



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**“Efecto de la suplementación de diferentes niveles de
probiótico sobre la histomorfometría del intestino
delgado del cuy (*Cavia porcellus*)”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Jhosseline Marleny PUENTE VALVERDE

ASESOR

Fernando CARCELÉN CÁCERES

Lima, Perú

2018

A Rosa y Edwin, mis padres; por todo el amor, apoyo constante y por ser mi fortaleza en aquellos momentos de flaqueza a lo largo de mi vida.

A mis abuelos, mis tíos y a toda mi familia, por motivarme y acompañarme en cada paso que doy cada día.

Al Dr. Carcelén, mi asesor de tesis, por confiar en mí, apoyarme, brindarme buenos consejos y estar presto a cualquiera de mis inquietudes.

Al Dr. Santillán y a la Dra. Perales por su apoyo en el desarrollo de mi tesis.

A la Dra. Narrea y a Lucía por la confianza, los consejos brindados y por demostrarme que es posible ser grandes amigas y compañeras de trabajo a la vez.

A mis grandes amigos y compañeros de la universidad, con quienes hemos compartido innumerables experiencias.

A Patricia y a Juan José, por su apoyo, compañía y amistad durante los momentos complicados a lo largo de este proceso.

Un sincero agradecimiento a todas las personas que me brindaron su ayuda de manera directa e indirecta para poder culminar esta etapa de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
BIBLIOGRÁFICA REVISIÓN.....	3
2.1 Situación Actual De La Crianza De Cuyes.....	3
2.1.1 Población y producción nacional de cuyes.....	4
2.1.2 Problemática en la producción de cuyes.....	6
2.2 Morfología Y Fisiología Digestiva Del Cuy.....	6
2.3 La Salud Intestinal.....	8
2.4 Estrategias Para Actuar Sobre La Salud Intestinal.....	8
2.4.1 Antibióticos promotores de crecimiento (APC).....	9
2.4.1.1 Zinc Bacitracina.....	11
2.4.2 Probióticos.....	11
2.4.2.2 Mecanismo de acción.....	12
2.4.2.2.1. Interacción de probióticos con el sistema inmune.....	13
2.4.2.2.3 Tipos de Probióticos.....	14
2.5 Intestino Delgado.....	14
2.5.1.1 La capa mucosa.....	15
2.5.1.1.1 Especializaciones de la capa mucosa.....	16
2.5.1.2 La capa submucosa.....	17
2.5.1.3 La capa muscular.....	18
2.5.1.4 La capa serosa.....	18
2.5.2 Fisiología.....	19
2.5.2.1 Función Secretora.....	19
2.5.2.2 Digestión y absorción de nutrientes.....	19
2.5.2.3 Regeneración.....	20
2.5.2.4 Respuesta inmunológica.....	21

2.5.3 Relación entre la histomorfometría intestinal y sus efectos en la salud intestinal.....	21
2.5.3.1 Parámetros y técnicas de evaluación.....	22
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1 Tiempo y lugar.....	24
3.2 Material y diseño experimental	24
3.3 Instalaciones, equipos y materiales.....	25
3.4 Tratamientos.....	25
3.5 Dieta Experimental y Composición Nutricional.....	25
3.5.1 Forraje:.....	26
3.5.1.1 Rye grass Italiano (<i>Lolium multiflorum</i>):.....	26
3.5.1.3 Trébol rojo (<i>Trifolium pratense</i>):.....	26
3.5.2 Suplementación:.....	27
3.5.2.1 Afrecho de trigo:.....	27
3.5.2.2 Producto evaluado.....	27
3.5.2.2.1 Aplicación del probiótico:.....	27
3.5.2.2.2. Fundamento de la aplicación del probióticos.....	28
3.6 Metodología de la morfometría intestinal.....	28
3.7 Toma y procesamiento de muestras:.....	28
3.8 Preparación de cortes histológicos:	29
3.9 Lectura de láminas histológicas y parámetros de evaluación:	29
3.9.1 Longitud de la vellosidad intestinal.....	29
3.9.2 Ancho de la vellosidad intestinal.....	29
3.9.3 Profundidad de la cripta de Lieberkühn.....	29
3.9.4 Relación longitud de la vellosidad y profundidad de la cripta de Lieberkühn.....	30
3.10 Diseño experimental y análisis estadístico.....	30
RESULTADOS.....	31
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES.....	38
RECOMENDACIONES.....	39
LITERATURA CITADA.....	40
APÉNDICE.....	48

RESUMEN

El presente estudio evaluó el efecto que produce la suplementación de un probiótico líquido sobre la histomorfometría intestinal en cuyes de engorde. Se utilizaron 50 cuyes machos destetados a los 14 días de edad, distribuidos en un diseño completamente al azar de cinco tratamientos con diez repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron: (T1) 1ml de probiótico; (T2) 2ml de probiótico; (T3) 3ml de probiótico; (T4) control y (T5) antibiótico. Se tomaron muestras de las tres secciones del intestino de cada animal a los 84 días de edad y fueron remitidas para la elaboración de láminas histológicas para las mediciones. Para la longitud de vellosidades intestinales, en el duodeno, yeyuno e íleon no existen diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre T1, T2 Y T3 frente al control, ni frente a T5; ni entre ellos mismos. Para el ancho de vellosidades, a nivel de duodeno y yeyuno tampoco se observa diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre T1, T2 Y T3 frente al control, ni frente T5, mientras que a nivel de íleon T1 y T3 fueron superiores al control y a T5 ($p < 0.05$). Además se muestran diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre el T1 frente a T2 y T3. La profundidad de cripta de Lieberkühn a nivel de duodeno y yeyuno, no muestran diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre T1, T2 Y T3 frente al control, ni frente T5; ni entre ellos mismos, sin embargo a nivel de íleon, el T5 es superior con respecto a T1, T2, T3 y T4 ($P < 0.05$). Para el parámetro de relación entre la longitud de vellosidad y profundidad de cripta, en la sección del duodeno, yeyuno e íleon, no se observan diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$). Con estos resultados se concluye que la suplementación con los diferentes niveles de probiótico líquido utilizados en este estudio no tienen efecto positivo sobre la histomorfometría intestinal en cuyes de engorde.

Palabras Clave: cuy, probiótico, histomorfometría intestinal

ABSTRACT

The present study evaluated the effect produced by the supplementation of a liquid probiotic on intestinal histomorphometry in fattening guinea pigs. We used 50 male guinea pigs weaned at 14 days of age, distributed in a completely random design of five treatments with ten repetitions each. The treatments were: (T1) 1ml of probiotic; (T2) 2ml of probiotic; (T3) 3ml of probiotic; (T4) control and (T5) antibiotic. Samples were taken from the three sections of the intestine of each animal at 84 days of age and were sent for the preparation of histological sheets for measurements. For the length of intestinal villi, in the duodenum, jejunum and ileum there is no significant statistical difference ($p < 0.05$) between T1, T2 and T3 compared to the control, nor against T5; nor among themselves. For the width of villi, at the level of the duodenum and in the jejunum there was no statistically significant difference ($P < 0.05$) between T1, T2 and T3 compared to the control, nor against T5, while at the level of ileum T1 and T3 they were superior to control and at T5 ($p < 0.05$). In addition, statistical differences ($P < 0.05$) are shown between T1 and T2 and T3. The depth of the Lieberkühn crypt at the duodenum and jejunum level shows no significant statistical difference ($P < 0.05$) between T1, T2 and T3 compared to the control, nor against T5; neither among themselves, however at the ileum level, T5 is superior with respect to T1, T2, T3 and T4 ($P < 0.05$). For the parameter of relationship between the length of villus and depth of crypt, in the section of the duodenum, jejunum and ileum, no significant statistical differences were observed ($P < 0.05$). With these results it is concluded that the supplementation with the different levels of liquid probiotic used in this study have no positive effect on intestinal histomorphometry in fattening guinea pigs.

Keywords: guinea pig, probiotic, histomorphometry intestinal

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Población de cuyes a nivel nacional (INEI – IV censo nacional agropecuario 2012)	pág.5
Cuadro 2.	Composición nutricional del <i>Rye grass</i> italiano a un primer corte.	pág.27
Cuadro 3.	Composición nutricional del trébol rojo a un primer corte.	pág.27
Cuadro 4.	Composición nutricional del afrecho de trigo.	pág.28
Cuadro 5.	Composición del probiótico líquido.	pág.28
Cuadro 6.	Efecto de la suplementación de un probiótico líquido sobre la longitud de vellosidad intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.	pág.33
Cuadro 7.	Efecto de la suplementación de un probiótico líquido sobre el ancho de vellosidad intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.	pág.34
Cuadro 8.	Efecto de la suplementación de probiótico líquido sobre la profundidad de la cripta intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.	pág.35
Cuadro 9.	Efecto de la suplementación de probiótico líquido sobre la relación longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.	pág.36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Puntos de referencia para la medición de longitud de vellosidad, ancho de vellosidad y la profundidad de cripta de Lieberkühn. pág.30
- Figura 2A.** Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento control. pág.49
- Figura 2B** Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento con 3ml de probiótico. pág.49
- Figura 2C** Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento 2ml de probiótico. pág.50
- Figura 2D** Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento 1ml de probiótico. pág.50

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la crianza de cuy (*Cavia porcellus*) ha tenido un incremento considerable, debido a que su carne es requerida en el mercado nacional e internacional, ya que se caracteriza por tener un alto nivel de proteína, minerales, bajo nivel de grasa, además de su exquisito sabor (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008). Este incremento en la demanda ha traído consigo la necesidad de mejorar la eficiencia productiva mediante la aplicación de estrategias que regulen la disponibilidad y utilización de nutrientes en el tracto gastrointestinal, en grandes lotes de animales.

Una de estas estrategias, es el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (APC). Los APC, modifican de manera cualitativa y cuantitativa la microbiota intestinal del hospedador, reducen la cantidad de microorganismos patógenos causantes de enfermedades subclínicas, disminuyen la microbiota normal que compite por nutrientes; logrando con ello, una mejora en la productividad y reduciendo la mortalidad de los animales. Sin embargo el uso indiscriminado de los APC ha sido relacionado con la generación de microorganismos resistentes que repercuten en la salud pública (Torres *et al.*, 2002)

En la búsqueda de nuevas alternativas que maximicen la producción animal y, al mismo tiempo, garanticen la inocuidad sanitaria del producto para los consumidores, surgen los probióticos, los cuales se consideran aditivos de la dieta animal; ya sea en mezcla de especies o en forma independiente. La administración de probióticos en humanos y animales, ha demostrado cierto grado de efectividad, al producir resultados benéficos al mejorar las propiedades de la microbiota nativa intestinal (Higgins *et al.*, 2007).

Son diversas las definiciones de probióticos; sin embargo, en el 2001 una comisión conformada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definieron a los probióticos como microorganismo vivos que administrados en cantidades adecuadas ejercen un efecto beneficioso sobre la salud del hospedador, mediante una mejora de la fisiología del individuo (FAO/OMS, 2001).

Los probióticos proporcionan condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos benéficos del tracto gastrointestinal, funcionando como agentes tróficos, que estimulan y aceleran el proceso de mitosis que ocurre en la región de la cripta-vellosidad; incrementando así, el número de las células y por consiguiente el tamaño de las vellosidades y profundidad de las criptas, resultando una mejor digestión y absorción de los nutrientes, mejorando la calidad del producto final, sin causar riesgos al consumidor (Furlan y Macari , 2004; Araújo *et al.*, 2005).

En este sentido, los probióticos surgen como una alternativa al uso de APC, con la premisa de mantener la inocuidad de la carne; además de generar efectos en el desarrollo del tracto gastrointestinal, que se traducen en una prevención de infecciones intestinales. Debido a la escasez de reportes de este producto en la alimentación del cuy y su efecto en el desarrollo de la histomorfometría intestinal, se justifica la realización del presente estudio, que evaluará el efecto de la suplementación de la dieta de cuyes de engorde con un probiótico líquido sobre el desarrollo de vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas de Lieberkühn, contrastando estos resultados con una dieta control y una dieta que contiene antibiótico.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Situación actual de la crianza de cuyes

El cuy (*Cavia porcellus*), es una especie oriunda de la zona Andina del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia. Es conocido con los nombres de cobayo, curi, conejillo de india, entre otro. Se considera como un producto alimenticio nativo, de alto valor nutritivo y bajo costo de producción. Asimismo, contribuye a la seguridad alimentaria de la población rural de escasos recursos y su crianza tiene como finalidad el aprovechamiento de la carne (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008).

En los países andinos habita una población de aproximadamente 36 millones de cuyes. En el Perú y Ecuador, la crianza se ha difundido en la mayor parte del país; en cambio en Bolivia y Colombia se encuentra circunscrita a determinados departamentos, dando con ello, la menor población animal en estos países (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008).

El consumo de carne de cuy en el Perú para el 2010, sobre un estimado de beneficio de 65 millones de animales anuales con un peso promedio de carcasa de 0.400 kg producidos por una población estable de 23 240 846 animales, y para una población del país proyectada de 27 627 553 habitantes (Instituto Nacional de Estadística e Informática, 2006) se ha considerado un consumo per cápita de 0.940 kg (Velásquez, 2013).

Asimismo desde el año 2000, la carne de cuy (carcasas empacadas al vacío) se ha exportado hacia Estados Unidos y Japón, cumpliendo con la normativa técnica y el perfil de calidad exigida por estos mercados, aunque en pequeñas cantidades aún (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008). En el año 2012, las exportaciones de carne de cuy llegaron a las 11

toneladas; EEUU concentró el 90 por ciento de las adquisiciones y el resto tuvo como destino los mercados de Ecuador y Bolivia (Ministerio de Agricultura y Riego, 2013).

En los últimos años, se viene impulsando y promocionando el consumo de la carne de cuy entre la población, tanto a nivel nacional como internacional debido a la importancia de su crianza, su riqueza genética que contribuye a la economía familiar y, sobre todo, su aporte a la seguridad alimentaria y nutricional. Agregado a ello, se considera necesario estimular el consumo de sus productos y subproductos derivados del cuy. En tal sentido, el Ministerio de Agricultura y Riego de acuerdo al consenso con productores instituciones involucradas con la crianza del cuy, declaró el segundo viernes de octubre de cada año como el Día Nacional del Cuy (Ministerio de Agricultura y Riego, 2013).

