MEMORIAS DE LA
5.ª REUNIÓN ANUAL AECACEM 2012

(AHORA AVIESPECIALISTAS DE MÉXICO AC-AVEM)

"MVZ Fermín Trigueros Morales"

San Juan del Río, Querétaro
7 al 9 de marzo de 2012

Víctor Manuel Petrone García
Editor y autor

1ª edición 2012

5.ª Reunión Anual AECACEM 2012

Editor literario: Victor Manuel Petrone García

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida ni parcial ni totalmente ni registrada en, o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial.

Derechos reservados Aviespecialistas de México AC © 2012 1ª edición.
Clavelinas 266, Nueva Santa María, 02800 Azcapotzalco, Ciudad de México
ISBN: 978-607-9290-04-7

La información contenida en cada uno de los capítulos de este libro es responsabilidad del autor del capítulo

Impreso y hecho en México

MESA DIRECTIVA 2011-2013

PRESIDENTE
Enrique Oscar García

VICEPRESIDENTE
Marco Antonio Torres Pérez

SECRETARIO
Ramiro De Gasperín Zanata

TESORERO
Alberto García Meade

COMISIÓN CIENTÍFICA

Víctor Manuel Petrone

Jorge Aguirre Esponda

Relaciones Internacionales

Guillermo Téllez Isaías

CHAIRMAN DE LA 5A REUNIÓN

Jorge Sánchez Zúñiga

ASISTENTES DE CHAIRMAN

Julio Sánchez Zúñiga

LISTA DE CONTENIDOS

	Página
Directorio 2011-2013	2
Créditos	3
Lista de Contenidos	4
FECTOS DE LA INCUBACIÓN EN LA SALUD, DESEMPEÑO Y LA CALIDAD DEL POLLO Edgar O. Oviedo-Rondón	8
FACTORES PARA MEJORAR LA EFICIENCIA NUTRICIONAL EN POLLOS DE ENGORDA Edgar O. Oviedo-Rondón	18
EL MICROBIOMA INTESTINAL Y EL SISTEMA INMUNE Guillermo Tellez, Víctor M. Petrone, L.R. Bielke, A.D. Wolfenden, and B.M. Hargis	33
IMMUNOPROPHYLAXIS OF POULTRY USING A NOVEL ORAL SUBUNIT PLATFORM NOW UNDER COMMERCIAL DEVELOPMENT L.R. Bielke, G.I. Tellez, A.D. Wolfenden, N.R. Pumford, C.J. Kremer, S. Shivaramaiah, M. Morgan, and B.M. Hargis	66
VACCINATION AGAINST COCCIDIOSIS: INFLUENCE OF DIET AND MANAGEMENT ON THE DEVELOPMENT OF IMMUNITY D.J. Caldwell, M.B. Farnell, and J.T. Lee	75
RELACIÓN DE AMBIENTE-NUTRICIÓN EN EL DESARROLLO DE POLLO A LA PRIMERA SEMANA Antônio Mário Penz Junior	88
ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS EN LAS PLANTAS DE ALIMENTO Antônio Mário Penz Junior	103
EVALUATION OF BACILLUS-VECTORED FLAGELLIN EPITOPES IMMUNOGENIC PROPERTIES IN BROILER CHICKS A.D. Wolfenden, C. Kremer, N.R. Pumford, L.R. Berghman, G. Tellez, B.M. Hargis	119
SALMONELOSE AVIÁRIA Raphael Lucio Andreatti Filho	124
BACTERIOPHAGE THERAPY IN BROILERS L.R. Bielke, G. Tellez, and B.M. Hargis	151
EFECTO DEL QUITOSÁN Y ÁCIDOS ORGÁNICOS CONTRA Salmonella EN CARNE POLLO, BOVINO Y CERDO Prado-Rebolledo OF; Avalos RJMS; Morales BJE., Tellez IG; Hargis B; García MLJ; Macedo BRJ	170
BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO SANITARIO DE DESECHOS EN LA PRODUCCIÓN AVÍCOLA Alejandro Vargas Sánchez, Rubén Arturo Ayala Falcón, Gerardo Abraham Medina Jaramillo	176

EVALUACIÓN DE PROGRAMAS DE AYUNO PREVIO AL PROCESAMIENTO EN AVES SOMETIDAS A SISTEMAS DE RESTRICCION ALIMENTICIA DURANTE SU CRIANZA 182
Tejeda G.V.R., Braña V.D., Rosario C.C. y Castañeda S.M.P.

ADMINISTRACIÓN DE UN MODULADOR ALOSTÁTICO VÍA AGUA DE BEBIDA EN LA PREVENCIÓN DE CONDICIONES ESTRESANTE QUE AFECTAN EL BIENESTAR DE LOS POLLOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE VACUNAS DURANTE LA ENGORDA 195
Ma. Elena Rubio García, Héctor Alejandro Rosas Denogean, Víctor Efrén Pereira

MONITOREO DE *Cryptosporidium spp.* EN AVES DE COMBATE DEL ESTADO DE MEXICO 202
Héctor D. Arzate Serrano, Agustín H. Peña Romero, Martín Talavera Rojas, María U. Alonso

ESTUDIO PRELIMINAR DEL EFECTO A LA VACUNACIÓN CONTRA ENC Y LOS NIVELES DE LECTINA LIGADORA DE MANANOS (LLM) EN POLLO DE ENGORDA 207
Raúl F. Cortés Coronado, Sergio Gomez Rosales, María de Lourdes Angeles, Therese Casaubon H

EVALUACIÓN DE DOS ACEITES ACIDULADOS DE SOYA EN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN HUEVO 215
Jennifer Pérez Martínez; J. Manuel Cuca García; Arturo Pro Martínez; Gustavo Ramírez Valverde; Silvia Carrillo Domínguez; Ernesto Ávila Gonzales

EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE LA INCORPORACIÓN DE FLORFENICOL EN REPRODUCTORES PESADOS 221
C. Fiora, A. Sugesky, M. Córdoba, M. I. Farias

ESTUDIO PARA VALORAR LA PROTECCIÓN GENERADA A DIFERENTES EDADES CON UNA VACUNA VECTORIZADA CONTRA EL VIRUS DE LA LARINGOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA EN GALLINAS CRIADAS EN GRANJA Y DESAFIADAS EN LABORATORIO 227
S Higuera, M Lechuga, G Mercado

NUEVOS ENFOQUES PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN MEXICO 234
Mario Lechuga, David Dueñas, Andres Soto, Fernando Lozano, Pascal Paulet, Yannick Gardin

RESULTADOS ZOOTÉCNICOS DE TRES PARVADAS DE AVES DE ABASTO, MEDICADAS CON TRATAMIENTO HOMEOPÁTICO 240
Ma. de Lourdes González Anaya, Jorge Hernández Bautista, Amos Palacios Ortíz

EVALUACION DE PARAMETROS PRODUCTIVOS EN POLLO DE ENGORDA EN FUNCIÓN DE LA INTEGRIDAD INTESTINAL E INMUNIDAD EN EL APARATO DIGESTIVO 250
José Ortega Sánchez de Tagle, Ariel Ortiz Muñiz, y Miguel Ángel Carmona Medero

EFECTO EN EL DESEMPEÑO DE GALLINAS PONEDORAS CON DIETAS ADICIONADAS CON ENZIMA XILANASA 255
Gomes GA, Rubio JV, Santos TT, Abarca KG, Souza KMR, Faria DE

DESEMPEÑO DE UN ADITIVO ALIMENTICIO NUTRACÉUTICO TOTALMENTE NATURAL VS. 3-NITRO EN POLLO DE ENGORDA 258
Reuben Walker, Ruben Bustos y Javier Delgado

EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD CON DOBLE DOSIS DE UNA VACUNA EMULSIONADA CON LOS SEROTIPOS A, B Y C DE AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM, EN AVES LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS POR VIA SUBCUTÁNEA EN CUELLO Y VIA INTRAMUSCULAR PIERNA Y MÚSCULO PECTORAL 262
Julio Cesar Franco Garcia; Nadia Romero Gallegos, José Francisco Robles González, Carlos González Hernández

EFECTO DE DIFERENTES PORCENTAJES DE INCLUSIÓN DE LISINA DIGESTIBLE EN DIETAS SORGO-SOYA-DDGS-CANOLA PARA GALLINAS BOVANS BLANCAS 273
Tepox PMA, López OL, Vázquez RJ, Jinez MT, Fuente MB, Ávila GE

EFECTO PROTECTOR DE ETOXIQUINA CONTRA LA INTOXICACIÓN ALIMENTARIA CRÓNICA POR AFLATOXINAS EN GALLINAS DE POSTURA 278
M. C. de Luna-López, A. G. Valdivia, T. Quezada-Tristán, A. Martínez-de-Anda, R. Ortiz-Martínez, F. Jaramillo-Juárez y J. L. Reyes

MODULANDO LA PIGMENTACIÓN AMARILLA EN LA PIEL DEL POLLO DE ENGORDA 288
Muñoz DIJ, Tepox PMA; Jiménez RMJ; Fuente MB, Hernández VX, Quiroz PM, Ávila GE

VARIABILIDAD GENÉTICA DE SALMONELLA TYPHIMURIUM (GRUPO B) OBTENIDOS DE HÍGADOS DE POLLO PARA CONSUMO HUMANO 304
Martín Talavera Rojas, Nydia Edith Reyes Rodríguez, Salvador Lagunas Bernabé, Pomposo Fernández Rosas, Vladimir Morales Erasto, Edgardo Soriano Vargas

EVALUACIÓN DE UN TIPO MUDA FORZADA EN GALLINAS PRODUCTORAS DE HUEVO PARA PLATO 311
Emanuel Saldaña Recio, Víctor H. Brito Damián

EVALUACIÓN DE DOS PROGRAMAS DE INMUNIZACIÓN CONTRA LA INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLO DE ENGORDA UTILIZANDO VACUNAS DE IBF CEPA LUKERT INTERMEDIA DE DIFERENTES CASAS COMERCIALES 316
Josué Sánchez Morales, Jesús Cabriales Jiménez

PATOLOGÍA, DIAGNÓSTICO, Y CONTROL DE LA MICOTOXICOSIS AVIAR 323
Carlos Augusto Mallmann; Paulo Dilkin; Adriano Olnei Mallmann; Alexandro Marchioro

RELACIÓN DEL PESO A LAS 18 SEMANAS CON LA PRODUCCIÓN Y RENTABILIDAD EN POLLAS DE PRODUCCIÓN DE HUEVO BLANCO 332
Juan Carlos Casillas Franco
FISIOPATOLOGIA DE LA FORMACION DEL HUEVO 343
José Baltazar Jasso Morán
PELECHA O MUDA FORZADA 349
José Baltazar Jasso Morán
UN PUNTO DE VISTA EN EL MANEJO DE LOS MACHOS REPRODUCTOES DE CONFORMACIÓN 352
Susano Medina Jaramillo
EMPLEO DE DIFERENTES NIVELES DE ENERGÍA METABOLIZABLE Y LISINA DIGESTIBLE EN GALLINAS HY LINE W36 AL INICIO DE LA PRODUCCIÓN 362
Fuente MB, Cortes HE, Jiménez MT, Ávila GE
MANEJOS EN CRIANZA PARA EL INICIO OPORTUNO DE LA PRODUCCIÓN 367
José Raúl Ferzuli Rangel
CONSEJOS PRÁCTICOS PARA EL MANEJO DE LAS PONEDORAS EN PRODUCCIÓN 375
José Luis Avilés Galván
EFECTOS DE 3 DISTINTOS APORTES ALIMENTICIOS RESTRINGIDOS COMO INDUCTORES DE LA MUDA EN GALLINAS PONEDORAS, SOBRE LA PÉRDIDA DE PESO VIVO, LA REGRESIÓN DE OVARIO Y OVIDUCTO Y LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS 379
Callejo, A.; Cardoso1, W., Sanz, S., Daza, A; Buxadé, C.
EFECTO DE LA DENSIDAD DE GALLINAS POR JAULA Y DE LA ESTIRPE SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DEL HUEVO 391
Nicodemus, N.; Callejo, A.; Blanco, D.; Buxadé, C.
EFECTOS DE 3 DISTINTOS APORTES ALIMENTICIOS RESTRINGIDOS COMO INDUCTORES DE LA MUDA EN GALLINAS PONEDORAS, DEL MES POST-MUDA Y DEL NÚMERO DE GALLINAS POR JAULA SOBRE LA CALIDAD DEL HUEVO 407
Callejo, A.; Cardoso1, W., Sanz, S., Daza, A; Buxadé, C.
EFECTO DE LA ESTIRPE Y DEL TRATAMIENTO DE MUDA EN LA INTERRUPCIÓN DE LA PUESTA Y LA RECUPERACIÓN PRODUCTIVA POSTERIOR 414
Callejo, A.; Nicodemus, N.; Laínez, K.S.; Buxadé, C.
USE OF FIREFIGHTING FOAM FOR MASS DEPOPULATION AND IMPROVED CLEANING AND DISINFECTION OF POULTRY PREMISES 426
M. Farnell, J. Byrd, J. Hoffman, M. Ross, K. Stringfellow, D. Abi-Ghanem, L. Berghman, J. Lee, D. Caldwell
ENZYMES IN POULTRY NUTRITION CHALLENGES TO OPTIMIZING THEIR EFFECTIVENESS 439
Roselina Angel

Regresar a lista de contenidos

EFECTOS DE LA INCUBACIÓN EN LA SALUD, DESEMPEÑO Y LA CALIDAD DEL POLLO

Edgar O. Oviedo-Rondón, MVZ, PhD, Dip. ACPV
Departamento de Ciencias Avícolas, Universidad Estatal de Carolina del Norte,
Raleigh, NC, 27606
edgar_oviedo@ncsu.edu

Introducción

La incubación constituye el tercio más importante de la vida de los pollos. Durante este periodo se desarrollan y maduran órganos y sistemas fisiológicos críticos para la regulación del metabolismo y la tasa de crecimiento como son el sistema hormonal. El número de células de muchos tejidos como los músculos queda predeterminado antes de la eclosión y solo sufren hiperplasia durante la vida post-eclosión. Adicionalmente, el estrés oxidativo durante el período pre-eclosión puede tener efectos negativos en funciones cardiovasculares y del sistema musculo esquelético que no se recuperan en la vida adulta y están relacionados con los problemas de ascitis, muerte súbita, y problemas de patas. Las condiciones de temperatura, ventilación, concentraciones de oxigeno y CO2 durante la incubación son los factores con mayor impacto en el crecimiento, conversión alimenticia (Hulet et al., 2007; Oviedo-Rondón et al., 2009a, b), inmunidad y salud de los pollos, y en el rendimiento y calidad de las carcasas.

