00	612,00					miércoles 13/12/2023 Vit y Minerales
	8	240	40	220	0,080	0,440	80,00	720,00					Jueves 14/12/2023
	9	283	44	264	0,088	0,528	88,00	792,00					viernes 15/12/2023 Vacunación
	10	330	50	314	0,100	0,628	100,00	900,00					sábado 16/12/2023
	11	382	57	371	0,114	0,742	114,00	1026,00	8208,00	256,50	2052,00	1	domingo 17/12/2023 Fagos
	12	440	64	435	0,128	0,870	128,00	1152,00	9216,00	288,00	2304,00	1	lunes 18/12/2023 Fagos
	13	503	73	508	0,146	1,016	146,00	1314,00					martes 19/12/2023 Vit y Minerales
S E M A N A 3	14	570	80	588	0,160	1,176	160,00	1440,00					miércoles 20/12/2023 Vit y Minerales
	15	639	84	672	0,168	1,344	168,00	1512,00					jueves 21/12/2023
	16	711	91	763	0,182	1,526	182,00	1638,00					viernes 22/12/2023 Vacunación
	17	786	98	861	0,196	1,722	196,00	1764,00					sábado 23/12/2023
	18	864	105	966	0,210	1,932	210,00	1890,00	15120,00	472,50	3780,00	1	domingo 24/12/2023 Fagos
	19	945	111	1077	0,222	2,154	222,00	1998,00	15984,00	499,50	3996,00	1	lunes 25/12/2023 Fagos
	20	1029	118	1195	0,236	2,390	236,00	2124,00					martes 26/12/2023 Vit y Minerales
S E M A N A 4	21	1116	125	1320	0,250	2,640	250,00	2250,00					miércoles 27/12/2023 Vit y Minerales
	22	1205	131	1451	0,262	2,902	262,00	2358,00					jueves 28/12/2023
	23	1296	137	1588	0,274	3,176	274,00	2466,00					viernes 29/12/2023 Vacunación
	24	1390	143	1731	0,286	3,462	286,00	2574,00					sábado 30/12/2023
	25	1486	149	1880	0,298	3,760	298,00	2682,00	21456,00	670,50	5364,00	2	domingo 31/12/2023 Fagos
	26	1583	154	2034	0,308	4,068	308,00	2772,00	22176,00	693,00	5544,00	2	lunes 01/01/2024 Fagos
	27	1682	160	2194	0,320	4,388	320,00	2880,00					martes 02/01/2024
S E M A N A 5	28	1783	165	2359	0,330	4,718	330,00	2970,00					miércoles 03/01/2024
	29	1886	169	2528	0,338	5,056	338,00	3042,00					jueves 04/01/2024
	30	1989	174	2702	0,348	5,404	348,00	3132,00					viernes 05/01/2024
	31	2094	178	2880	0,356	5,760	356,00	3204,00					sábado 06/01/2024
	32	2200	183	3063	0,366	6,126	366,00	3294,00	26352,00	823,50	6588,00	2	domingo 07/01/2024 Fagos
	33	2306	187	3250	0,374	6,500	374,00	3366,00	26928,00	841,50	6732,00	2	lunes 08/01/2024 Fagos
	34	2413	191	3441	0,382	6,882	382,00	3438,00					martes 09/01/2024
S E M A N A 6	35	2521	194	3635	0,388	7,270	388,00	3492,00					miércoles 10/01/2024
	36	2629	198	3833	0,396	7,666	396,00	3564,00					jueves 11/01/2024
	37	2738	202	4035	0,404	8,070	404,00	3636,00					viernes 12/01/2024
	38	2846	206	4241	0,412	8,482	412,00	3708,00					sábado 13/01/2024
	39	2954	209	4450	0,418	8,900	418,00	3762,00	30096,00	940,50	7524,00	2	domingo 14/01/2024 Fagos
	40	3062	213	4663	0,426	9,326	426,00	3834,00	30672,00	958,50	7668,00	2	lunes 15/01/2024 Fagos
	41	3170	217	4880	0,434	9,760	434,00	3906,00					martes 16/01/2024
S E M A N A 7	42	3278	220	5100	0,440	10,200	440,00	3960,00					miércoles 17/01/2024
	43	3384	224	5324	0,448	10,648	448,00	4032,00					jueves 18/01/2024
	44	3490	228	5552	0,456	11,104	456,00	4104,00					viernes 19/01/2024
	45	3595	232	5784	0,464	11,568	464,00	4176,00					sábado 20/01/2024
	46	3699	236	6020	0,472	12,040	472,00	4248,00	33984,00	1062,00	8496,00	2	domingo 21/01/2024 Fagos
	47	3801	239	6259	0,478	12,518	478,00	4302,00	34416,00	1075,50	8604,00	2	lunes 22/01/2024 Fagos
	48	3902	243	6502	0,486	13,004	486,00	4374,00					martes 23/01/2024
	49	4001	247	6749	0,494	13,498	494,00	4446,00					miércoles 24/01/2024