2.1.1 Población y producción nacional de cuyes

El Perú posee una población estimada de 23'240,846 cuyes distribuidos principalmente en la sierra 21'462,950, costa 1'439,746 y selva 338,150 (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008).

Los principales departamentos productores de cuyes en Perú son: Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, La Libertad y Lima (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008). De acuerdo a los resultados obtenidos del Censo Nacional Agropecuario de 2012, hay más de 12 millones de cuyes, y las regiones que concentran la mayor crianza son Cajamarca, Arequipa, Ancash, Cusco, Junín y Ayacucho. Mientras en la costa sobresalen Lima y Lambayeque y en selva, Amazonas y Loreto (Ministerio de Agricultura y Riego, 2013).

Según datos obtenidos por el Instituto Nacional de Innovación Agraria, cerca del 74% de la población de Lima es potencialmente consumidora de carne de cuy, lo cual sumado a la demanda creciente de esta carne en provincias, conlleva a una demanda insatisfecha (Instituto nacional de innovación agraria, 2011). Por otro lado, la demanda externa de este producto va en aumento (consumidores ecuatorianos y peruanos que migraron hacia los Estados Unidos); caracterizándose por exigir pesos por encima de los promedios comerciales ofertados en Perú, calidad y continuidad de abastecimiento (Ministerio de Agricultura y Riego, 2008; Vallejos, 2014).

En el IV Censo Nacional Agropecuario de 2012, se obtuvo los siguientes datos a nivel nacional:

Cuadro 1. Población de cuyes a nivel nacional (INEI – IV censo nacional agropecuario 2012).

Departamento	N° de cuyes
Amazonas	327936
Ancash	1643415
Apurímac	1012181
Arequipa	437274
Ayacucho	449887
Cajamarca	2408094
Callao	5321
Cusco	1715374
Huancavelica	348223
Huánuco	687311
Ica	47532
Junín	958796
La libertad	721021
Lambayeque	240664
Lima	740812
Loreto	16312
Madre de dios	2982
Moquegua	138368
Pasco	98222
Piura	116134
Puno	113881
San Martín	340875
Tacna	109221
Tumbes	2446
Ucayali	12748
Total	12695030

2.1.2 Problemática en la producción de cuyes

La producción de carne de cuy en nuestro país, manifiesta una baja eficiencia productiva comparada con otras especies. Desafortunadamente, la falta de conocimiento referente al manejo reproductivo y a los requerimientos nutricionales óptimos para los cuyes, la deficiencia en la cadena logística de suministros, en la prevención y control sanitario en los procesos y la carencia de innovación tecnológica, impiden que la carne de cuy se expanda a mercados nacionales e internacionales (Chirinos *et al.*, 2008).

Actualmente, el éxito de la producción animal intensiva moderna va a depender del manejo altamente eficiente de los alimentos y de la mano de obra. En este sentido, la nutrición animal es fundamental para mantener una producción rentable y ambientalmente segura; otorgando así al consumidor, productos animales seguros y de alta calidad (Martínez, 2011).

En el ámbito cultural, aún existe cierto rechazo hacia la carne del cuy entre personas oriundas de la capital y entre las nuevas generaciones que descienden de migrantes andinos y que residen en Lima. Ya que la asocian con otro tipo evidente de roedor, sobre todo con la rata. La difusión y promoción de la carne del cuy, aún es insuficiente. A pesar de que la población en general rescata sus propiedades nutritivas y de bajo nivel en grasas, el conocimiento sobre las nuevas presentaciones y el desarrollo de nuevos canales de compra son aún escasos en nuestro país (Chirinos *et al.*, 2008).

2.2 Morfología y Fisiología Digestiva Del Cuy

El cuy, especie herbívora monogástrica; según su anatomía gastrointestinal, es un animal fermentador post gástrico cecal, a causa de la existencia de microorganismos presentes en el ciego (Gómez y Vergara, 1995).

Según Sakaguchi (2003), el cuy inicia el proceso de digestión en la boca con la masticación, fragmentando el alimento en pequeñas porciones que se mezclan con la saliva para facilitar la acción de las enzimas digestivas. Posteriormente el bolo pasa a través de la faringe y el esófago hasta llegar al estómago (Rigoni *et al.*, 1993). El estómago del cuy, externamente es un saco piriforme, de una coloración rosada y de textura lisa (Ghoshal y Bal, 1989).

Asimismo, se caracteriza por una estructura glandular simple seguido de un intestino delgado que alcanza 125 cm en la adultez (Snipes, 1982), en donde se almacena el alimento ingerido tras ser parcialmente digerido por el ácido clorhídrico y la acción enzimática de la pepsina, amilasa y lipasa gástricas. En seguida, dicho material alcanza al duodeno, donde la digestión enzimática continúa por las secreciones entéricas, pancreáticas y biliares, además de realizarse la absorción de los compuestos digeridos a través de la pared del intestino delgado (ID), como azúcares,

aminoácidos, grasas, algunas vitaminas y minerales. El material no digerido pasa luego a las siguientes porciones del ID. El paso por el estómago y el ID ocurre en un lapso de dos horas, tiempo menor al detectado en conejos, por lo cual se afirma que el cuy en comparación con el conejo, digiere en un 4- 19 % menos los lípidos y las proteínas (Rigoni *et al.*, 1993).

Continuando el ID, se encuentra el ciego, órgano importante que junto al colon proximal puede contener hasta el 65% de la digesta y alberga microorganismos fermentadores. Cuando el alimento llega al ciego desarrolla un patrón de movimiento de la materia digerida a través del intestino grueso caracterizado por la retención no selectiva de fluidos y partículas groseras. En el caso de los roedores cavimorfos, como el cuy, no separan los fragmentos groseros de los fluidos presentes en la materia digerida una vez que llega al ciego. Esto explicaría en parte la mayor eficiencia para digerir y aprovechar la fibra por parte de los cuyes en comparación con los conejos (Snipes, 1982; Sakaguchi, 2003; Johnson-Delaney, 2006; Vallejos, 2014).

Pese a los procesos ocurridos en el estómago y el intestino delgado la pared celular contenida en la materia vegetal transita casi intacta hacia el ciego, lugar que contiene una microbiota muy compleja, cuyas enzimas tienen acción degradativa sobre la pared celular de esta materia vegetal. La acción de estas enzimas se conoce como digestión fermentativa y se lleva a cabo en aproximadamente 48 horas, producto de este proceso se obtienen ácidos grasos de cadena corta, vitaminas del complejo B y proteína microbiana; pero sólo se absorben a este nivel los ácidos grasos volátiles, vitaminas y agua (Gómez y Vergara, 1995; Vallejos, 2014).

El cuy ha desarrollado un mecanismo de separación colónica, que consiste en movimientos antiperistálticos de los surcos del colon proximal que retornan a los microorganismos desde el colon proximal hacia el ciego, manteniendo así, una población microbiana cecal constante y eficiente para obtener como resultado, una retención selectiva de microorganismos (Sakaguchi, 2003; Vallejos, 2014).

Por otro lado, aquellas bacterias que cumplieron su ciclo de vida en el ciego forman bolos fecales blandos (cecótrofos), con alto contenido de proteína, los que se movilizan rápidamente el intestino grueso y son ingeridos directamente del ano por el mismo roedor (Vallejos, 2014)

La estrategia más efectiva de utilizar el nitrógeno de la dieta en animales herbívoros es la cecotrofia (Sakaguchi, 2003). La cecotrofia es el mecanismo en donde el “pellet” rico en nitrógeno pasa por una segunda digestión en estómago e intestino delgado, con liberación y absorción de un importante conjunto de aminoácidos. Para concluir el proceso, el material no digerido pasa al intestino grueso, sin entrar al ciego para ser excretado como material fecal (Hirakawa, 2001).

2.3 La Salud Intestinal

El concepto de salud intestinal carece de una definición clara en la bibliografía científica, sin embargo, abarca múltiples aspectos positivos del tracto gastrointestinal como: la digestión y absorción eficaz de los alimentos, ausencia de enfermedad gastrointestinal, una microbiota intestinal normal y estable, un estado inmunitario efectivo; es decir un estado de bienestar que permita la expresión del potencial genético del animal (Francesh, 2007; Landeu, 2009; Ramírez, 2016).

El intestino delgado es responsable de procesos importantes ligados a la sobrevivencia del animal, como la digestión y la absorción de los nutrientes de la ración, agregado a ello, se ha demostrado su funcionamiento como órgano con capacidad de producción hormonal, de respuesta inmunológica, y finalmente con funciones de barrera contra la invasión de millones de gérmenes que pueblan el intestino (Maiorka et al., 2002; Vallejos, 2014).

Al quebrarse la homeostasis intestinal, se facilita la colonización de agentes patógenos promoviendo la enfermedad, cuyo desenlace dependerá de la función de la barrera intestinal, el estado inmune y la exclusión competitiva entre las bacterias saprófitas y patógenas (Gidenne y García, 2006; Vallejos, 2014).

Los últimos estudios en nutrición animal y humana evidencian que existen oportunidades para prevenir los desórdenes entéricos mediante dietas funcionales. Basándose en un conocimiento profundo de la interacción entre nutrición y salud, pueden formularse dietas que puedan prevenir eficazmente las enfermedades entéricas o aliviar los efectos adversos de las infecciones (Gardenia, 2014; Vallejos 2014).

2.4 Estrategias Para Actuar Sobre La Salud Intestinal

La alimentación es un punto clave para salvaguardar la salud intestinal. La alimentación y el ecosistema intestinal del animal están interrelacionados, ya que es el sustrato que se usará como fuente de nutrientes tanto por parte de las bacterias como por parte de las células del animal. Por lo cual, se puede modificar la dieta para mejorar la salud intestinal y global de los animales (Miranda-Hevia *et al.*, 2016). A través de la alimentación se pueden usar distintos métodos y combinaciones para manipular la microbiota del tracto gastrointestinal de los animales y evitar así la proliferación de patógenos y la aparición de infecciones (Smith *et al.*, 1999).

Para una óptima salud intestinal es necesario un adecuado equilibrio entre la mucosa intestinal; que incluye el epitelio intestinal y el sistema inmunitario local, la microbiota, así

como con el medio, en el cual se incluye como parte más relevante el alimento (Miranda-Hevia *et al.*, 2016).

Para desarrollar estas estrategias nutricionales es preciso identificar los nutrientes específicos o componentes bioactivos de los alimentos que mejoran los mecanismos de defensa. También es imprescindible conocer qué nutrientes son digeridos antes del íleon y qué nutrientes constituyen el sustrato de la microbiota cecal. Estas estrategias de nutrición deben ser críticas en cuanto a la sensibilidad a las enfermedades digestivas, ya que probablemente se vinculan a los procesos de su propia maduración, incluyendo el desarrollo de la microbiota y el sistema inmune (Gidenne y García, 2006).

Dentro de la producción animal, se aplica gran variedad de compuestos incorporados en los alimentos bajo el rótulo de “aditivos”, que impactan directa o indirectamente en la salud intestinal (Soraci *et al.*, 2010). Sin embargo, muchos de estos aditivos son utilizados de manera incorrecta, pues su uso se basa en el empirismo sin tener en cuenta una adecuada determinación de dosis, ya sea en función del peso corporal o del consumo total de alimento de parte del animal. Existe un abuso en la extrapolación de efectos positivos con otras especies sin algún sustento científico para la especie que se criará (Soraci *et al.*, 2010). Entre estos aditivos encontramos a los antibióticos promotores de crecimiento (APC), coccidiostatos, prebióticos, probióticos, fibras dietéticas, partículas de tamaño grosero y materias primas muy digestibles con contenido bajo o nulo en factores antinutricionales (Smith *et al.*, 1999).

Actualmente, hay un aumento sustancial de las líneas de investigación dirigidas a evaluar productos alternativos para mantener la microbiota intestinal beneficiosa y la salud digestiva, donde se incluyen diversas clases de productos como enzimas, probióticos, prebióticos, fitogénicos y ácidos orgánicos (Ravindran , 2010).

2.4.1 Antibióticos promotores de crecimiento (APC)

Se considera como antibióticos promotores de crecimiento (APC) a cualquier agente con actividad antimicrobiana, administrado a dosis subterapéuticas (partes por millón), que es consumido por un largo período de tiempo (Soraci *et al.*, 2010). Dentro de los APC más empleados en la industria animal están los que actúan sobre las bacterias gram positivas existentes en el tubo digestivo como: bacitracina, clortetraciclina, oleandomicina, penicilina, estreptomicina, virginiamicina, voparcina, flavomicina, avilamicina, la tilosina, espiramicina, flavofosfolipol, monensina, salinomina, eritromicina, entre otros (Colín *et al.*, 1994; Devie *et al.*, 2006) Algunos de estos productos tienen uso exclusivo en la alimentación animal y no se emplean en la terapia humana o veterinaria (Colín *et al.*, 1994).

Los mecanismos de acción de los antibióticos promotores de crecimiento implican modificaciones en los procesos digestivos y metabólicos de los animales, que se traducen en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos y en mejoras significativas de la ganancia de peso. De esta manera, los APC, modifican la excreción de nitrógeno, la eficiencia de las reacciones de fosforilación en las células y la síntesis proteica (Carro y Ranilla, 2002). Asimismo, inhiben fuertemente el catabolismo de la urea y de los ácidos aminados por parte de las bacterias generando un ahorro energético importante para el organismo (Thomke y Elwinger, 1998). Ya que las ureasas bacteriana liberan en el intestino amoníaco haciendo que esta aumente la síntesis proteica y el metabolismo hepático para convertirlo en urea, resultando un ciclo metabólico demandante y costoso en energía (Soraci *et al.*, 2010). Por otro lado, el mecanismo inhibitorio de decarboxilasa y desaminasa sobre los aminoácidos intestinales, permite una mayor biodisponibilidad de los mismos por el hospedador (Thomke y Elwinger, 1998). Los APC también producen modificaciones en el tracto digestivo, que suelen ir acompañadas de cambios en la composición de la flora digestiva (disminución de agentes patógenos), reducciones en el ritmo de tránsito de la digesta, aumentos en la absorción de algunos nutrientes (p.e. vitaminas) (Carro y Ranilla, 2002). Finalmente, los mecanismos de los antibióticos promotores de crecimiento se traducen en un aumento de la eficiencia en el aprovechamiento de los alimentos, mejoras en los parámetros productivos del animal y en la reducción presente en los afluentes de las granjas (Devie *et al.*, 2006).