En muchas ocasiones las empresas integradoras de pollo consideran las incubadoras únicamente como centros de costos y poco se invierte en actualizarlas. Otras empresas que no poseen incubadoras y compran pollito de un día ignoran el impacto total que una mala incubación puede tener en el desempeño de los pollos y solo utilizan la viabilidad y salud del lote durante la primera semana para valorar la calidad de su proveedor de pollitos. Algunas empresas todavía usan equipos de incubación de más de 30 años cuando los embriones hoy en día demandan condiciones de ventilación y control de temperatura que estas maquinas no consiguen proveer. La mayoría de las incubadoras emplea la incubabilidad, el peso y las características físicas externas del pollito como únicos parámetros de calidad del proceso. Pocas veces se mantiene un control sobre características como yema residual y humedad de los pollitos al nacimiento. Excepcionalmente se observa que los gerentes de incubación tengan acceso a análisis estadísticos de correlaciones entre las condiciones reales que consiguen obtener en las máquinas incubadoras y nacedoras y parámetros del desempeño del lote, incidencia de problemas de salud, e inclusive datos de rendimiento de carcasas y condenaciones en las plantas de sacrificio.

El mayor impacto de la incubación no está solamente en los números de pollitos nacidos si no en como estos van a crecer y el desempeño que van a tener.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

A continuación discutiremos algunos efectos de las condiciones en las diferentes etapas de incubación en el crecimiento de músculos, huesos, tendones, tejido gastrointestinal, órganos inmunitarios, y control de la termorregulación. Todos estos factores afectan el desempeño, el bienestar animal, la viabilidad, la salud de los lotes, e inclusive algunas características de las carcasas.

Características del Huevo Fértil Criticas en Incubación

En publicaciones anteriores (Oviedo-Rondón, 2008; Wineland y Oviedo-Rondón, 2009) se ha discutido la importancia del manejo del embrión, la fisiología en este periodo y las condiciones necesarias para un buen desarrollo embrionario. Me gustaría enfatizar sobre las diferencias en las curvas de crecimiento de los embriones de cada línea genética. Adicionalmente, las líneas genéticas difieren en las características de las cáscaras del huevo incubable. Las cáscara del huevo suple minerales como calcio, pero también afecta la absorción y metabolismo de los otros nutrientes por el control que ejerce sobre la transferencia de gases. Las propiedades de la cáscara influyen en la habilidad del vapor de agua, el oxigeno y el dióxido de carbono para atravesar los poros hacia y/o desde el embrión en desarrollo. Esta característica propia de las cáscaras puede ser medida a través de la constante de conductancia. Las líneas genéticas seleccionadas para rápido crecimiento durante las primeras tres semanas de vida tienen baja conductancia de la cascara. Las diferencias en las propiedades de conductancia de la cáscara resultan en diferentes curvas de crecimiento y desarrollo de los embriones cuando los huevos son incubados baja las mismas condiciones de temperatura y humedad. La conductancia de la cáscara puede ser crítica durante los últimos días de desarrollo embrionario cuando las necesidades de oxigeno del embrión son mayores. Todos estos factores indican que se deben proporcionar condiciones de incubación a los huevos fértiles de acuerdo con la línea genética y las características promedio de la conductancia de la cáscara de cada lote de reproductoras. Las condiciones de manejo de las reproductoras pueden afectar las características de conductancia de la cáscara.

Parametros de Incubación Criticos para Evitar Microambientes.

La transferencia de gases de la cáscara también es afectada por la manera como los técnicos de la incubadora manejan la humedad ambiental, la presión parcial de oxigeno y las presiones dentro de las máquinas y los cuartos de las incubadoras, debido a que el intercambio de gases a través de la cáscara de los huevos es totalmente pasivo. La difusión pasiva permite el movimiento de los gases de áreas de alta concentración a aquellas de baja concentración.

Ventilación. La reducción de la ventilación durante el invierno o en épocas o periodos del día más fríos puede tener un efecto negativo en la incubación y calidad de los pollitos en el caso de que se reduzca la ventilación normal, necesaria para mantener buena concentración de oxigeno, al cerrar los "dampers" por tratar de conservar energía.

Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón*/ North Carolina State University*

Temperatura. La regulación de la temperatura en la máquina incubadora es el parámetro más influyente en la tasa de crecimiento del embrión. Sin embargo, la regulación de la humedad, la ventilación entendida tanto como composición adecuada del aire y como el flujo o volumen de aire a través de los huevos, y el volteo de los huevos son también parámetros críticos que determinan la temperatura de la cáscara. Esta es un buen indicador de las temperaturas a las que el embrión es expuesto. Durante las etapas iniciales de incubación, los embriones requieren calor para iniciar el desarrollo apropiado de los órganos. Las temperaturas muy bajas durante los primeros días de incubación pueden causar reducción en la incubabilidad, eclosión tardía o una ventana de eclosión más prolongada y pollitos de mala calidad. Hacia la mitad y en las etapas finales de incubación cuando hay un incremento en el calor metabólico producido por el embrión es más importante remover este exceso de calor. Actualmente se discuten las posibilidades de la llamada incubación circadiana donde máquinas de carga única se podrían programar para cambiar la temperatura, volteo, iluminación y otras condiciones ambientales de la incubación para estimular el desarrollo, adaptación o programación de ciertos órganos o sistemas hormonales.

La información de investigación y experiencias de campo sugieren que la temperatura de la superficie de la cáscara del huevo en incubación se debe mantener entre 37.5 (99.5 ^{o}F) y 38 ^{o}C (100.4 ^{o}F) para obtener el mejor desempeño del pollo en el campo. Siempre se debe pensar que debido a la masa de huevos o de pollos produciendo calor metabólico la temperatura va a tender a aumentar rápidamente. Esto indica que la temperatura durante los primeros días puede tener que aumentarse y la temperatura de los últimos 3 o 4 días debe ser reducida. Todo dependerá del control ambiental del cuarto donde se tienen las máquinas, y de la capacidad de ventilación de las máquinas. Sin embargo, independientemente de la temperatura de las máquinas una de las fallas más comunes en las incubadoras comerciales es la desuniformidad para proveer o eliminar calor uniformemente a todos los huevos. Este es un problema de diseño de las máquinas que se ha hecho más notorio a medida que la selección genética ha producido embriones que crecen rápido y producen más calor metabólico. El mayor tamaño del huevo causa obstrucción física de los flujos de aire que distribuyen el calor. Con fotos de infrarojo es posible observar áreas más calientes en las máquinas en la parte central de las bandejas donde el aire no parece llegar cuando la maquina esta haciendo el volteo (Figura 1). Estos sectores se convierten en microambientes con condiciones adversas para el desarrollo embrionario. Los nuevos diseños de bandejas o de máquinas permiten una mejor uniformidad. Igualmente esta variabilidad es mayor en sistemas de carga múltiple comparado con sistemas de carga única.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

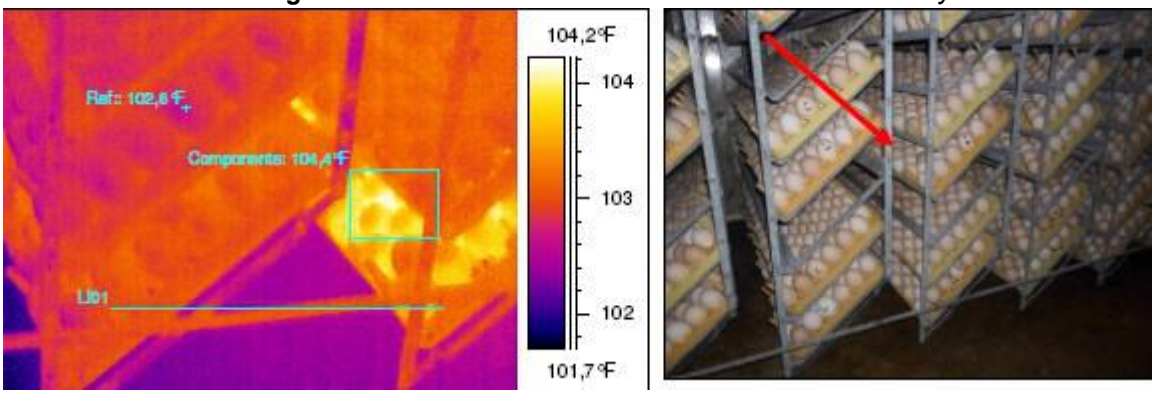


Figura 1. Areas de bandejas dentro de máquinas incubadoras donde el flujo de aire no es adecuado y creo microambientes donde los huevos llegan a tener temperaturas de la cascara superiores a las recomendadas. En este caso la bandeja señalad muestra temperaturas superiores a 104.4 °F.