El uso continuo de antibióticos que se absorben en la alimentación animal y que se emplean en los seres humanos o en animales pueden producir resistencia en los microorganismos, y fallar en la terapéutica (Colín *et al.*, 1994). La microbiota intestinal debido a su alta concentración, facilita la transferencia de resistencias entre bacterias. En el caso de los animales, los genes de resistencia pueden ser diseminados fácilmente en el rebaño por contacto fecal. La resistencia de los microorganismos puede alcanzar al hombre directamente, a través de tratamientos e indirectamente por el consumo de carne y sus subproductos (Shiva, 2007; Vallejos, 2014).

La polémica, centrada principalmente en la posible selección de bacterias resistentes a los antibióticos y en la transmisión a otras de los genes que determinan dichas resistencias, aumentó tras la publicación de algunos trabajos científicos que presentaban datos en apoyo de estas hipótesis. Esto condujo a un proceso de retirada progresiva de los antibióticos promotores de crecimiento, iniciado en los países escandinavos y, desde su ingreso en la Unión Europea, asumido por el resto de los estados miembros (Cepero, 2006; Vallejos, 2014). En este sentido, la Comisión de la Unión Europea hace hincapié en la necesidad de desarrollar alternativas válidas a los APC. Estas alternativas deben cumplir dos requisitos fundamentales: ser eficaces y seguras para la salud humana, salud animal y el medio ambiente (Carro y Ranilla, 2002; Vallejos, 2014).

2.4.1.1 Zinc Bacitracina

Este antibiótico se obtiene a partir de *Bacillus licheniformis* o *subtilis*. Está conformado por un grupo de polipéptidos cíclicos, de alto peso molecular (González, 2009). La Bacitracina de Zinc es el antibiótico más comúnmente utilizado en patologías digestivas, por ser activa frente a bacterias Gram positivas y por ser escasamente absorbibles en el tracto digestivo. La bacitracina actúa por la unión y secuestro del mensajero pirofosfato de undercaprenol (UPP) de la membrana citoplasmática bacterial. Durante la síntesis y transporte de las unidades de monómeros de los peptidoglicanos, el undercaprenol monofosfato (UP) es fosforilado a UPP. El UPP puede regresar a UP por unión a la membrana con la pirofosfatasa para permitir el transporte de subunidades alejadas, de esta manera, impide la formación de la pared celular y hace a la bacteria osmóticamente sensible, llevándola a la lisis. Su acción exige de cationes bivalentes como el Zinc (Velandia, 2008; González, 2009; Vallejos, 2014).

La bacitracina de Zn es utilizado como promotor de crecimiento y terapéutico para infecciones entéricas y superficiales en producciones avícolas (pollos y pavos), porcinas, entre otros (Velandia, 2008).

Las alternativas para el reemplazo de los antibióticos como promotores de crecimiento en la producción animal, podemos enfocarnos bajo dos puntos de vista: el primer punto se basaría en mejorar las estrategias de manejo en el sistema de producción, de tal manera que se eviten las enfermedades y se logre mantener los parámetros productivos; estas estrategias deben ir dirigidas a reducir la incidencia de enfermedades en animales, consiguiendo que no descendan los niveles productivos. El segundo punto para enfocarse sería la propuesta de utilización de otras sustancias, que poseen efectos similares a los antibióticos promotores de crecimiento, sobre los niveles productivos de los animales que pertenezcan a la categoría de aditivos. Entre ellas podemos citar: probióticos, prebióticos, enzimas, extractos naturales y ácidos orgánicos (Shiva, 2007; Vallejos, 2014).

2.4.2 Probióticos.

La palabra probiótico deriva del griego y significa “pro –vida”, en contraposición de la palabra antibiótico que significa “contra-vida” (Coppola y Turnes, 2004).

Los probióticos son microorganismos vivos que al ser agregados como suplemento en la dieta, en concentraciones adecuadas, afectan en forma benéfica al desarrollo de la microbiota intestinal. (De las Cagigas y Blanco, 2002).

Los probióticos inducen las funciones protectoras del sistema digestivo, previniendo las infecciones entéricas y gastrointestinales, por ello son conocidos como bioterapéuticos,

bioprotectores o bioprotectores. Para que un microorganismo sea capaz de realizar esta función protectora tiene que cumplir los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino. (De las Cagigas y Blanco, 2002; Tellez *et al.*, 2006).

Asimismo, para que un microorganismo sea considerado probiótico debe cumplir una serie de requisitos, como contar con sus características *in vitro*, lo que implica conocer la estabilidad fenotípica y genotípica, los patrones de hidratos de carbono y proteínas. Se debe tener en cuenta la resistencia a la acidez gástrica, a la bilis, la adhesión al epitelio intestinal y la resistencia a lisozima (opcional). Otros factores que se deben considerar son la capacidad de usar prebióticos (opcional) y la existencia de ensayos *in vivo* e *in vitro* que demuestren los efectos probióticos adjudicados. Agregado a ello, deben ser reconocido como seguro para la salud y no presentar resistencia a antibióticos ni determinantes de patogenicidad (Tuomola, *et al.*, 2001).

La mayoría de las bacterias que se utilizan como probióticos en los animales de granja son productoras de ácido láctico y pertenecen a las especies *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.* y *Bacillus spp.*, levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y hongos (*Aspergillus oryzae*) (Cortés *et al.*, 2000).

Los probióticos son aditivos totalmente seguros para los animales, el consumidor y el medio ambiente, pero presentan dos inconvenientes principales: la falta de consistencia de su actividad y que su precio es entre un 20 y un 30 % superior al de los APC. Las investigaciones en este campo se centran en identificar claramente los mecanismos de acción de los probióticos para producir nuevos cultivos que presenten un mayor efecto e identificar las condiciones óptimas para su empleo (Carro y Ranilla, 2002).

2.4.2.1 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de los probióticos aún no está completamente descifrado, sin embargo se han citado 4 procesos utilizados por los microorganismos probióticos para producir efectos protectivos en el hospedero que pueden actuar independientemente o coligados. Los cuales son: 1.- **Antagonismo**, mediante la producción de sustancias antimicrobiales (peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y algunos ácidos orgánicos como el láctico, acéticos y propiónico), 2.- **La exclusión competitiva** con microorganismos patógenos por la adhesión a los sitios o por nutrientes (a través de polisacáridos, lectinas), 3.-**Inhibición** de la producción de toxinas bacterianas y 4.- **Modulación** del sistema inmunitario de los hospederos, con la inducción de producción de inmunoglobulinas, aumento de la activación de células mononucleares y de los

linfocitos (De Cagigas y Blanco, 2002; Gusils *et al.*, 2002; Musa *et al.*, 2009). Los primeros 3 procesos son relacionados a las bacteria productoras de ácido láctico y el último es atribuido a las levaduras. (Musa *et al.*, 2009).

2.4.2.2. Interacción de probióticos con el sistema inmune

Estudios recientes han atribuido a los probióticos el mecanismo de acción de inmuno estimulación. La microbiota de un animal tiene un efecto significativo sobre el sistema inmunológico del organismo. El número de linfocitos intraperitoneales, células plasmáticas y placas de Peyer es muy baja en animales libres de patógenos que en animales en regímenes de producción (Fox, 1994). La manipulación de la microbiota intestinal mediante la administración de probióticos puede estimular el sistema inmunitario mediante las siguientes tres vías: a) los probióticos se introducen a través de las células M en el epitelio asociado a folículos de las placas de Peyer (PP) para afectar a los macrófagos y células dendríticas (CDs) debajo del epitelio; b) las CDs en la lámina propia de la mucosa extienden sus dendritas para muestrear los probióticos intraluminales, y c) los probióticos intraluminales estimulan a las células epiteliales para la producción de factores humorales que afectan indirectamente a las células del sistema inmune intestinal (Chiba *et al.*, 2009)

Asimismo, los probióticos generan una mayor actividad de macrófagos y mayor capacidad para fagocitar partículas de microorganismos, incrementando la producción de inmunoglobulinas G y M e interferón γ , y aumentando los anticuerpos locales en las superficies mucosas (Ig A) (Ahmad, 2006).

No todos los microorganismos probióticos inducen el mismo tipo de efectos sobre el sistema inmune o sobre los microorganismos presentes en la luz intestinal, ni lo hacen con la misma intensidad. Los resultados obtenidos han demostrado que algunos lactobacilos usados como probióticos son capaces de estimular el sistema inmune mediante dos vías: La primera, migración y multiplicación de los microorganismos probióticos a través de la pared intestinal estimulando las partes más lejanas, y la segunda, por reconocimiento de organismos probióticos muertos como antígenos que puedan estimular directamente el sistema inmune (Lázaro, 2005).

Por otro lado, la administración de un cultivo a base de *Lactobacillus spp.* posterior al desafío de pollos parrilleros con *Salmonella enteritidis* disminuyó significativamente (respecto de los controles) la recuperación de Salmonella a partir de las tonsilas cecales 24 horas después del tratamiento, probablemente por una estimulación de la respuesta inmune innata (Higgins *et al.*, 2007).

2.4.2.3. Tipos de Probióticos

Los probióticos pueden contener microorganismos definidos y en cantidades definidas, adecuado para cada especie animal, o no tener los microorganismos ni cantidades definidas (Ramos, 2009).

Diferentes especies microbianas han sido usadas como probióticos, incluyendo especies de *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, así como una variedad de especies de levaduras, y cultivos de mezclas desconocidas (Simón *et al.*, 2001). También según Simon *et al.* (2001), especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* han sido usadas más extensivamente en humanos, en cambio especies de *Bacillus*, *Enterococcus* y levadura *Saccharomyces* fueron los microorganismos más usados en animales de producción. Aunque Ramos (2009), afirma que las especies más utilizadas en la preparación de probióticos son: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *L. salivarius*, *L. plantarium*, *L. reuteri*, *L. johonsii*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacillus subtilis* y *B. toyoi*.

No se conoce la total y combinación perfecta entre las diversas cepas de microorganismos para la acción “in vivo”. Es por esta razón no se sabe la causa de que los productos con composición indefinida tienen mejores resultados que los de composición definida (Ramos, 2009). Las variaciones en la eficacia de los probióticos podrían ser debido a las diferencias en las especies microbianas o linajes de microorganismos usados, o a los métodos de preparación del suplemento (Jin *et al.*, 1997). Por eso, independientemente de la composición, Ewing y Cole Patterson (1994) señaló que los efectos benéficos de los probióticos existen con la ingestión de aproximadamente 10^8 a 10^{11} microorganismos por día en humanos, y 10^8 a 10^9 microorganismos por día en animales.

2.5 Intestino Delgado

El intestino delgado, se encarga de la digestión de alimentos, de la absorción de los productos finales de la misma y de la secreción endocrina en todas las especies domésticas (Junqueira y Carneiro, 2006; Vallejos, 2014).

2.5.1 Estructura

El intestino delgado comprende, desde el orificio pilórico hasta la unión ileocecal. En cobayos posee una longitud de 125 cm en adultos y se ubica en el lado derecho de la cavidad abdominal. Asimismo, el intestino delgado está constituido por tres porciones: duodeno, yeyuno

e íleon. Todas estas porciones se unen a la pared abdominal dorsal mediante un mesenterio dorsal continuo (Johnson – Delaney, 2006).

La estructura histológica de la pared intestinal está compuesta, desde adentro hacia afuera, por las siguientes cuatro capas: la mucosa, la submucosa, la muscular y la serosa.

Siendo de forma gradual la transición morfológica entre las capas mencionadas (Gásquez y Blanco, 2004).

2.5.1.1 La capa mucosa

Se encuentra conformada por una lámina epitelial, una lámina propia y una muscular (Gásquez y Blanco, 2004), siendo una capa robusta para el caso del cuy a comparación de otros roedores como la rata (Evans *et al.*, 1971). La superficie se encuentra revestida por un epitelio cilíndrico simple constituida por: enterocitos, células caliciformes, de Paneth, pluripotenciales y enteroendocrinas (Junqueira y Carneiro, 2006). El número y distribución de cada uno de estos tipos celulares varía según la región considerada (Gásquez y Blanco, 2004).

Los enterocitos son las células principales del intestino delgado, tapizan la superficie luminal y su función primordial es la absorción de nutrientes. Se caracterizan por ser cilíndricas y altas, con un núcleo oval situado en la mitad inferior de la célula y rodeado de un citoplasma débilmente acidófilo. Cada célula presenta en el borde apical un ribete en cepillo, compuesto por varias microvellosidades. Cada microvellosidad es una protrusión cilíndrica de la membrana celular que rodea un haz de microfilamentos de actina asociados con otras del citoesqueleto, de aproximadamente 1 μm de largo por 0.1 μm de ancho. Gracias al mucus producido por las células caliciformes y al glucocálix, se tiñe de manera positiva con el método PAS. El glucocálix actúa como agente protector y tiene actividad enzimática por la presencia de hidrolasas específicas destinadas a la digestión terminal de los nutrientes (Junqueira y Carneiro, 2006; Vallejos; 2014).

Las células caliciformes se localizan entre los enterocitos, tanto en el epitelio de la mucosa como en el de las criptas, aumentando su población hacia las porciones caudales del intestino delgado (Bacha y Bacha, 2000; Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2014). Se forman a partir de las células madre, pasando por una etapa intermedia llamada célula oligomucosa, hallada en la cripta, que posee un notable aparato de Golgi y pocos gránulos secretorios, los cuales aumentan mientras disminuye la capacidad mitótica de estas células (Gásquez y Blanco, 2004). El moco secretado es una glucoproteína ácida que forma una película lubricante y protectora sobre el glucocálix de las microvellosidades, interactuando con éste para facilitar la absorción de moléculas (Gásquez y Blanco, 2004).

Las células de Paneth son de forma piramidal y se localizan en la porción basal de las criptas (Junqueira y Carneiro, 2006). Su núcleo se encuentra en la base, y sobre este, se hallan abundantes gránulos de secreción acidófilos y un complejo de Golgi (Gásquez Blanco, 2004). Poseen una marcada actividad de síntesis proteica, produciendo lisozima y péptidos de acción antibacteriana, y así regular la microbiota del intestino delgado (Junqueira y Carneiro, 2006; Vallejos, 2014).

Las células pluripotenciales o columnares indiferenciadas, ocupan sobre todo el tercio inferior de las criptas (Gásquez y Blanco, 2004). Son cilíndricas y poco regulares, presentando características de una célula inmadura con pocas microvellosidades cortas e irregulares (Leeson *et al.*, 1990). Estas células sufren de mitosis frecuentes para conservar la población de los diferentes tipos celulares del intestino (Bacha y Bacha, 2000), siendo imprescindibles en el epitelio debido a la continua pérdida celular a la que se encuentra sometida la vellosidad intestinal, la cual requiere una renovación constante (Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2014).