Nutrición y Desarrollo del Embrión.

Durante las últimas etapas de desarrollo, la yema es la fuente principal de energía para el desarrollo del embrión. Durante este periodo la utilización de la yema por el embrión es influenciada por la presión parcial de oxigeno, la temperatura y la humedad. Las investigaciones realizadas por la Universidad Estatal de Carolina del Norte han demostrado los efectos negativos de las temperaturas elevadas en la incubadora y nacedora durante el estado de desarrollo embrionario conocido como "plateau" del consumo de oxigeno, el cual ocurre durante los últimos cuatro días de incubación.

Para metabolizar los lípidos de la yema, obtener energía y lograr la utilización de otros nutrientes se requiere oxigeno. Los embriones también almacenan energía en sus hígados y músculos como glucógeno, una forma de carbohidratos que no requiere oxigeno para su degradación. Cuando el oxigeno es insuficiente al entrar al huevo, o las temperaturas de las máquinas son elevadas el desarrollo del embrión se acelera, y la yema no es utilizada en las mismas cantidades que cuando se presentan condiciones normales de temperatura o de tensión de oxigeno. En estos casos, cuando la energía de los lípidos no es utilizada el glucógeno es utilizado como fuente principal de energía, puesto que este compuesto no requiere oxigeno para su catabolismo. Sin embargo, el glucógeno no se almacena en grandes cantidades y las condiciones anormales de incubación pueden resultar en que los embriones en desarrollo agoten sus reservas de glucógeno, y si el pollito llega a nacer es más débil y de poca calidad. Estos pollitos pueden ser letárgicos, se demoran para iniciar el consumo de alimento y pueden morir más frecuentemente por inanición, elevando la mortalidad en las granjas durante los primeros días de vida. Adicionalmente, las temperaturas elevadas en la incubación pueden producir pollitos hipotiroideos (Christensen *et al*., 2004, 2007) los cual impacta negativamente el proceso de desarrollo de otros sistemas fisiológicos tales como el sistema inmunológico, la termorregulación, el cardiovascular, el tracto gastrointestinal y el sistema locomotor.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Sistema inmunológico. El desarrollo de la bursa y el timo son reducidos por las altas temperaturas (37.8 vs 38.8 °C, 40.1-40.6 °C en la cascara, a 65 ± 2% de HR) durante la incubación (Oznurlu *et al*., 2010). Este efecto puede ser observado en los pollitos de una semana por claros signos de inmunosupresión.

Termoregulación. Hay evidencia científica que indica que manteniendo la temperatura de la superficie de la cáscara a temperaturas un poco más bajas (~ 37 °C) en las nacedoras, los embriones pueden reducir el punto de termorregulación. Esta manipulación de la temperatura permite que los pollitos incrementen su producción metabólica de calor si son expuestos a temperaturas un poco más bajas durante los primeros días de vida y mantengan un buen consumo de alimento y crecimiento. Al mismo tiempo exposición a temperaturas elevadas (38.5 °C) durante solo algunas horas (4-6 horas) entre los 10-16 días de incubación pueden mejorar la capacidad del pollo de más de 5 semanas para adaptarse al estrés por calor (Akşit *et al*., 2010).

Corazón. Altas temperaturas de la cáscara durante la incubación (38.9 °C) alteran el desarrollo del músculo cardiaco y pueden causar cambios en la proporción entre el ventrículo derecho e izquierdo y aumento de la mortalidad especialmente la debida a ascites (Molenaar *et al*., 2011).

Tracto gastrointestinal. Nuestros resultados de investigación y a nivel comercial indican que las temperaturas elevadas durante los últimos 4 días de incubación tienen efectos adversos sobre el crecimiento del embrión y el desarrollo del tracto gastrointestinal. Las elevadas temperaturas reducen la masa de los tejidos y la actividad enzimática. Por ejemplo, nuestro grupo de investigación ha comprobado que el peso promedio de los pollitos se reduce en solo 5%, lo que indicaría entre 2 ó 3 gramos menos; pero el tamaño relativo al peso vivo del proventrículo, la molleja y del intestino se reduce en 13% y 16%, respectivamente (Leksrisompong *et al*., 2007; Wineland *et al*., 2006a, b). De la misma manera hemos observado que la actividad de la enzima maltasa disminuye drásticamente en pollitos provenientes de huevos sobrecalentados en comparación con pollitos que fueron incubados a temperaturas óptimas. Estos efectos tienen implicaciones en la capacidad digestiva de los pollos al nacimiento y probablemente en la incidencia de problemas intestinales y resistencia a parásitos.

Músculos. La temperatura de incubación puede tener un efecto sobre el desarrollo temprano de los músculos y esa influencia puede ser positiva o negativa dependiendo de cuando ocurran las alteraciones de las temperaturas de incubación y que tan severas sean los cambios. Algunas investigaciones indican que temperaturas un poco más altas de lo recomendadas durante los días 9 y 12 de incubación por 2 a 6 horas/día incrementan el número de fibras en la pierna y pechuga y consecuentemente el total de carne producida al momento de sacrificio. Las temperaturas altas (39.6°C/6h/día) entre el 10 y hasta el día 18 pueden inducir mejor adaptación a altas temperaturas en los pollos entre la 3 y 6 semana post-eclosión que manteniendo las temperaturas a 37.8°C (Yalçin *et al*., 2010).

Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón*/ North Carolina State University*

Los resultados de la investigación de Yalçin *et al* (2010) indicaron que un aumento en la temperatura de incubación del día 10 al 18 durante 6 horas al día no afectó el peso de los pollitos y minimiza los efectos negativos del estrés por calor sobre el peso al sacrificio y el rendimiento de pechuga cuando los pollos fueron expuestos a ciclos diarios de temperatura elevada del día 21 a 42.

La incubación circadiana que está en desarrollo a nivel comercial, permite modificar las condiciones de incubación por cortos periodos de tiempo. Esta metodología puede llegar a ser útil para pre-adaptar las aves a diferentes condiciones ambientales y estimular el desarrollo de fibras musculares antes del nacimiento.

En contraste, nuestra investigación indica que temperaturas altas (39 ^{o}C) durante los últimos 4 días de incubación tienen un efecto negativo sobre los músculos del picaje, la pierna y la pechuga. Tanto el músculo del picaje, el cual es un músculo de permanencia transitoria y el músculo de la pierna, tienen importancia durante el proceso de eclosión y su degradación esta correlacionada con mortalidad al momento de la eclosión. El músculo de la pechuga no es utilizado en la eclosión, pero puede ser una fuente de substrato de energía si la yema del huevo y las otras reservas de glucógeno de los músculos son limitadas. El músculo de la pechuga es generalmente más rico en glucógeno en pollos y pavos que los otros dos músculos, por lo cual también actúa como reserva de energía y como fuente de aminoácidos gluconeogénicos, en caso dado que se necesite glucosa, pero degrada las fibras musculares las cuales tienen muy baja replicación después del nacimiento y por lo tanto es muy importante mantenerlas para obtener buena producción de carne de pechuga en el pollo. En nuestros estudios hemos observado degradación de las fibras musculares en las pechugas de pollos sometidos a elevadas temperaturas durante la última fase de incubación, que puede afectar la calidad de la carne al sacrificio.

Hemos observado que el desarrollo de las plumas y de la piel igualmente puede ser afectado por las condiciones de incubación y el estrés del embrión. Problemas de emplume o de resistencia de la piel pueden afectar las características de las carcasas.

Huesos y Tendones. Los defectos de las patas que causan cojeras o hasta parálisis son cada más frecuentes en pollos de engorda a pesar de los esfuerzos hechos en selección genética, manejo en las granjas y nutrición. Un aspecto muchas veces olvidado es que el desarrollo de todo el sistema locomotor conformado por huesos, tendones, cartílagos, ligamentos y músculos se inicia y tiene la mayor tasa de crecimiento durante el periodo embrionario. Las condiciones ambientales adversas o desuniformes durante la incubación son los problemas más comunes en producción avícola comercial, y estos pueden afectar el desarrollo óseo e incrementar los problemas de patas de los pollos.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Nuestros resultados de investigación y otros publicados en los últimos años indican que la adecuada pre-incubación con buen flujo del aire, el evitar temperaturas bajas durante la incubación temprana son críticas para un desarrollo óseo adecuado, disminuir la incidencia de deformaciones de los dedos y de los huesos de las piernas, y reducir la asimetría relativa entre las dos piernas (Oviedo-Rondón *et al*., 2008 a, b; d; 2009a, b; Eusebio-Balcazar *et al*., 2009a). Hoy en día, esta asimetría relativa entre las dos extremidades, que es consecuencia del estrés en el desarrollo de los animales es considerada como uno de los parámetros para estimar el bienestar animal (Møller *et al*., 1999). La asimetría entre los huesos, puede afectar la alineación de las partes de las piernas y puede causar que las aves adopten patrones de movimiento diferentes de los considerados normales, que generalmente son menos eficientes energéticamente. Adicionalmente, estas dimensiones asimétricas ocasionan fuerzas anormales a los huesos y articulaciones desde etapas muy tempranas en la vida del ave afectando sutilmente su desarrollo pos-eclosión y causar los problemas de piernas que son visibles solo en las etapas más avanzadas de la vida.

Las altas temperaturas y la hipoxia durante la última fase de incubación reducen el desarrollo óseo, incrementan la asimetría entre los huesos de las dos piernas, y disminuyen la expresión genética y la producción de la proteína colágeno tipo X, y del factor de crecimiento TGF-ß, las cuales son moléculas importantes para la apropiada osificación del hueso (Oviedo-Rondón *et al*., 2006 a, b, 2008c; Oviedo-Rondón y Wineland, 2008; Oviedo, 2007, 2009a, b). Ciertos problemas como la discondroplasia tibial son observados después de las tres semanas de vida, pero su origen ha sido recientemente (Yalçin *et al*., 2007; Oviedo-Rondón *et al*., 2008) correlacionado con temperaturas suboptimas (36.9 ó 39.5 ^{o}C) durante los primeros 8 días de incubación. Inclusive, períodos cortos (6 h/día) de temperaturas excesivas (39 ^{o}C) durante la fase intermedia (10 a 18 días) de incubación puede también reducir el desarrollo de las tibias de los pollos. Es importante resaltar que el tratar de mejorar las condiciones de incubación puede reducir la incidencia de problemas de piernas en campo, pero no eliminarlos completamente pues estos también tienen un componente genético, influencia directa de la madre, y pueden ser inducidos después de la eclosión, por condiciones estresantes de alta temperatura y baja ventilación durante el transporte de los pollitos de la incubadora a la granja, altas temperaturas durante la cría en el galpón, o programas de luz muy intensivos sin periodos de oscuridad.

El desarrollo y fortaleza del tendón del músculo gastrocnemio son cruciales para la locomoción de las aves. Fallas en el correcto alineamiento, estructura y tamaño de las fibras de colágeno y de glucosaminiglicanos que conforman el tendón afectan el caminar normal, pueden causar reducción en la movilidad y, consecuentemente, pueden afectar el desarrollo de los huesos. Nuestro grupo de investigación en la Universidad Estatal de Carolina del Norte evaluó el tamaño de las fibras de colágeno tipo I y de decorin en tendones de tres grupos de pollos con diferente manejo a nivel de las reproductoras e incubados bajo dos perfiles de temperatura de incubación.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Los huevos fueron incubados bien a condiciones estándares para mantener la temperatura de las cáscaras de los huevos cercana a 37.5 ºC, o con un perfil de temperatura para mantener las cáscaras a 36 ºC durante la primera semana, 37.5 ºC la segunda semana y 39 ºC la última semana de incubación. A la eclosión, los machos fueron seleccionados y ubicados en jaulas para crecer hasta los 21 días. Los tendones fueron evaluados al nacimiento y a los 4, 14 y 21 días de edad. Los resultados indicaron que las fibras de colágeno fueron más gruesas en los tendones de pollos incubados bajo condiciones estándares que aquellas de pollos incubados bajo un perfil de baja temperatura en la primera semana y alta al final. No se observaron diferencias entre los grupos de pollos de diferente manejo alimenticio de las reproductoras. Los resultados de este estudio indican que las condiciones de incubación tienen más importancia en el desarrollo de los huesos y los tendones de la progenie que la restricción alimentaria de las reproductoras.

Los efectos benéficos de una adecuada incubación sobre los problemas de patas en pollos también han sido observados bajo condiciones comerciales durante diez nacimientos en lotes de aproximadamente 80.000 pollos cada uno de una incubadora comercial y en granjas comerciales (Oviedo-Rondón *et al.*, 2009c). Los resultados indicaron que los pollos obtenidos con el perfil de incubación mejor controlado de máquinas de una sola etapa tuvieron menor incidencia de dedos torcidos y mejor gait scores (Gait score 0) que los pollos provenientes de máquinas de etapa múltiple donde las condiciones de temperatura son más difíciles de controlar (Cuadro).

Evaluaciones Comerciales de Carga Única vs. Carga Múltiple

En la industria avícola mundial, hay una tendencia a usar incubadoras de una sola etapa cuando se está expandiendo o construyendo una nueva incubadora. Estas máquinas le permiten al gerente de la incubadora manejar más adecuadamente las temperaturas para el desarrollo de los embriones.

Hemos realizado experimentos de campo a gran escala comparando los efectos de incubación en máquinas etapa única o de múltiples etapas. Estas comparaciones fueron realizadas de tal manera que los huevos de lotes similares de reproductoras eran divididos en la incubadora entre estos dos tipos de máquinas incubadoras, y luego los pollitos llevados a las mismas granjas donde el desempeño de los pollos era determinado. Los resultados de estos experimentos de campo con más de 800.000 huevos en cada tratamiento y durante 10 nacimientos, indicaron que la eclodibilidad era significativamente más alta en la incubación de una sola etapa.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Cuadro 1. Porcentaje de pollos de la muestra dentro de cada categoría de "gait score" (score de locomoción voluntaria) a los 56 días de edad de acuerdo a dos perfiles de temperaturas de incubación evaluados en una incubadora y en granjas comerciales

Perfil de Incubación	Sexo	Gait scores[1]					
		0	1	2	3	4	5
		%					
Carga múltiple[2]	Machos	34,00	50,75	12,25	2,00	0,50	0,00
	Hembras	72,38	23,63	2,63	0,75	0,00	0,00
	Promedio	53,22[b]	37,19[a]	7,44[a]	1,38	0,25	0,00
Una sola etapa[3]	Machos	48,88	43,63	6,63	0,63	0,25	0,00
	Hembras	77,98	19,63	1,13	0,38	0,38	0,13
	Promedio	63,38[a]	31,63[b]	3,88[b]	0,50	0,31	0,06
	Machos	41,44[b]	47,20[a]	9,44[a]	1,32	0,38	0,00
	Hembras	75,13[a]	21,63[b]	1,88[b]	0,57	0,18	0,06
Error estándar		2,03	1,83	1,08	0,30	0,21	0,06
Fuente de variación		*P* - value					
Tratamiento		0,0028	0,0336	0,0249	0,1278	0,4193	0,3282
Sexo		<,0001	<,0001	<,0001	0,0512	0,8853	0,3282
Tratamiento x Sexo		0,1913	0,7801	0,4144	0,3087	0,2320	0,3282
Granja [Tratamiento]		<,0001	<,0001	0,6737	0,3341	0,5768	0,4500

a-b Medias de una columna del mismo tratamiento sin superíndice en común son significativamente diferentes (P < 0,05).