Las células enteroendocrinas se hallan en las criptas y las vellosidades intestinales secretando péptidos reguladores activos que participan en la secreción gástrica, motilidad intestinal, secreción pancreática y la contracción de la vesícula biliar (Leeson *et al.*, 1990). Mediante métodos inmunohistoquímicos, se han identificado una veintena de estas células (Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2014).

La lámina propia está compuesta por tejido conjuntivo areolar laxo con vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nerviosas y fibras musculares lisas; pudiendo observarse células reticulares primitivas con núcleos grandes, ovales y de coloración pálida, así como linfocitos, macrófagos y células plasmáticas (Leeson *et al.*, 1990; Vallejos, 2014). Esta lámina penetra en el centro de las vellosidades intestinales, donde las células musculares lisas se encargan del movimiento rítmico de estas para la absorción de nutrientes (Junqueira y Carneiro, 2006; Vallejos, 2014).

La capa muscular de la mucosa es una banda delgada que limita con la submucosa, por debajo de las criptas, compuesta por dos finas capas de fibras musculares lisas perpendiculares entre sí. La contracción de sus fibras provoca la aparición de pliegues transitorios de la mucosa (Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2014).

2.5.1.1.1 Especializaciones de la capa mucosa

La capa mucosa presenta especializaciones destinadas al incremento de la superficie interna, facilitando la digestión y absorción de nutrientes: pliegues circulares, vellosidades y

microvellosidades intestinales y criptas intestinales o de Lieberkühn; suponiendo una característica relevante en un órgano donde la absorción es tan intensa (Junqueira y Carneiro, 2006; Vallejos, 2014).

Los pliegues circulares o *plicae circularis* son equivalentes a los pliegues de Kerckring o válvulas conniventes del humano, siendo de desarrollo variable en los mamíferos domésticos y estando conformadas por espirales permanentes de mucosa con un núcleo de submucosa, algunas veces ramificadas, que se pueden extender de dos tercios a más de la circunferencia del intestino, llegando rara vez a formar un círculo alrededor de la luz (Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2104). Estos pliegues inician en el duodeno, desarrollándose al máximo en el duodeno terminal y yeyuno, para luego ir disminuyendo y desapareciendo a la mitad distal del íleon (Leeson *et al.*, 1990; Vallejos, 2014).

La mucosa intestinal se caracteriza por la presencia de proyecciones digitiformes y foliadas de ésta, hacia la luz intestinal. Estas son llamadas vellosidades, y su longitud varía de acuerdo a la especie y actividad fisiológica intestinal (Gásquez y Blanco, 2004). Cada una consta de un núcleo de lámina propia cubierto de epitelio (Leeson *et al.*, 1990).

Asimismo, cada vellosidad tiene en su núcleo una red capilar compuesta de arteriolas, vénulas y un vaso linfático central. Dicha red se caracteriza por ser fenestrada y permeable a las macromoléculas (Leeson *et al.*, 1990). Las vellosidades se contraen favoreciendo el drenaje linfático debido a sus fibras musculares (Gásquez y Blanco, 2004).

Las criptas de Lieberkühn son pequeñas aberturas tubulares que se encuentran entre las vellosidades y se extienden profundamente hasta la *muscularis mucosae*. Presentan en el corte transversal como una luz central revestida de epitelio que continúa desde las vellosidades, representando un aumento de la superficie de la mucosa (Gásquez y Blanco, 2004). La función secretoria y generadora de la cripta se refleja en la naturaleza de los tipos celulares: absortivas, indiferenciadas, de Paneth, mucosas y enteroendocrinas (Leeson *et al.*, 1990; Vallejos, 2014). La reposición del epitelio mucoso se da a partir de la división celular, primariamente dentro de las criptas (Bacha y Bacha, 2000; Vallejos, 2014).

Los pliegues circulares incrementan la superficie intestinal cerca de 3 veces, las vellosidades en 10 y las microvellosidades en 20, siendo responsables al final, de incrementar en 600 veces aproximadamente el área de absorción intestinal (Junqueira y Carneiro, 2006).

2.5.1.2 La capa submucosa

Conformada por tejido conectivo moderadamente denso e irregular (donde abundan las fibras elásticas y puede aparecer el tejido adiposo), sirviendo de soporte a la red arterial, venosa

y linfática que la recorre, así como al plexo nervioso submucoso, interno o de Meissner (Gásquez y Blanco, 2004; Vallejos, 2014).

Las llamadas glándulas de Brunner o duodenales se observan en la porción anterior del intestino, son glándulas tubuloalveolares simples ramificadas, cuyos conductos excretores desembocan en el fondo de las criptas o entre las vellosidades (Gásquez y Blanco, 2004). En los mamíferos domésticos siempre están presentes en el duodeno, pero su límite posterior varía ampliamente (Gásquez y Blanco, 2004). Poseen una secreción viscosa y alcalina (pH 8.1 – 9.3), que se encarga de proteger a la mucosa del contenido gástrico y proporciona un medio adecuado para la actividad de las enzimas pancreáticas al neutralizar el pH del quimo (Junqueira y Carneiro, 2006).

Se evidencia que las glándulas de Brunner contienen urogastrona, péptido que inhibe la secreción del ácido clorhídrico en el estómago y también estimula la proliferación del epitelio, y por ende la renovación rápida de las células del epitelio dentro de las criptas intestinales (Leeson *et al.*, 1990).

Tanto la lámina propia como la submucosa poseen folículos linfoides aislados, cuyo número aumenta caudalmente (más aún en el íleon), donde forman agregados linfoides ubicados en el lado opuesto de la inserción mesentérica, las llamadas Placas de Peyer. Estas placas actúan como una barrera de defensa importante en el animal (Gásquez y Blanco, 2004).

2.5.1.3 La capa muscular

Constituida por dos bandas de fibras musculares lisas, la circular interna y la longitudinal externa, estando unidas por un estrato conectivo rico en fibras elásticas donde se sitúa el plexo nervioso mientérico, externo o de Auerbach, controlando la motilidad intestinal (Gásquez y Blanco, 2004; Junqueira y Carneiro, 2006).

2.5.1.4 La capa serosa

Está formada por una delgada capa de tejido conectivo laxo recubierta en su superficie libre por una capa de células planas o mesotelio que se corresponde con la hoja visceral del peritoneo y es completa, excepto en el borde mesentérico, donde los vasos y nervios abordan la piel intestinal (Gásquez y Blanco, 2004).

2.5.2 Fisiología

Las funciones del intestino delgado son: Secreción, digestión y absorción de nutrientes, regeneración celular y participa activamente como parte del sistema inmune específico y no específico (Alle y Touchette, 1999; Engelhardt y Breves, 2004).

2.5.2.1 Función Secretora

Está mediada por la secreción de moco y bicarbonato por parte de las glándulas de Brunner, la secreción de bicarbonato del epitelio duodenal, la secreción de moco de las células caliciformes y la secreción de Cl⁻ de las glándulas intestinales (Engelhardt y Breves, 2004). El moco y el bicarbonato sirven para proteger a la mucosa del contenido ácido proveniente del vaciamiento gástrico (Engelhardt y Breves, 2004). Estas secreciones son resistentes a la acción de enzimas gastrointestinales y sus glucoproteínas tienen propiedades anfóteras, amortiguando pequeñas cantidades de ácidos o álcalis (Junqueira y Carneiro, 2006).

El moco secretado por las células caliciformes lo protege de los agentes mecánicos y químicos, constituyendo una capa de aproximadamente 0.5 mm de espesor (Engelhardt y Breves, 2004); sin embargo, se sabe que puede ser menor en el caso del cuy (Evans *et al.*, 1971; Vallejos, 2014).

2.5.2.2 Digestión y absorción de nutrientes

La digestión y absorción de carbohidratos se ve ajustada al aporte en la dieta del individuo. Los principales hidratos de carbono que son digeridos en el intestino delgado: el almidón, la sacarosa y la lactosa; los cuales se descomponen en monosacáridos por acción de las enzimas salivales, jugo pancreático y de la membrana de borde en cepillo, posteriormente son absorbidos por medio de un cotransportador de Na⁺ (a excepción de la fructosa que se absorbe por difusión facilitada) y luego pasan por el otro extremo celular por difusión facilitada. (Engelhardt y Breves, 2004).

En la digestión proteica participan endopeptidasas del estómago y páncreas, exopeptidasas del páncreas y de la BBM, así como otras peptidasas unidas a la membrana de borde en cepillo, produciendo aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos. Los aminoácidos se absorben mediante cotransporte de Na⁺ y se expulsan de la célula por difusión simple; mientras que la absorción de di y tripéptidos se realiza por medio del cotransporte de H⁺ (Engelhardt y Breves, 2004; Vallejos, 2014).

Los ácidos nucleicos se descomponen mediante las nucleasas del páncreas y las enzimas unidas a la membrana de borde en cepillo, para dar nucleótidos, bases purínicas y pirimidínicas,

pentosas y fosfatos; los cuales se absorben por medio de sistemas separados de contranporte con Na⁺ de la membrana de borde en cepillo (Engelhardt y Breves, 2004; Vallejos, 2014).

Los lípidos alimentarios más importantes son los triglicéridos, fosfolípidos y colesterol. La digestión de los triglicéridos se realiza en el estómago y en el intestino delgado mediante la lipasa gástrica y lingual estable en el medio ácido, y la lipasa pancreática, formándose ácidos grasos y monoglicéridos. Estos se agrupan formando micelas, las cuales al llegar al yeyuno se esterifican en triglicéridos y junto a una capa de lipoproteína forman quilomicrones que pasarán por exocitosis al espacio intersticial y luego a los capilares linfáticos (Engelhardt y Breves, 2004; Vallejos, 2014).

2.5.2.3 Regeneración celular

La proliferación celular se localiza principalmente en las criptas de Lieberkühn, acompañado de un aumento importante en la síntesis proteica (Gásquez y Blanco, 2004). El ciclo de renovación o extrusión celular varía según el tipo celular y la especie; así, la reposición de los enterocitos y las células caliciformes se da en un período de 4 – 7 días, mientras que la regeneración de las células de Paneth es más lenta, oscilando entre 2 y 4 semanas (Leeson *et al.*, 1990). La vida media de las células epiteliales es de aproximadamente 2 – 3 días (Jeurissen *et al.*, 2002).

La célula blástica se encuentra en un estado de división permanente, y es el origen de los diferentes tipos celulares encontrados en el epitelio intestinal (Gásquez y Blanco, 2004). En la diferenciación celular, se ha demostrado que las nuevas células originadas por mitosis pasan de la cripta a la punta de la vellosidad, pasando por un tipo celular intermedio antes de llegar a su configuración final y luego se desprende; de esta manera hay una renovación constante del epitelio intestinal (Jeurissen *et al.*, 2002; Leeson *et al.*, 1990). El desprendimiento de células en el vértice de la vellosidad se efectúa en la zona de extrusión, señalado por un plegamiento del epitelio que contiene células en degeneración o apoptóticas comprimidas (Leeson *et al.*, 1990; Vallejos, 2014).

Las células cilíndricas, caliciformes y enteroendocrinas realizan una migración ascendente, madurando durante el trayecto; sin embargo, las células de Paneth realizan este ejercicio de manera inversa a partir de un lugar llamado zona de células madre, ubicado sobre la verdadera base de la cripta (Gásquez y Blanco, 2004).

2.5.2.4 Respuesta inmunológica

En el epitelio intestinal se observan células migratorias, en gran mayoría linfocitos, y en menor proporción otros leucocitos (Junqueira y Carneiro, 2006). En el cual se logran observar varios tipos de células del sistema inmune a lo largo del tracto intestinal, como leucocitos polimorfonucleares, linfocitos, macrófagos, dendrocitos y mastocitos; encontrándose a menudo en estrecha colaboración con el sistema nervioso entérico (Liu *et al.*, 2003).

Asimismo se puede apreciar en la lámina propia a las placas de Peyer, las cuales son grandes y pueden ocupar todo el espesor de la mucosa y sobresalir en la superficie. Éstas están revestidas por un epitelio cilíndrico simple, sin que haya vellosidades o criptas de Lieberkühn (Gásquez y Blanco, 2004). En muchas zonas, sobre todo en el íleon, los folículos pueden ser tan abundantes y estar tan juntos que forman grandes masas de tejido linfático visibles a simple vista en el borde antimesentérico (Leeson *et al.*, 1990).

Los linfocitos T y B circulantes conforman el tejido linfático con relación al intestino. Los linfocitos B maduran en los nódulos linfáticos y placas de Peyer para transformarse en células plasmáticas y producir IgA (Leeson *et al.*, 1990; Gásquez y Blanco, 2004).

Las células M se encuentran en el epitelio que cubren las placas de Peyer. Este tipo celular es especializado y tiene una superficie apical con micropliegues, y su superficie basal está en íntima relación con los linfocitos que se encuentran en el epitelio, haciendo posible el transporte de macromoléculas de la luz a estos leucocitos en los que se pueden emprender las respuestas a antígenos extraños al iniciar su maduración en células plasmáticas (Leeson *et al.*, 1990).

El epitelio intestinal se caracteriza por producir un componente glucoproteínico de la secreción que protege y transforma la forma dimérica de la IgA a la IgA secretoria, la cual puede coexistir con las enzimas proteolíticas intestinales y poder combinarse con antígenos, enterotoxinas y bacterias para la protección de la integridad intestinal (Leeson *et al.*, 1990; Liu *et al.*, 2003; Vallejos, 2014).

2.5.3 Relación entre la histomorfometría intestinal y sus efectos en la salud intestinal

La alimentación representa gran parte de los costos de producción. Influye en la integridad de los mecanismos fisiológicos de digestión y absorción de nutrientes, así como también en la integridad de las células epiteliales de la mucosa. Asimismo asegura un estado sanitario adecuado que se ve reflejado en el óptimo desempeño productivo (Andrade da Veiga, 2008).

Por lo mencionado, uno de los factores clave para alcanzar el éxito técnico y económico en la producción animal es el control de la salud intestinal, evitando la colonización de bacterias

patógenas, preservando la integridad del epitelio y modulando el sistema inmunológico. Al mantener una mucosa intestinal sana y delgada, se facilita la absorción de nutrientes y se disminuye los requerimientos metabólicos del sistema gastrointestinal (Landeau, 2009).