1 Los "gait scores" indican desde caminar completamente normal (score 0) a pollos inmóviles (score 5), de acuerdo a la metodología de Kestin et al. (1992) (citado por Oviedo-Rondón et al., 2009c).

2 Los huevos en las incubadoras de carga múltiple fueron pre-incubados en el cuarto de máquinas (25,6 a 26,7°C) durante 5 horas antes de ser ubicados dentro de las máquinas a 37,5°C. La temperatura inicial en las nacedoras fue de 36,9°C en promedio y la final de 36,7°C

3 El precalentamiento de los huevos en las máquinas de una sola etapa ocurrió dentro de las máquinas (26,7°C) durante 6 horas. Se utilizaron 7 etapas en las máquinas incubadoras y 3 en las máquinas nacedoras de una sola etapa. La temperatura inicial en las nacedoras fue de 36,7°C en promedio y la final de 36,1°C. El tiempo total de incubación fue determinado por el gerente de la incubadora de acuerdo a la condición de los pollos y la experiencia de uso de las máquinas. El tiempo total fue aproximadamente de 509 h para las máquinas de una sola etapa y 505 horas para las máquinas de etapa múltiple.

El peso vivo promedio de los pollos al procesamiento siempre fue mayor en aquellos incubados en maquinas de una sola etapa (Figura 2). Estos efectos positivos también incluyeron menor mortalidad en los galpones, mejora de la conversión alimenticia y menor incidencia de algunos problemas de patas en pollos pesados de más de 3.75 kg al momento del sacrificio.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

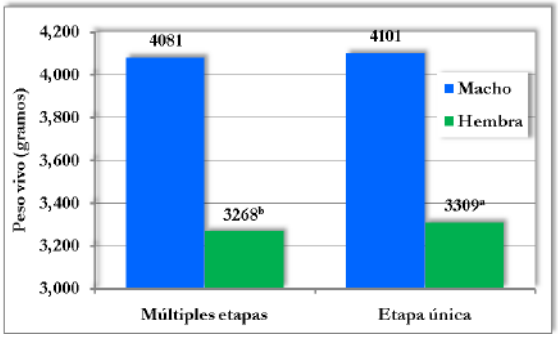


Figura 2. Efecto del tipo de incubación (máquinas de múltiples etapas vs etapa única) sobre el peso promedio al sacrificio de lotes comerciales de pollos Ross 708 criados hasta 56 dias de edad.

Aproximadamente 800,000 pollos en cada tratamiento

Conclusiones

Las condiciones de temperatura y ventilación especialmente durante la fase inicial y final de la incubación tienen efectos permanentes en el desarrollo del embrión que afectan todo su crecimiento post-eclosión. Estos efectos pueden ser observados en la salud, bienestar animal, crecimiento, y desempeño de los lotes de pollos de engorda.

REFERENCIAS

1. Akşit, M., S. Yalçin, C. Yenisey, y D. Ozdemir. 2010. *Br. Poult. Sci*. 51(3):444-452.
2. Christensen, V.L., M.J. Wineland, , I. Yildrum, D.T. Ort, y K.M. Mann. 2004. *J. Ani. Vet. Adv.* **3**:52-65
3. Christensen, V.L., M.J. Wineland, J.L. Grimes, E.O. Oviedo, P.S. Mozdziak, D.T. Ort, y K.M. Mann. 2007. *Int. J. Poult. Sci.* **6**(6): 406-412
4. Eusebio-Balcazar, P.E., Oviedo-Rondón, E.O., Wineland, M.J., Cutchin Evans, H.R., Whitley, J., Jornigan, J. y C.M. Rhyne. 2009. *Poult. Sci*. 88, Sup. 1., Abstract M14, p. 143.
5. Hammond, C.L., B.H. Simbi, y N.C. Stickland. 2007. *J. Exp. Bio.* **210**: 2667-2675.
6. Hulet, R., G. Gladys, D. Hill, R. Meijerhof y T. El-Shiekh. 2007. *Poult. Sci.* 86:408-412.
7. Leksrisompong, N., H. Romero-Sanchez, P.W. Plumstead, K.E. Brannan, y J. Brake. 2007.*Poult. Sci.* **86**: 2685-2691.
8. Møller, A.P., G.S. Sanotra, and K.S. Vestergaard. 1999. *Appl. Anim. Beh. Sci.,* **62**:57-71.
9. Molenaar, R., R. Hulet, R. Meijerhof, C.M. Maatjens, B. Kemp y H. van den Brand. 2011. *Poult. Sci.* 90:624-632.
10. Oviedo Rondón, E.O. 2008. Industria Avícola. Watt Publishing, Julio, 55 (7): 14-16.
11. Wineland M.J. y E. O. Oviedo-Rondon, 2009. Industria Avícola. Watt Publishing February 56 (2): 14-16.
12. Oznurlu Y., I. Celik., T. Telatar, E. Sur. 2010. *Br. Poult. Sci.* 51(1):43-51.
13. Oviedo Rondón, E.O. 2009. En Proceedings WPSA en África del Sur. . Pretoria, África del Sur.
14. Oviedo-Rondón, E.O., Small, J., Wineland, M.J., Christensen, V.L., Mozdziak, P.S., Koci, M.D., Funderburk, S.V.L., Ort, D.T. y K.M. Mann. 2008 *Br. Poult. Sci. J.* 49(6):666-676.
15. Oviedo-Rondón, E.O., Wineland, M.J., Funderburk, S., Small, J., Cutchin, H. y M. Mann. 2009a. *J. Appl. Poult. Res* 18:640-646.
16. Oviedo-Rondón, E.O., Wineland, M.J., Small, J., Cutchin, H., McElroy, A., Barri, A. y S. Martin. 2009b. *J. Appl. Poult. Res*. 18:671-678.
17. Wineland, M.J., V.L. Christensen, I. Yildrum, B.D. Fairchild, D.T. Ort, y K.M. Mann. 2006a. *Int. J. Poult. Sci.* **5**(8):714-722
18. Wineland, M.J., V.L. Christensen, I. Yildrum, B.D. Fairchild, D.T. Ort, yK.M. Mann. 2006b. *Int. J. Poult. Sci.* **5**(3): 229-240.
19. Yalçin, S., H.B. Molayoğlu, M. Baka, O. Genin, y M. Pines. 2007. *Poult. Sci.* **86**: 1772-1783.
20. Yalçin, S., Babacanoglu, E., Güler, H.C. y Aksit, M. 2010. *World's Poultry Science Journal* 66: 87-94.