Según Jeurissen *et al.* (2002), probablemente los aspectos estructurales del sistema gastrointestinal, como la longitud y el área de la mucosa y de estructuras que la conforman como vellosidades y criptas, limiten más el crecimiento del animal que una deficiencia en la producción de enzimas de este sistema. Zhang *et al.* (2005), mencionaron que el acortamiento de las vellosidades intestinales produce una disminución del área de absorción de nutrientes, mientras que una cripta de Lieberkühn profunda implica una rápida renovación epitelial. Por lo general, las vellosidades intestinales altas en proporción a la cripta de Lieberkühn se asocian con una mucosa intestinal bien diferenciada (Jeurissen *et al.*, 2002); mientras que Schneeman (1982), sugirió que vellosidades intestinales cortas en relación a la profundidad de la cripta de Lieberkühn, poseían menos células de absorción y más células secretoras.

Posterior a la pérdida de grandes áreas de mucosa intestinal a causa del proceso de digestión y absorción de los nutrientes, el epitelio remanente se torna hiperplásico con mayor altura de la vellosidad y profundidad de la cripta, ésta última aumenta la producción y maduración celular a altas velocidades, ocasionando una mayor capacidad absorptiva de nutrientes y electrolitos (Andrade da Veiga, 2008).

2.5.3.1 Parámetros y técnicas de evaluación

Mediante los diversos estudios se ha evidenciado que la salud intestinal se encuentra gobernada por inmunidad, la integridad y funcionalidad de los tejidos intestinales, lo cual a su vez, se encuentra determinada por las características de la microbiota y la pared intestinal (Francesch, 2007). Según lo mencionado, se extraen los siguientes parámetros para la evaluación de la salud intestinal: i) inmunidad intestinal, definida como las células y los productos que pertenecen al sistema inmune en el intestino (forman parte del GALT); ii) integridad intestinal, que engloba a aquellas células y productos que constituyan la barrera contra la fuga o la translocación de componentes de la alimentación, toxinas microbianas y microorganismos de la luz intestinal hacia el tejido submucoso y iii) funcionalidad intestinal, definida como los aspectos involucrados en la degradación del alimento y la absorción de estos. Definitivamente, estos tres aspectos trabajan simultáneamente y en unidad, por lo que son difíciles de separar *in vivo*; pero la mejora de la salud intestinal puede ocurrir en cada uno de ellos y por ende pueden requerir una investigación individual (Jeurissen *et al.*, 2002).

La integridad intestinal fundamentalmente se constituye por la capa continua de células epiteliales y la capa de moco en la parte superior del epitelio (Jeurissen *et al.*, 2002). En este

caso se puede considerar la producción de mucina por medio del conteo de células caliciformes y su estado de maduración, el tipo de mucina (sialomucina y sulfomucina), también la permeabilidad del mucus y de la barrera intestinal (Francesch, 2007). Por lo general se acepta que la integridad de la mucosa y del epitelio intestinal es crucial para la resistencia a las enfermedades entéricas (Mantle y Allen, 1989). Se conoce que la membrana de borde en cepillo forma una superficie absorbente – digestiva y que alteraciones en su organización estructural y funcional, evidenciadas clínicamente, darían una explicación racional a ciertas condiciones perjudiciales para la digestión y la absorción de nutrientes (Holmes, 1971). Con respecto a la capacidad absorbente y a la integridad intestinal, se pueden considerar los siguientes parámetros en cuanto a morfología y morfometría del epitelio intestinal: la arquitectura (forma y disposición de las vellosidades), el tamaño de las vellosidades, la profundidad de las criptas intestinales, el número de enterocitos por vellosidad y el grado de diferenciación (Jeurissen *et al.*, 2002; Francesch, 2007).

Varios autores indican que se puede medir la longitud de la mucosa, la altura y ancho de la vellosidad intestinal, la profundidad de la cripta de Lieberkühn y la relación entre estos, a partir de métodos histológicos de rutina. Sin embargo, la integridad intestinal no puede ser evaluada en el caso de células intestinales aisladas sólo por la medición de la actividad metabólica; tampoco los estudios morfológicos no dan ninguna indicación de las capacidades funcionales de éstas (Evans *et al.*, 1971).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar y tiempo

Los animales fueron criados en la Unidad de Cuyes de la Estación Experimental El Mantaro, del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (EE IVITA – El Mantaro), ubicada en el Km 34 de la carretera central (Huancayo – Jauja), distrito de El Mantaro, provincia de Jauja, departamento de Junín, a una altitud de 3 320 m sobre el nivel del mar. La crianza se realizó entre los meses de febrero, marzo y abril de 2015 con una duración de 10 semanas. Al finalizar el periodo del experimento, se realizó la toma de muestra en la sala de necropsia de la estación en mención.

Posteriormente, el procesamiento de las muestras y la elaboración de láminas histológicas se realizaron en el Hospital María Auxiliadora. La lectura de láminas se realizó en el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.2 Material y diseño experimental

Se utilizaron 50 cuyes machos destetados de 14 días de edad. Pertenecen a la línea materna (Prolíficos-lecheros) de los cuyes reproductores geniales (RG) obtenidos en la Unidad de Cuyes de la EE IVITA- El Mantaro.

La distribución de los animales se realizó de forma aleatoria en 5 tratamientos con 10 repeticiones cada uno, cada repetición representa nuestra unidad experimental. Cada animal fue criado en una poza con espacio y alimento independiente.

3.3 Instalaciones, equipos y materiales

El experimento se realizó en el galpón número 5 de la Unidad de Cuyes de la EE IVITA- El Mantaro donde se seleccionó 50 pozas experimentales con piso de cemento y paredes a base de madera y malla, con dimensiones de 70 cm de largo, 80 cm de ancho y 50 cm de altura. Cada poza fue limpiada, flameada, desinfectada con amonio cuaternario y luego con cal; sobre ésta, se colocó cama nueva (paja), antes de colocar a los animales. Para el suministro de los alimentos se utilizaron forrajeras fijas de malla y alambre galvanizado para el pasto y para el concentrado se emplearon recipientes de arcilla de 0.5 litros de capacidad. Los cuyes recibieron forraje verde y suplemento a discreción.

El conjunto de pozas estuvo bajo condiciones controladas de temperatura (8-24°C), las cortinas de las ventanas se abrían entre las 9:00 y 15:00 hrs para ventilar el galpón y la iluminación, además contaba con el ingreso de luz por dos ventanas de 0.5 x 50 m, adicionalmente ingresaba luz a través de las fibras transparentes en el techo. El espacio vital fue de 0.44 metros cuadrados por cuy para todos los tratamientos. Se utilizaron diferentes materiales como: mandiles, guantes de látex, cajas térmicas de tecnoport, cinta de embalaje, equipo de disección, bolsas plásticas, material de limpieza (detergente, jabón, paños), fijador para muestras histológicas, material de escritorio. Los equipos que se utilizaron en el análisis del estudio fuer una computadora con LAS EZ SOFTWARE instalado, una impresora y un microscopio DM500 Leica - Alemania con cámara ICC50, acoplado a la computadora con el software mencionado.

3.4 Tratamientos

Se evaluaron 5 tratamientos con 10 repeticiones cada una, correspondientes a cinco raciones con diferentes aditivos:

Tratamiento 1: Dieta base + 1 ml. de probiótico

Tratamiento 2: Dieta base + 2 ml. de probiótico

Tratamiento 3: Dieta base + 3 ml. de probiótico

Tratamiento 4: Dieta base + Control (dieta base sin probiótico ni antibiótico)

Tratamiento 5: Dieta base + 300 ppm de Zinc Bacitracina.

3.5 Dieta Experimental y Composición Nutricional

La dieta base consta de forraje a base de *Rye grass* italiano y trébol rojo, principalmente, además de afrecho de trigo como suplemento. El antibiótico fue mezclado con el afrecho de trigo para su administración y el probiótico se administró oralmente.

3.5.1 Forraje:

3.5.1.1 Rye grass Italiano (*Lolium multiflorum*):

Se considera como una planta anual, pero bajo buenas condiciones de manejo se comporta como bianual, o inclusive, como una planta perenne de corta duración. Se desarrolla en matojos y cada planta individual alcanza hasta 60 a 90 cm de altura y el follaje es abundante. (Bernal, 1998; Vallejo, 2014). La variedad Tama es la que se utiliza en el IVITA – El Mantaro, teniendo la siguiente composición nutricional:

Cuadro 2. Composición nutricional del Rye grass italiano a un primer corte (Calsamiglia et al., 2004).

Parámetros	Valores
E.D.(Kcal/kg)	2500
M.S. (%)	23.8
Proteína cruda (%)	19.7
Fibra cruda (%)	19.1
Ceniza (%)	12.4
Extracto etéreo (%)	3.99

3.5.1.3 Trébol rojo (*Trifolium pratense*):

Es una forrajera cortamente perenne, de hábito de crecimiento rastrero (roseta) durante el otoño y erecto durante primavera verano por la elongación de tallos. Se destaca por su altísima capacidad de fijación biológica de N atmosférico. Su calidad es excelente, superando a la alfalfa. Los niveles de digestibilidad se hallan entre 65% - 80% dependiendo del estado fonológico de la planta (Bernal, 1998; Vallejos, 2014). La variedad Queniqueli es la que se utiliza en el IVITA – El Mantaro.

Cuadro 3. Composición nutricional del trébol rojo a un primer corte (Calsamiglia et al., 2004).

Parámetros	Valores
E.D.(Kcal/kg)	2112
M.S. (%)	17.4
Proteína cruda (%)	20.7
Fibra cruda (%)	22.5
Ceniza (%)	11
Extracto etéreo (%)	5.3

3.5.2 Suplementación:

3.5.2.1 Afrecho de trigo:

Conformado por cáscara de grano de trigo desmenuzada por la molienda, el cual se constituye por el pericarpio y un pequeño porcentaje de la parte superficial del albumen del grano de trigo, con o sin germen.

Cuadro 4. Composición nutricional del afrecho de trigo (Calsamiglia *et al.*, 2004).

Parámetros	Valores
E.D.(Kcal/kg)	2260
M.S. (%)	87.7
Proteína cruda (%)	15.1
Fibra cruda (%)	9.8
Ceniza (%)	5.0
Extracto etéreo (%)	3.5

3.5.2.2 Producto evaluado

En este estudio se utilizó un probiótico elaborado a partir de bacterias obtenidas de la mucosa intestinal y de heces del yeyuno e íleon de cuyes de 2, 3, 4,5 y 6 y 60 días de edad, mediante cultivos en medios enriquecidos y medios diferenciales y luego de una previa caracterización fenotípica fueron identificadas por métodos de biología molecular.

El consorcio probiótico está conformado por 06 especies bacterianas y en las siguientes concentraciones:

Cuadro 5. Composición del probiótico líquido

Bacterias	Valores
<i>Enterococcus hirae</i> ,	2.1 x 10 ¹⁰ bacterias/ml 300 MI
<i>Lactobacillus reuteri</i>	3.3 x 10 ¹⁰ bacterias /ml 50 MI
<i>Lactobacillus frumenti</i>	3.1 x 10 ¹⁰ bacterias/ ml 50 MI
<i>Lactobacillus jhonsoni</i> ,	2.2 x 10 ¹⁰ bacterias/ml 50 MI
<i>Streptococcus thoralensis</i> ,	2.3 x 10 ¹⁰ bacterias /ml 50 MI
<i>Bacillus pumillus</i> ,	3.3 x 10 ¹⁰ bacterias /ml 50 MI
Vehículo dilutor acuoso acidificado (Ácido láctico al 25 %)	600 MI
Agua deionizada estéril	100 MI

3.5.2.2.1 Aplicación del probiótico:

El probiótico líquido fue aplicado por vía oral al cuy, empleando una jeringa de 1ml, de la siguiente manera:

1º Aplicación: A partir del 3er. día de edad durante cinco días continuos 1ml, 2ml y 3ml al T1, T2 y T3 respectivamente.

2º Aplicación: A partir del día 16 durante cinco días continuos 1ml, 2ml y 3ml al T1, T2 y T3 respectivamente.

3º Aplicación: A partir del día 46 durante 5 días continuos; 1ml, 2ml y 3ml al T1, T2 y T3 respectivamente.

3.5.2.2.2. Fundamento de la aplicación del probiótico

El esquema de aplicación del probiótico se realizó tratando de replicar lo que se viene aplicando en otras especies animales (cerdos, conejos, bovinos, etc.) y que sigue los siguientes fundamentos:

La primera aplicación al 3er día de edad es para procurar la siembra de las bacterias benéficas del probiótico en el intestino del recién nacido que en los primeros días, es estéril o muy poco colonizado y evitar de esta manera que bacterias patógenas colonicen el intestino. La segunda aplicación a los 16 días de edad es coincidente con la fecha de destete, que es cuando hay cambios en la dieta, estrés en el animal, y también cambio en al microbiota intestinal, y lo que se procura es hacer una nueva siembra de las bacterias probióticas desplazando a las patógenas o potencialmente patógenas que pueden aprovechar estos cambios intestinales. La tercera aplicación a los 46 días es para propiciar una mejor salud intestinal para iniciar un desarrollo y engorde del animal en la última parte de la cría (Castillo, 2006).

3.6 Metodología de la histomorfometría intestinal

Todos los cuyes fueron sacrificados de manera similar para la toma de muestras, a los 84 días de edad según cada tratamiento. Los animales fueron sacrificados utilizando el método de degüello e inmediato desnucado. Este método produce la muerte inmediata del cuy y no da lugar a reacciones de sufrimiento animal como chillidos o movimientos corporales.

3.7 Toma y procesamiento de muestras:

Tras el sacrificio, se extrajo el intestino delgado, para luego tomar muestras de 1 cm de largo a partir de las siguientes porciones:

Duodeno.- a 3 cm del píloro.

Yeyuno.- Sección media de la medición total de las asas yeyunales.

Íleon.- a 3 cm de la unión ileocecal.

Las muestras de 50 animales fueron fijadas en formol bufferado al 10% por más de 24 horas. Posteriormente, las muestras se redujeron porciones de 4 – 5 mm de largo para luego ser lavadas y deshidratadas con alcohol etílico al 70%.