Regresar a lista de contenidos

FACTORES PARA MEJORAR LA EFICIENCIA NUTRICIONAL EN POLLOS DE ENGORDA

Edgar O. Oviedo-Rondón, MVZ, PhD, Dip. ACPV
Departamento de Ciencias Avícolas, Universidad Estatal de Carolina del Norte,
Raleigh, NC, 27606
edgar_oviedo@ncsu.edu

INTRODUCCIÓN

En esta presentación se presentaran los factores importantes para mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes visando la eficiencia económica y sostenibilidad de la producción de pollos de engorda. Primero se discutirá la importancia de adoptar mejores parámetros de evaluación de la eficiencia nutricional, porque el parámetro de conversión o eficiencia alimenticia puede no ser adecuado para comparar resultados entre lotes de pollos bajo diferentes situaciones de producción comercial. Posteriormente, se revisarán los factores más importantes para hacer los pollos más eficientes para el uso de nutrientes. Dentro de estos factores el más crítico es el procesamiento del alimento y por eso gran parte de la presentación estará enfocada en este aspecto. Finalmente se listaran algunos aspectos adicionales que pueden tener cierto impacto en la eficiencia nutricional.

1. Eficiencia o Conversión Alimenticia vs Eficiencia Nutricional

La eficiencia alimenticia es considerada uno de los parámetros importantes para evaluar el desempeño de lotes de aves, la calidad de los alimentos balanceados, el manejo y la sanidad. Esta puede ser medida como conversión alimenticia (consumo de alimento/ganancia de peso) o como eficiencia (ganancia de peso/consumo de alimento). Estas medidas realmente son útiles para comparar grupos de pollos de engorda, dietas, o programas de alimentación, desde que otros factores no afecten la ganancia de peso o el consumo de alimento. Es decir este dato es válido cuando se compara entre grupos o lotes de pollos que tienen la misma línea genética, edad y manejo de reproductoras, incubación, sexo, estado de salud, alimentados con dietas de concentraciones muy similares en nutrientes y similar consumo de alimento, la misma edad de sacrificio, y cría bajo las mismas condiciones ambientales. Es decir que en realidad este parámetro de conversión alimenticia es realmente valido en condiciones experimentales.

Generalmente a nivel comercial todos los parámetros anteriores cambian, y especialmente existe gran variación en la concentración energética entre cada lote de alimento fabricado aunque se utilice la misma formula, debido a la variabilidad de los ingredientes. Entre empresas se utilizan diferentes ingredientes, especificaciones nutricionales para el alimento, y programas de alimento donde la cantidad y edad de suministro puede variar. El nivel energético y de otros nutrientes afecta consumo de alimento y la curva de crecimiento. Adicionalmente a pesar del control medioambiental que se tiene en galpones modernos, existe gran variación en condiciones ambientales, desafíos de patógenos en el campo, programas de vacunación y tipos de vacunas, infección con coccida, etc. Consecuentemente, los valores de conversión alimenticia dejan de ser validos para comparaciones reales entre lotes. Algunos intentos se han hecho para normalizar y calcular conversiones ajustadas a una edad o peso específico (Pesti y Rogers, 1997). Pero estas no dejan de ser manipulaciones matemáticas que muchas veces no consiguen obtener datos reales para comparación o lo mas importante eliminar la variación que todos estos factores causo en el consumo y crecimiento.

Un parámetro que esta ganando mas aceptación es la eficiencia energética, medida como la cantidad de mega calorías necesarias para producir un kg de peso o de carne (Agristats, 2011). O también la eficiencia de cualquier nutriente consumido por kg producido. En el cuadro 1 se presenta un ejemplo de los parámetros que se tendrían por cada nutriente utilizando eficiencia nutricional. Estos datos ya se utilizan en los reportes de Agristasts para la industria de pollos de engorda en los Estados Unidos. Estos parámetros si permiten comparar eficiencia nutricional entre lotes de pollos. Estos valores se obtienen al calcular primero la cantidad de alimento de cada fase por la concentración de nutrientes y después obtener la cantidad de nutriente necesaria para producir cada kg de producto.

En dos ejemplos, en cuadro 2 y figura 1 se puede observar la respuesta de pollos de engorda a la concentración de nutrientes de la dieta a medida que las dietas son menos densas (Leeson y Summers, 2005; Pesti, 2009). La respuesta biológica de los pollos de engorda para compensar la reducción en densidad de nutrientes es aumentar el consumo. La conversión empeora, pero la eficiencia energética generalmente mejora. Las dietas más densas son generalmente más costosas y es interesante utilizar la mínima concentración de nutrientes que da el mismo resultado de desempeño aunque no indique mejor conversión alimenticia. En el segundo ejemplo se observa la respuesta de pollos a concentraciones de proteína (Figura 1). El consumo también varía de acuerdo a la concentración del nutriente. La ganancia de peso y la conversión alimenticia de los pollos se ve afectada, pero mínimamente cuando se llega cerca al óptimo recomendado en el manual de la línea genética.

Cuadro 1. Consumo promedio de nutrientes por cada kilogramo de peso vivo producido comparando datos promedios de todas las compañías y el 25 ó 5% de las compañías con mejor desempeño.

	Promedio	25%	5% mejores
Edad al procesamiento, d	58.6	52.8	51.4
Peso final, kg	3.411	2.985	2.944
	-------- nutriente/kg peso vivo --------		
EM, kcal	6.543	6.202	6.049
Proteína, mg	386.2	372.6	376.9
Lisina, mg	22.6	21.6	22.5
Aminoácidos sulfurados totales, mg	17.3	16.5	16.8
Triptófano, mg	4.2	4.1	4.2
Arginina, mg	26.0	25.0	26.0
Treonina, mg	15.5	15.0	15.5
Fósforo disponible, mg	7.8	6.7	7.3
Calcio, mg	16.6	15.8	16.9
Sodio, mg	4.7	4.4	4.3

Fuente: Adaptado de resúmenes de datos del reporte anual de Agristats (2008) y APSI (2008).
[1]Clasificación de compañías de acuerdo a la eficiencia energética.

En muchas circunstancias intervalos relativamente amplios de niveles de nutrientes pueden proporcionar resultados similares. Al transformar estas concentraciones de nutrientes en dinero como costos, y la respuesta en peso final y producción de carne como ingresos se obtienen resultados en los que el máximo ingreso no siempre se obtiene con dietas que sustentan la mejor conversión alimenticia. Para entender mejor este proceso revisar Oviedo-Rondón (2010).

Estas respuestas biológicas de los animales, y análisis económicos son los que se emplean en trabajos de modelaje nutricional para estimar óptimas combinaciones de nutrientes que permiten obtener los máximos beneficios económicos de la producción de pollos de engorde, olvidándose del parámetro de conversión alimenticia, y focalizándose en la mayor eficiencia nutricional. En estos casos no se busca tampoco la máxima ganancia de peso y de rendimiento en carcasa o de carne, ni disminuir al máximo el costo del alimento, se busca una combinación de los dos que permita la mejor rentabilidad, es decir visualizando eficiencia nutricional y no por conversión alimenticia. Esto se consigue utilizando métodos matemáticos como los que se explicaran durante la presentación o son ejemplificados en DeBeer (2009) y Oviedo-Rondón (2010).

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Cuadro 2. Efecto de la dilución de la dieta de 35 a 49 días de edad

Energía Metabolizable (kcal/kg)	Proteína Cruda (%)	Peso vivo a 49 dias (Kg)	Consumo de Alimento 35-49 dias (kg)	Conversión Alimenticia 35-49d	Eficiencia Energética (Mcal/kg ganancia)
3200	18	2,950	2,580	2.34	7.43
2900	16	2,920	2,760	2.49	7.19
2600	14	2,880	2,900	2.72	6.97
2300	13	2,910	3,270	2.99	6.70

Fuente: Adaptado de Leeson y Summers, 2005.