3.8 Preparación de cortes histológicos:

Posteriormente de la deshidratación, las muestras fueron aclaradas en xilol e incluidas en parafina de manera que se puedan obtener cortes transversales de la mucosa intestinal de 5 µm de espesor y ser teñidas con hematoxilina – eosina. Las láminas fueron identificadas mediante códigos correspondientes al animal y al tratamiento al cual pertenecía.

3.9 Lectura de láminas histológicas y parámetros de evaluación:

Las mediciones (en micras) se realizaron según el protocolo adaptado de Gava (2012), autora de Metodología de morfometría intestinal en pollos de engorde, Bravo (2012) y Vallejos (2015). Para la lectura se obtuvieron tres cortes con dirección transversal por animal muestreado, uno para el duodeno, otro para el yeyuno y otro para el íleon. Se seleccionan de 8 a 10 campos a un aumento de 10x. Los campos son de margen cuadrado puesto que el software así lo define. Cada campo contiene de 10 a 20 vellosidades aproximadamente, cada una con sus respectivas criptas. En cada campo, se procede a medir la totalidad de vellosidades íntegras. Todas las mediciones obtenidas en un corte son anotadas y finalmente promediadas, para obtener un único valor correspondiente a un animal en estudio en cualquiera de sus tres secciones intestinales (duodeno, yeyuno o íleon), y así realizar el análisis grupal final. Para esto se utilizó un microscopio de luz LEICA DM500 conectado a un computador que cuenta con el programa LAS EZ SOFTWARE, donde se obtuvieron imágenes a 10x para poder realizar las medidas morfométricas. Se evaluaron los siguientes parámetros morfométricos (en micras) a nivel histológico del intestino delgado del cuy:

3.9.1 Longitud de la vellosidad intestinal:

Se seleccionaron vellosidades íntegras y perpendiculares a la pared intestinal. La vellosidad intestinal comprende desde el ápice de la vellosidad hasta el ápice de la entrada a la cripta de Lieberkühn.

3.9.2 Ancho de la vellosidad intestinal:

Se midió el grosor de las vellosidades seleccionadas, en el punto medio vertical de la vellosidad elegida.

3.9.3 Profundidad de la cripta de Lieberkühn:

Se midieron las profundidades de las criptas de Lieberkühn emprendidas entre las vellosidades seleccionadas, la medición va desde la entrada a la cripta de Lieberkühn hasta la zona basal de la misma.

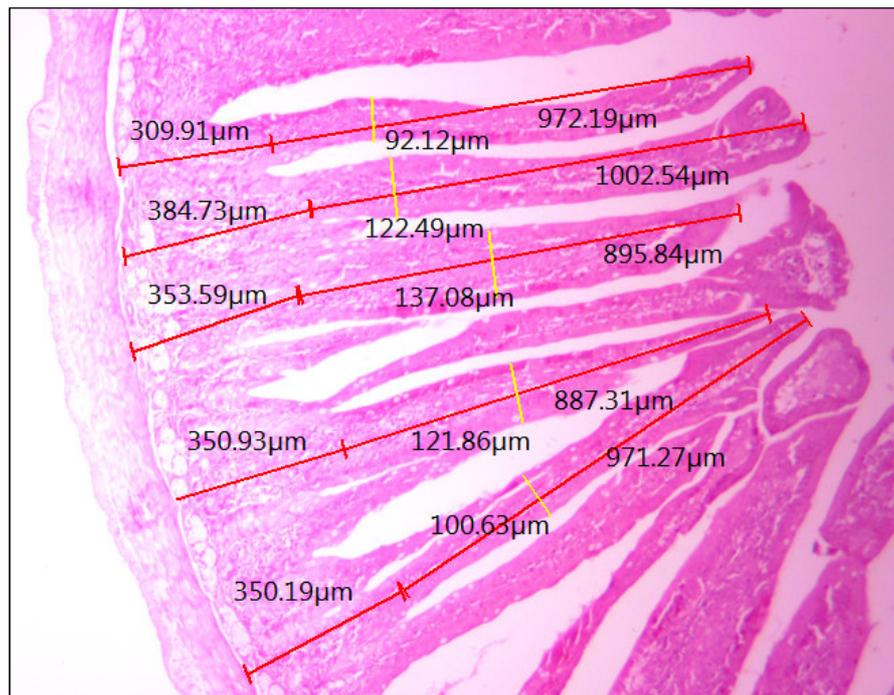


Figura 1. Puntos de referencia para la medición de longitud de vellosidad, ancho de vellosidad y la profundidad de cripta de Lieberkühn.

3.9.4 Relación longitud de la vellosidad y profundidad de la cripta de Lieberkühn:

Esta relación resulta de la división del promedio de la altura de la vellosidad y el promedio de la profundidad de la cripta de Lieberkühn.

$$\text{Relación} = \frac{\text{Altura de la vellosidad intestinal}}{\text{Profundidad de la cripta de Lieberkühn}}$$

Los cambios en la histomorfometría intestinal se evaluaron tomando como base las mediciones del grupo T4 (control) versus las mediciones de los grupos T1, T2, T3 y T5.

3.10 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, trabajándose con cinco tratamientos de 10 repeticiones cada uno. Cada repetición fue una unidad experimental. Para la toma de muestra se tomaron los 10 animales por tratamiento para ser sacrificados al día 84 de edad. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza para determinar diferencia estadística significativa entre tratamientos. En los casos positivos, se aplicó la prueba de Duncan. Ambas pruebas estadísticas fueron analizadas con el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System).

IV. RESULTADOS

En el cuadro 6 se observa que la longitud de las vellosidades intestinales en el duodeno, yeyuno y en el íleon a los 84 días de edad, no existe diferencia estadística ($P < 0.05$) entre los tratamientos con el probiótico líquido frente al control ni al tratamiento con antibiótico ni entre ellos mismos. Sin embargo, en el duodeno, se observa que los tratamientos suplementados con probiótico líquido muestran una mayor longitud de vellosidad en un 9%, 13% y 13% para los tratamientos con 1ml, 2ml y 3ml respectivamente frente al control. Asimismo, presentan una mayor longitud de vellosidad en un 7.5% para los tratamiento con 2ml y 3ml con respecto al tratamiento con antibiótico.

Cuadro 6. Efecto de la suplementación de un probiótico líquido sobre la longitud de vellosidad intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.

	1ml PL SECCIÓN T1	2ml PL T2	3ml PL T3	CONTROL T4	ZN BACITRACINA T5
Duodeno	696.6 \pm 74.0 ^a	720.1 \pm 74.1 ^a	720.1 \pm 74.1 ^a	636.8 \pm 74.0 ^a	669.9 \pm 74.1 ^a
Yeyuno	483.0 \pm 58.1 ^a	487.7 \pm 58.0 ^a	456.2 \pm 58.0 ^a	454.0 \pm 58.1 ^a	437.1 \pm 58.0 ^a
Íleon	271.0 \pm 28.5 ^a	286.52 \pm 28.6 ^a	254.2 \pm 28.5 ^a	245.1 \pm 28.5 ^a	308.5 \pm 28.5 ^a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Cuadro 7. Efecto de la suplementación de un probiótico líquido sobre el ancho de vellosidad intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.

	1ml PL	2ml PL	3ml PL	CONTROL	ZN
SECCIÓN	T1	T2	T3	T4	BACITRACINA
					T5
Duodeno	123.0 \pm 11.1 2 ^a	117.5 \pm 11.12 ^a	123.69 \pm 11.12 ^a	127.0 \pm 11.12 ^a	119.0 \pm 11.12 ^a
Yeyuno	135.4 \pm 20.6 ^a	125.85 \pm 20.6 ^a	113.40 \pm 20.6 ^a	125.06 \pm 20.6 ^a	125.16 \pm 20.6 ^a
Íleon	170.7 \pm 21.7 ^a	121.6 \pm 21.7 ^b	127.6 \pm 21.7 ^{a,b}	126.10 \pm 21.7 ^b	126.3 \pm 21.7 ^b

^{a, b} Superíndices diferentes dentro de filas indica diferencia estadística ($p < 0.05$)

En el cuadro 7 se muestran los resultados de los tratamientos para el ancho de vellosidades intestinales a los 84 días de edad. En donde en la sección del duodeno y yeyuno, no se observan diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos con probiótico líquido frente al control, ni frente al tratamiento con zinc bacitracina ni entre ellos mismos. Sin embargo en el yeyuno, el tratamiento con 1ml de probiótico líquido es un 8.3% mayor que el control y un 8,1% mayor que el tratamiento con antibiótico. Para este mismo parámetro, a nivel del íleon, se observa que los tratamientos suplementados con probiótico líquido muestran un mayor ancho de vellosidad en un 35% y 1.2% para los tratamientos con 1ml y 3ml respectivamente frente al control ($P < 0.05$); los mismos muestran una diferencia de 35% y 1% respectivamente frente al tratamiento suplementado con Zinc Bacitracina ($P < 0.05$). Además se muestran diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre el tratamiento suplementado con 1ml de probiótico líquido frente a los tratamientos suplementados con 2ml y 3ml de probiótico, obteniendo una diferencia de 40% y 34% respectivamente sobre estos.

Cuadro 8. Efecto de la suplementación de probiótico líquido sobre la profundidad de la cripta intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de

	1ml PL	2ml PL	3ml PL	CONTROL	ZN
SECCIÓN	T1	T2	T3	T4	BACITRACINA
					T5
Duodeno	301.2 \pm 25.6	301.48 \pm 25.6	274.0 \pm 25.6	302.3 \pm 25.6	259.98 \pm 25.6
Yeyuno	248.1 \pm 34.2	238.76 \pm 34.2	249.1 \pm 34.2	236.54 \pm 34.2	213.8 \pm 34.2
Íleon	175.95 \pm 27.9 ^{a,b}	198.2 \pm 27.9 ^{a,b}	162.9 \pm 27.9 ^b	191.3 \pm 27.9 ^{a,b}	221.9 \pm 27.9 ^a

^{a,b} Superíndices diferentes dentro de filas indica diferencia estadística ($p < 0.05$)

En el cuadro 8 se muestran los resultados de los tratamientos para la profundidad de las criptas intestinales a los 84 días de edad. En donde en la sección del duodeno y yeyuno, no se observan diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los tratamientos con probiótico líquido frente al control, ni frente al tratamiento con zinc bacitracina ni entre ellos mismos. Con respecto al íleon, para este mismo parámetro, el tratamiento con antibiótico muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) frente a los demás tratamientos. Donde existe una diferencia de un 15% mayor al control y 26%, 12%, 36% respectivamente para los tratamientos con 1ml, 2ml, 3ml de probiótico líquido.

Cuadro 9. Efecto de la suplementación de probiótico líquido sobre la relación longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal en el duodeno (μm), yeyuno e íleon en cuyes de engorde a los 84 días de edad.

SECCIÓ N	1ml PL T1	2ml PL T2	3ml PL T3	CONTROL T4	ZN BACITRA CINA T5
Duodeno	2.365 ^a	2.415 ^a	2.677 ^a	2.130 ^a	2.594 ^a
Yeyuno	2.004 ^a	2.040 ^a	1.863 ^a	1.961 ^a	2.087 ^a
Íleon	1.5315 ^a	1.507 ^a	1.687 ^a	1.3145 ^a	1.494 ^a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el cuadro 9 se muestran los resultados de los tratamientos para sobre la relación longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal a los 84 días de edad. En donde en la sección del duodeno, yeyuno e íleon, no se observan diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos con probiótico líquido frente al control, ni frente al tratamiento con zinc bacitracina ni entre ellos mismos. Sin embargo, en la sección del duodeno se observa que la longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal es mayor en un 11%, 13% y 25% para los tratamientos con 1ml, 2ml y 3ml respectivamente frente al control. Asimismo, para este mismo parámetro es mayor en un 3.2% para el tratamiento suplementado con 3ml de probiótico con respecto al tratamiento con antibiótico.

A nivel de yeyuno, se muestra que la relación longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal es mayor en un 2.2% y 4% para los tratamientos con 1ml y 2ml respectivamente frente al control. Con respecto a la sección del íleon, se observa que este mismo parámetro es mayor en 17%, 14% y 28% para los tratamientos con 1ml, 2ml y 3ml de probiótico respectivamente frente al control. Además, frente al antibiótico se observa que la relación longitud de vellosidad/profundidad de la cripta intestinal es mayor en un 2.5%, 0.9% y 13% para los tratamientos con 1ml, 2ml y 3ml de probiótico líquido en la dieta respectivamente.

V. DISCUSIÓN

La ausencia de diferencia estadística entre medias de tratamientos para el parámetro de longitud de vellosidad, ancho de la vellosidad, profundidad de la cripta y relación longitud de la vellosidad/profundidad de la cripta del duodeno y yeyuno de cuyes de engorde a los 84 días, no son concordantes con los resultados obtenidos por Leone *et al.*, 2003 que tras la adición de cultivos de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus johnsonii* y *Saccharomyces cerevisiae* en la ración de pollos de engorde, observaron efectos positivos a nivel de la longitud de las vellosidades intestinales, sobre todo en la sección del duodeno, con un aumento del 39.74% (0.315 mm), debido a un aumento en la producción de ácidos orgánicos en estas aves. Al igual que Pelicano *et al.*, 2003 que evaluaron la morfometría y estructura de la mucosa intestinal de pollos de engorde a los 42 días con dietas con diferentes probióticos. Observando una menor altura de las vellosidades en el duodeno en las aves pertenecientes al grupo control, comparado con las aves que recibieron los probióticos ($p < 0.01$). Sin embargo en el yeyuno e íleon no encontró los mismos resultados. Con respecto a la profundidad de las criptas, no se evidenció diferencia significativa entre los tratamientos con probióticos y el control. Resultados similares manifiesta Ramos (2011), que observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) con el uso de probióticos en la dieta apenas sobre la altura de las vellosidades del duodeno, no encontrado diferencia entre los tratamientos para los segmentos de yeyuno e íleon ($p > 0.05$). Sobre la profundidad de la cripta de duodeno, yeyuno e íleon no se halló diferencia significativa. Asimismo, Song *et al.*, 2014 evidenciaron que los probióticos suplementarios (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus plantarum*) aumentaron ($P < 0.05$), la altura de las vellosidades del duodeno y no presentaron ningún efecto sobre la profundidad de cripta, así como tampoco sobre la relación al largo de la vellosidad y profundidad de cripta. Serrano (2015), al evaluar la inclusión de diferentes

niveles de probiótico en el agua de bebida de pollos encontró efectos sobre la altura de las vellosidades a nivel de duodeno y ningún efecto sobre la profundidad de cripta, así como tampoco sobre la relación alto de vellosidad y profundidad de cripta. Agregado a ello, este estudio resalto que la inclusión de dosis baja de probióticos resultó ser suficiente para incrementar el alto de vellosidad.

La variación en determinadas dosis es también reportada por Samanya y Yamauchi (2002), quienes obtuvieron vellosidades más altas al incluir un 0,2% de probiótico en el alimento, y por el contrario dosis superiores no fueron eficaces. Sen *et al.*, 2012 encontraron vellosidades más altas al suplementar con 0,30% y 0,45% de probiótico en el alimento, siendo dosis inferiores ineficaces. El efecto relacionado a una dosis en particular podría deberse a diversos factores, como la edad, los microorganismos que conforman el probiótico, dado que existen determinados efectos relacionados a determinadas cepas. También la viabilidad del producto tiene un rol fundamental, así como su capacidad de persistir en el hospedero (Serrano, 2015).

Por otro lado, Bravo (2012) evaluó la morfometría intestinal en cuyes suplementados con diferentes niveles de ácidos orgánicos (100ppm, 200ppm y 300ppm) comparándolo con un tratamiento control y un tratamiento con antibiótico, a los 49 días y a los 84 días. Del cual, observó que la inclusión de ácidos orgánicos tiene un efecto positivo sobre la morfometría intestinal, fundamentalmente en cuyes de crecimiento, obteniendo mejoras en el área y la relación Longitud - profundidad de los tres segmentos intestinales, apoyándose en vellosidades más altas y criptas menos profundas, siendo la respuesta más consistente con a las dosificaciones de 200 y 300 ppm. Asimismo se evidencia que la suplementación con butirato de sodio en la dieta de cuyes de engorde, mejora la relación entre el largo de vellosidades respecto a la profundidad de las criptas de Lieberkühn, otorgando vellosidades más largas y criptas menos profundas. Al evaluar diferentes niveles de butirato de sodio (100ppm, 200ppm y 300ppm), se observó mejores resultados con el nivel más alto (300ppm) respecto al largo de las vellosidades comparado con el control ($p < 0.05$). Para el ancho de vellosidades, en el duodeno y yeyuno no existió diferencias significativas, sin embargo a nivel del íleon los tratamientos con butirato de sodio muestran mayor desarrollo que el tratamiento control (Vallejos, 2014).

Dos Santos *et al.*, 2016; observaron que las aves que consumieron el agua de bebida con bacterias probióticas indefinida líquida, microbiota intestinal de aves SPF (Specific Pathogen Free) bacterias anaerobias, bacterias del genero *Enterococcus* y bacterias productoras de ácido láctico presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) al evaluar la altura de las vellosidades intestinales del duodeno, a los 5 días de edad. Sin embargo no se encontró diferencia significativa para este parámetro en el yeyuno e íleon. Las aves que recibieron este probiótico

líquido, a nivel de yeyuno, presentaron relación mayor vellosidad - cripta, que aquellas que consumieron el tratamiento control; mientras que en el íleon no hubo tal diferencia.

Por otro lado, los resultados obtenidos en este estudio se asemejan a los obtenidos por Rodríguez *et al.*, 2010, que tampoco encontraron efectos sobre el alto, ni el ancho de las vellosidades intestinales luego de suministrar probióticos a partir del día 21 de crecimiento a pollos de engorde. Asimismo estudios revisados en porcinos evidenciaron que la longitud de las vellosidades y la profundidad de las criptas no se vieron afectadas por el uso de diferentes especies de probióticos. Tal es el caso de Walsh *et al.*, 2007, quienes suplementaron cerdos de 21 días de edad con *Lactobacillus acidophilus* y *Enterococcus faecium*, vía oral una única dosis de 5ml con 10^9 UFC/L y Marinho *et al.*, 2007, quienes suplementaron cerdos de 35 días de edad con *Saccharomyces cerevisiae* en el alimento la dosis de 6×10^8 UFC/kg por 21 días.

Para explicar la diferencia de la altura de las vellosidades duodenales entre los tratamientos con probióticos y el tratamiento control (sin aditivos), se debe tener en cuenta el equilibrio entre dos procesos: renovación celular (proliferación y diferenciación) y la pérdida de las células (extrusión) que ocurre normalmente en el ápice de las vellosidades, determinan un recambio celular (síntesis – migración – extrusión) constante, o sea, el mantenimiento del tamaño de las vellosidades, consecuentemente, el mantenimiento de la capacidad digestiva y absorbiva del intestino (Uni *et al.*, 1998). El número y tamaño de las vellosidades depende del número de células que lo componen. Así, cuanto mayor el número de células, mayor el tamaño de la vellosidad y por consiguiente, mayor es el área de absorción de nutrientes. De esta forma la absorción solamente se efectuará cuando haya integridad funcional de las células de las vellosidades, tanto en la membrana luminal como en la membrana baso lateral (Serrano, 2015). Bajo estos argumentos, cuando un organismo es desafiado por algún agente patogénico, ocurre un desequilibrio en el recambio, a favor de uno de los dos procesos anteriormente mencionados, generando una modificación en la altura de las vellosidades (Dos Santos *et al.*, 2016).

En la literatura, diferentes investigaciones indican que el uso de probióticos en la alimentación animal, mejora la integridad intestinal, debido a sus efectos sobre el ambiente luminal. Sin embargo, los resultados de las investigaciones con probióticos, hasta el momento, son bastante contradictorias en cuanto a su eficiencia. Esta variación se puede deber a factores relacionados con la edad de los animales, la fabricación del producto, el tipo de microorganismo que se utiliza y la viabilidad del probiótico después de la preparación, los factores de manejo o ambientales, la vía de administración, las condiciones higiénicas del galpón (Torres-Rodríguez *et al.*, 2007), la utilización de antibióticos en combinación con prebióticos (Vicente *et al.*, 2007). Asimismo, los hallazgos obtenidos en esta investigación están relacionados al bajo desafío de campo en que el experimento fue realizado.

VI. CONCLUSIÓN

Los diferentes niveles de probióticos suplementados en este estudio, no tienen un efecto significativo sobre la histomorfometría intestinal en cuyes de engorde de 84 días de edad en las condiciones de bajo desafío de campo.

VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto de la suplementación con probióticos en cuyes de engorde sometidos a factores de estrés.
2. Evaluar el efecto de la suplementación con probióticos en cuyes de engorde positivos a *Salmonella* spp. para conocer la capacidad de respuesta frente a esta enfermedad que es la principal causa de mortalidad en la crianza de estos animales.
3. Realizar experimentos utilizando probiótico con prebióticos (simbióticos) esperando se obtengan resultados superiores a los obtenidos en este estudio.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Ahmad I. Effect of probiotics on broilers performance. 2006. Int J Poult Sci. 5; 593.
2. Allee GL, Touchette KJ. 1999. Efectos de la nutrición sobre la salud intestinal y el crecimiento de lechones. En: Avances en nutrición y alimentación animal. XV Curso de especialización. FEDNA. Engelhardt WV, Breves G. 2004. 1a ed. Fisiología veterinaria. España: Editorial Acribia. 704 p.
3. Andrade da Veiga A. 2008. Promoviendo el crecimiento naturalmente. En: Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina. Argentina: Alltech [Internet], [09 de Enero 2017]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-ix_congreso_pp/07-crecimiento.pdf.
4. Araújo, L. F.; Gheler, T. R.; Prata, M. F. 2005. Ácido benzóico para leitões no período pós-desmame. Anais: XII Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos. P. 331-332.
5. Bacha WJ, Bacha L. 2000. Atlas colorido de histología veterinária. 2a ed. Brasil: Editoria Roca LTDA. 457 p.
6. Bravo A. 2012. Efecto de la suplementación de ácidos orgánicos sobre la morfometría intestinal en cuyes (*Cavia porcellus*) de crecimiento y engorde. Tesis Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 76p.
7. Carro MD, Ranilla MJ. 2002. Los aditivos antibióticos promotores de crecimiento de los animales: Situación actual y posible alternativas. [Internet], [1 de Febrero del 2017]. Disponible en: http://www.produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/01-aditivos_antibioticos_promotores.pdf
8. Castillo MSG. 2006. Development of gut microbiota in the pig: modulation of bacterial communities by different feeding strategies. Tesis Doctoral de Producción Animal del

Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona. 233p. [Internet], [28 de setiembre 2016]. Disponible en:

9. Cepero BR. 2006. Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. [Internet], [1 de Febrero del 2017]. Disponible en: http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1142587453a.pdf
10. Chiba, Y.K., Nagata, S., Wada, M., Bian, L., Wang, C., Shimizu, T., Yamashiro, Y., Kiyoshima-Shibata, J., Nanno, M y Nomoto, K. 2009. Well-controlled proinflammatory cytokine responses of Peyer's patch cells to probiotic *Lactobacillus casei*. Immunology, 130(3), 352-362.
11. Chirinos O, Muro K, Concha W, Otiniano J, Quezada J, Ríos V. 2008. Crianza y comercialización de cuy para el mercado limeño. Universidad ESAN. [Internet], [7 de Febrero del 2017]. Disponible en: http://repositorio.esan.edu.pe/bitstream/handle/ESAN/99/Gerencia_global_08.pdf?sequence=1.
12. Colín AL, Morales BE, Avila GE. 1994. Evaluación de promotores del crecimiento para pollos de engorda. Vet. Méx., 25(2): 141.
13. Coppola. M. M; Turnes, C. G. 2004. Probióticos e resposta immune. Ciencia Rural, v. 34, n.4, p.1297-1303,2004.
14. Cortés A, Ávila E, Casaubon MT, Carrillo S. 2000. El efecto de *Bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda. Vet Mex 31(4): 301-308.
15. De las Cagigas A, Blanco J. 2002. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Revista Cubana Aliment Nutr 16 (1): 63-68.
16. Devie P, Le Goaziou A, Divol A, Olivon M, Guilbert G, Petit J, Laurent S. 2006. Les antibiotiques dans l'alimentation animale. [Internet], [7 de marzo del 2017]. Disponible en: <http://www.univ-brest.fr/esmisab/sitesc/Prod-Anim/antibio.pdf>.
17. Dos Santos, J. R., Mendes, A. S., Rossi, P., Cella, S. P., Narváez-Solarte, W., Carvalho, E. H., Takahashi, S. E. 2016. Probióticos y simbióticos en el rendimiento y la morfometría intestinal de pollos de engorde desafiados con *Salmonella enteritidis*. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 17(9), 1-16.
18. Evans EM, Wrigglesworth JM, Burdett K, Pover W FR. 1971. Studies on epithelial cells isolated from guinea pig small intestine. J Cell Biol 51: 452-464.
19. Ewing, W. N.; Coles, D. J. A. 1994. The living gut: An introduction to microorganisms in nutrition, N. Ireland: Context, 220 p.
20. FAO/OMS. 2001. Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including poder milk with live lactic acid bacteria.

21. Fonseca, B.; Beletti, M.; Da Silva, M.; Da Silva, P.; Duarte, I.; Rossi, D. 2010. Microbiota of the cecum, ileum morphometry, pH of the crop and performance of broiler chickens supplemented with probiotics. *R. Bras. Zootec.* 39(8):1756-1760
22. Fox S. 1994. Probióticos en la nutrición animal. *Mundo Porcino* No 17 Ene- Feb 1994. 28.32p.
23. Francesch M. 2007. La salud intestinal en pollos. En: Simposio internacional Biovet. Tarragona: Cámara de Comercio de España.
24. Furlan, R.L.; Macari, .M.; Luquetti, B.C. 2004. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e Flora d'exclusão competitiva. In: Simpósio Técnico de Incubação Matrizes de Corte Nutrição, Balneário Camboriú, Santa Catarina,6-28.
25. Gardenia T.2014. “Relación entre harina de yacón o aceite de copaiba dietaria y performance e integridad intestinal de pollos inoculados con coccidias”. Tesis Magister Scientiae en Nutrición. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina.83p.
26. Gásquez A, Blanco A. 2004. Tratado de histología veterinaria. 1a ed. España: Editorial Masson S.A. 512 p.
27. Gava S. 2012. Metodologia de morfometria intestinal em frangos de corte. Tesis Magister en Ciencias Veterinária.: Universidad Federal Do Rio Grande Do Sul.51p
28. Ghoshal NG, Bal HS. 1989. Comparative morphology of the stomach of some laboratory mammals. *Laboratory Animals.* 23: 21-29.
29. Gidenne T, Garcia J. 2006. Nutritional strategies improving the digestive health of the weaned rabbit. En: Recent advances in rabbit sciences. 1a ed. Bélgica: Animal Science Unit – Institute for Agricultural and Fisheries Research. 560 p.
30. Gómez C, Vergara V. 1995. Fundamentos de la nutrición y Alimentación. En: Serie Guía Didáctica: Crianza de cuyes. INIA-DGTT. Lima. Perú. 27-35p.
31. González M HM. 2009. Evaluación de la harina de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) como prebiótico en dietas de pavos de engorde. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 81 p.
32. Gusils C, Buzazha M, González S. 2002. Preliminary studies to design a probiotic for use in swine feed. *Interciencia* 27(8): 409-413.
33. Higgins SE, Erf GF, Higgins JP, Henderson SN, Wolfenden AD, Gaona-Ramirez G, Hargis BM. 2007. Effect of probiotic treatment in broiler chicks on intestinal macrophage numbers and phagocytosis of *Salmonella Enteritidis* by abdominal exudate cells. *Poult Sci.*; 86:2315—21.
34. Hirakawa H. 2001. Coprophagy in leporids and other mammalian herbivores. *Mammal Rev* (32) 2: 150-152.

35. Hollister AG, Cheeke PR, Robinson KL, Patton NM. 1990. Effects of dietary probiotics and acidifiers on performance of weanling rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 13: 6-9.
36. Holmes R. 1971. Progress report: The intestinal brush border. *Gut*, 12: 668-677.
<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5671/mcsg1de1.pdf>
37. Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI] 2012. IV Censo Nacional Agropecuario 2012 (CENAGRO): Cuadros estadísticos. [Internet], [07 de octubre 2016]. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>
38. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) 2011. Producción de Cuyes [Internet], [06 de agosto de 2016]. Disponible en: <http://www.inia.gob.pe/capacitacion-a-distancia/cap-cursos-virtuales/160-capacitacion/cursos-2014/758-produccion-de-cuyes>.
39. Jeurissen S HM, Lewis F, Van der Klis JD, Mroz Z, Rebel J MJ, Ter Huurne HM. 2002. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. *Curr Issues Intest Microbiol*, 3: 1-14.
40. Jin, L. Z. 1997 Probiotic in poultry: modes of action. *Word's Poultry Science Journal*, v.53, p. 351-368.
41. Johnson-Delaney C. 2006. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. *Eastsid Avian & Exot Ani Med Cent Publ*, 110: 9-17.
42. Junqueira LC, Carneiro J. 2006. *Histología básica*. 6a ed. España: Editorial Masson S.A. 640 p.
43. Landeau E. 2009. Cuando la nutrición ayuda la salud intestinal de pollos. [Internet], [09 de Enero 2017]. Disponible en: <http://74.220.215.75/~avicultu/articulos/?seccion=ver&categoria=nutricion&nda=nut019>.
44. Lázaro C. 2005. Efecto de probióticos en el alimento de marranas sobre los parámetros productivos de lechones. *Rev. Investig. Vet. Perú*, 16(2): 97-102.
45. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. 1990. *Texto atlas de histología*. 1 ed. México: Editorial Interamericana Mc Graw – Hill. 741 p.
46. Leone E, Alves de Souza P, Alves de Souza H, Oba A, Norkus E, Kodawara L, Azevedo de Lima T. 2003. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 98(547): 124-134.
47. Liu S, Hu HZ, Gao N, Gao C, Wang G, Wang X, Peck OC, Kim G, Gao X, Xia Y, Wood JD. 2003. Neuroimmune interactions in guinea pig stomach and small intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284: 154-164.

48. López, N.; Afanador, G.; Ariza, C. 2008. Evaluación del efecto de la suplementación de levaduras sobre la morfometría de vellosidades intestinales y productos de la microflora en pollos. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 55(1):63-76.
49. Maiorka, A.; Boleli, I. C.; Macari, M. 2002. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: funep/unesp, p. 113-123.
50. Mantle M, Allen A. 1989. Gastrointestinal mucus. En: *Gastrointestinal secretion*. 1a ed. Inglaterra: Editorial Davison JS University Press. p 202-229.
51. Marinho MC, Pinho MA, Mascarenhas RD, Silva FC, Lordelo MM. 2007. Effect of prebiotic or probiotic supplementation and ileo rectal anastomosis on intestinal morphology of weaned piglets. *Livestock Science*; 108:240-243.
52. Martínez C MA. 2011. Manteniendo la salud intestinal en la avicultura. [Internet], [14 de octubre 2017]. Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/articles/1980/manteniendo-la-salud-intestinal-en-la-avicultura>.
53. Michelin AC, Scapinello C, Natali MRM, Furlan AC, Sakaguti ES, Faria HG, Santolin MLR, Hernandez AB. 2002. Utilização de probiótico em dietas para coelhos em crescimento: ensaio de digestibilidade, avaliação da morfometria intestinal e desempenho. *Rev. Bras. Zootec.*, 31, 2227-2237.
54. Ministerio de Agricultura y riego 2013. Cuyes. [Internet], [06 de agosto 2016]. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal/noticias-antteriores/notas-2013/9721-minagri-promueve-consumo-de-cuy-para-elevar-los-ingresos-de-las-familias-rurales-de-zonas-altoandinas>.
55. Ministerio de Agricultura y riego. 2008. Cuyes. [Internet], [06 de febrero 2016]. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-produccion/300-cuyes>.
56. Miranda-Hevia et al. 2016. Herramientas para mejorar la salud intestinal en el ganado porcino. [Internet], [24 de Enero del 2017]. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/15177/articulos-porcino/herramientas-para-mejorar-la-salud-intestinal-en-el-ganado-porcino.html>.
57. Musa H, Wu S, Zhu C, Zhu G. 2009. The potential benefits of probiotics in animal production and health. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8(2): 313-321.
58. Pelicano, E.; Souza, P.; Souza, H.; Figueiredo, D.; Boiago, M.; Carvalho, S.; Bordon, V. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Braz. J. Poul. Sci.* 7(4):221-229.

59. Pelicano, E.R.L.; Souza, P.A; Souza, H.B.A. 2003. Morfometria e ultraestrutura mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.98, n547, p. 125-134.
60. Ramírez S. 2016. Feeding for Gut Health. Assessing the right strategy for the selection of additives (A nutritionist's view). En: The 4th IHSIG (Intestinal Health Scientific Interest Group) International Symposium on Poultry Gut Health. Brasil, Sao Paulo.
61. Ramos, L. D. S. N., Lopes, J. B., Silva, S. M. M. S., Silva, F. E. S., y Ribeiro, M. N. 2011. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(8), 1738-1744.
62. Ramos, L.S.N. 2009. Aditivos alternativos a antibióticos em rações para frangos de corte. [Tesis Doctor]. Universidad Federal do Piauí, Brasil. 86 p.
63. Ravindran V. 2010. Aditivos en alimentación animal: Presente y futuro. [Internet], [30 de Enero del 2017]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/44-10CAP_I.pdf
64. Rigoni M, Castrovilli C, Cicogna M. 1993. The digestive utilization of nutrients and energy in the guinea pig and rabbit. En: X Congress Bologna. Stazione sperimentale di Zootecnia. Assoc: Scientifica di produzione Animali (ASPA). Università di Milano, Italia.
65. Rodríguez, F.; Eliecer, J.; Alsina, S. 2010. Morphological changes in intestinal villi in broiler chickens fed from 21 days with a diet supplemented with 10% of efficient microorganisms. *CITECSA*. 1(1):40-46.
66. Sakaguchi E. 2003. Digestive strategies of Small Hindgut fermenters. *Animal Science journal* 74: 327-337.
67. Samanya, M; Yamauchi, K. 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. natto. *Comp. Biochem. Phys. A*. 133(1):95-104
68. Schneeman BD. 1982. Pancreatic and digestive function. En: *Dietary fibre in health and disease*. 1a ed. USA: Editorial Plenum Press. P 73-83.
69. Sen, S.; Ingale, S.L.; Kim, Y.W.; Kim, J.S.; Kim, K.H.; Lohakare, J.D.; Kim, E.K.; Kim, H.S.; Ryu, M.H.; Kwon, I.K.; Chae, B.J. 2012. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. *Res. Vet. Sci*. 93(1):264-268.
70. Serrano, T. M. 2015. Evaluación de la inclusión de probióticos en el agua de bebida de pollos broiler sobre parámetros productivos y morfometría intestinal. Tesis Médico Veterinario. Chile: Universidad de Chile. 26 p.

71. Shiva R CM 2007. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral de Médico Veterinario. Barcelona: Univ. Autónoma de Barcelona 173 p.
72. Simón, O.; Jadamus, A.; Vahjen, E. 2001. Probiotic feed additives- effectiveness and expected modes of action. *Journal of Animal Feed Science*, v 10, p. 51-67.
73. Smith C HM, Soto-Salanova M, Flores A, Huurne T. 1999. Modulación a través de la dieta del confort intestinal de los pollitos. En: XV Curso de Especialización Avances en nutrición y alimentación animal FEDNA (Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal). Madrid España: 83-112.
74. Snipes R. 1982. Anatomy of the guinea pig cecum. *Anat Embryol.* 165: 97-111.
75. Song, J.; Xiao, K.; Ke, L.; Jiao, L.F.; Hu, C.H.; Diao, Q.Y.; Shi, B.; Zou, T. 2014. Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. *Poult. Sci.* 93:581-588.
76. Soraci AL, Amanto F, Harkes R, Pérez DS, Martínez G, Dieguez SN, Tapia Mo. 2010. Uso estratégico de aditivos: Impacto sobre el equilibrio y salud gastrointestinal del lechón. [Internet], [3 de Febrero del 2017]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_porcina/00-produccion_porcina_general/183-Soraci_aditivos_en_lechon.pdf.
77. Tellez G, Higgins SE, Donoghue AM, Hargis BM. 2006. Digestive physiology and the role of microorganisms. *J. Appl. Poult. Res.*, 15: 136-144.
78. Thomke S, Elwinger K. 1998. Growth promotants in feeding pigs and poultry. II Mode of action of antibiotic growth promotants. *Ann Zootech* 47:153-167.
79. Torres, C., & Zarazaga, M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino?. *Gaceta Sanitaria*, 16(2), 109-112.
80. Torres-Rodríguez, A.; Donoghue, A.M.; Donoghue, D.J.; Barton, J.T.; Tellez, G.; Hargis, B.M. 2007. Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus* spp.-based probiotic. *Poult Scien*, 86(1):444-446.
81. Tuomola E; Crittenden R, playne M, Isolauri E, Salminen S. 2001; Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am J Clin Nutr.* 73.393-8.
82. Uni, Z.; Ganot, S.; Sjlán, G. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult Scien*; 77:75-82.
83. Vallejos D. 2014. Efecto de la suplementación con butirato de sodio en la dieta de cuyes (*Cavia porcellus*) de engorde sobre el desarrollo de las vellosidades intestinales y criptas de Lieberkühn. Tesis Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 87p.

84. Velandia C JC.2008. Validación del método analítico para la cuantificación de bacitracina en el laboratorio de control de calidad de una industria farmacéutica veterinaria. [Internet], [13 de Febrero del 2017]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis126.pdf>.
85. Velásquez C. 2013. Incremento del volumen de venta de la carne de cuy (*Cavia porcellus*) en el distrito de Ite debido al fortalecimiento de su cadena productiva. Tesis de Ingeniero en Economía Agraria. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. 121p.
86. Vicente, J.; Higgins, S.; Bilke, L.; Tellez, G.; Donoghue, D.; Donoghue, A.; Hargis, B.M. 2007. Effect of probiotic culture candidates on Salmonella prevalence in commercial turkey houses. J of App Poultry Res, 16(1) 471–475.
87. Vinicius de Souza. 2008. Características histomofométricas do intestino delgado de fetos suínos. Marseile Reis Junqueria. Lavras: UFLA. 61p.
88. Walsh MC, Saddoris KL, Sholly DM, Hinson RB, Sutton AL, Applegate TJ. 2007. The effects of direct fed microbials delivered through the feed and/or in a bolus at weaning on growth performance and gut health. Livestock Science; 108:254-257.
89. Zhang AW, Lee BD, Lee SK, Lee KW, Lee CH, An GH, Sough B. 2005. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. Poult Sci 84(7): 1015-1021

IX. APÉNDICE

Figura 2A. Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento control.

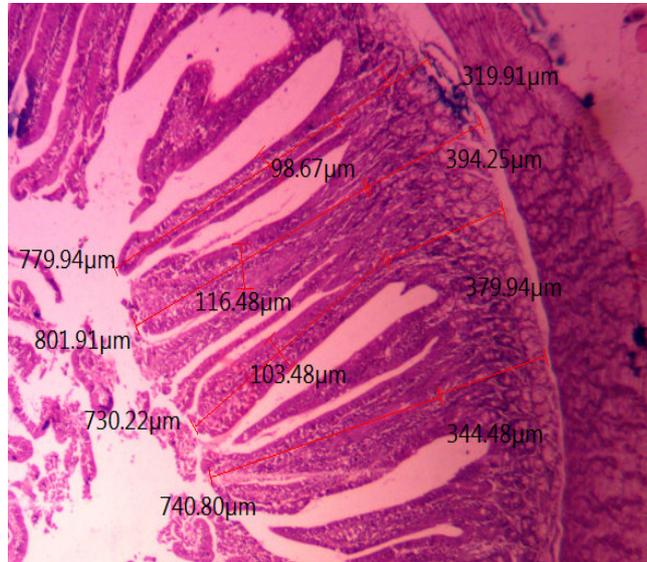


Figura 2B. Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento con 3ml de probiótico.

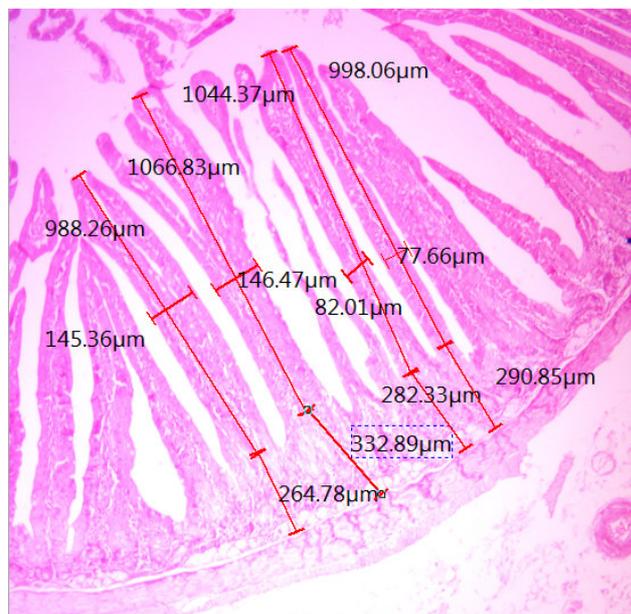


Figura 2C Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento 2ml de probiótico

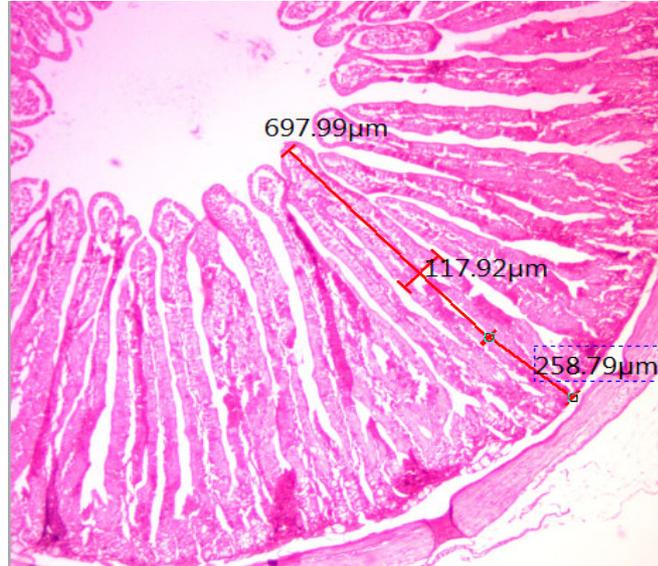


Figura 2D Corte histológico de duodeno (10x de aumento) de cuy de engorde a los 84 días de edad con mediciones morfométricas generadas en el software LAS EZ del tratamiento 1ml de probiótico