2. Factores para Mejorar la Eficiencia Nutricional de las Aves

Una vez establecido que deberíamos buscar minimizar la cantidad de nutrientes necesaria para producir un kilogramo de peso vivo de pollo o de carne, vamos a revisar los factores importantes que permiten conseguir este objetivo al hacer el sistema digestivo y el metabolismo de los pollos todavía más eficiente. Entre estos factores están el procesamiento del alimento, el manejo ambiental, los programas de oscurecimiento, la calidad del agua, mantener la salud intestinal, y el uso de enzimas exógenas.

2.1 Procesamiento de Alimentos

El procesamiento del alimento es el factor con mayor efecto en la función digestiva de los pollos, después de los ingredientes y de la composición nutricional. Las características físicas, químicas y la uniformidad del alimento afectan el desarrollo y funcionamiento del tracto intestinal, la composición y sucesión de la microflora intestinal a medida que los pollos crecen. Funciones básicas como aprehensión e ingestión voluntaria máxima se ven afectadas por el tamaño y la textura del alimento. Un alimento bien procesado estimula mayor consumo con menor segregación de las partículas que lo componen, mejor digestibilidad de los nutrientes y menos gasto de energía en el proceso de ingestión. La manufactura de alimentos debe mantener un control permanente sobre la calidad del producto para poder obtener consistentemente las características deseadas.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

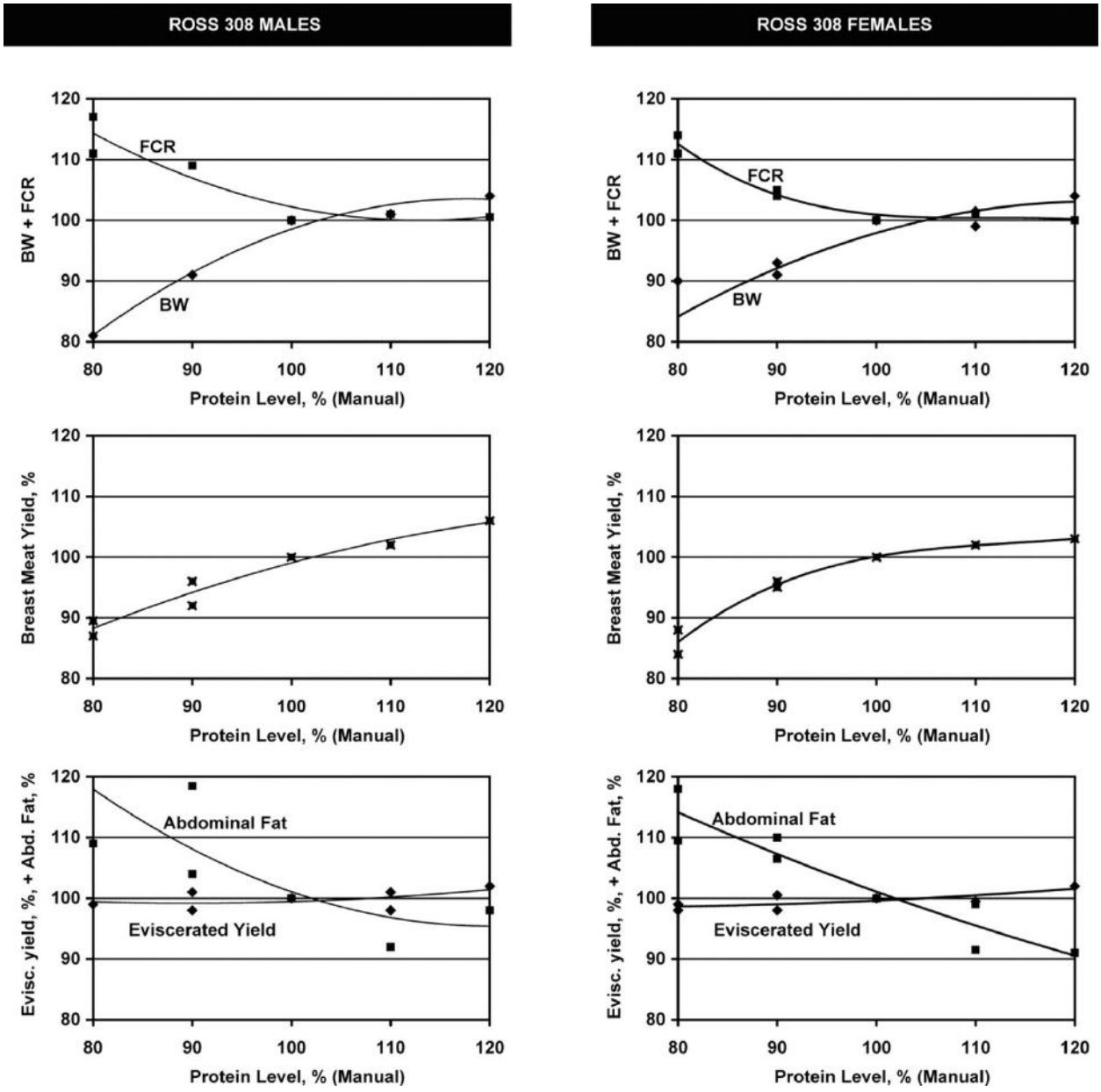


Figura 1. Respuesta de pollos Ross 308 al nivel de proteína de la dieta a los 42 días de edad. El nivel de proteína esta en proporción al nivel de proteína recomendado por el manual de manejo de la línea Ross 308 para cada edad. Las curvas corresponden a la función matemática {y = k0 + k1 × [1 − exp(k3 × lisina digestible]}. La respuesta para canal eviscerada es lineal.
Fuente: Pesti, 2009.

Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón*/ North Carolina State University*

Calidad de Ingredientes. La calidad de los ingredientes al momento de la compra es el factor que más va a afectar el producto final. Si los proveedores no mantienen condiciones estables del producto la variabilidad en la concentración nutricional y en las propiedades físicas va a ser muy difícil de controlar, la calidad del alimento se perjudica y las medidas de eficiencia nutricional son difíciles de aplicar. La utilización de granos con algún grado de contaminación con micotoxinas es casi inevitable en la industria animal debido a los grandes volúmenes utilizados. Minimizar la compra de alimentos con granos defectuosos, de baja calidad, con alta humedad o alto grado de oxidación y rancidez, o con infestación de insectos o presencia de tóxicos, factores antinutricionales y micotoxinas o propensos al desarrollo de hongos, es uno de los principales objetivos del programa de control de calidad en la recepción de ingredientes en las plantas de alimentos balanceados.

Molienda y Tamaño de Partícula. La molienda tiene como objetivo principal reducir el tamaño de partícula de los ingredientes para aumentar la superficie de exposición a la acción de las enzimas endógenas y exógenas y facilitar la digestibilidad de nutrientes. El tamaño de la partícula se evalúa por el diámetro geométrico medio (DGM) y su variabilidad se mide por la desviación estándar del DGM. La molienda facilita el manejo de los granos, la mezcla de los ingredientes, y la calidad del pelet. Existen dos tipos básicos de molinos, los de martillo y los de rodillo. Los de rodillo producen moliendas con tamaño de partícula más uniforme que los de martillo. Sin embargo son más costosos, tienen un mantenimiento más complicado y costoso y no trituran bien granos con gran proporción de fibra. Por esto, los molinos más comunes son los de martillo. En toda molienda siempre existe una gran variabilidad en el tamaño de partículas producidas. Pero, para tener buena eficiencia de utilización de nutrientes y desempeño de las aves es importante tratar que la dispersión del DGM sea menor al 8% de coeficiente de variación lo que corresponde a máximo 75 μm (Nir ***et al***., 1994; Hanckock, 1996). Entre más grande el DGM deseado existen más posibilidades de tener una mayor dispersión en el tamaño de partícula en los molinos de martillo. Los molinos de rodillo pueden ser consistentes en una molienda, pero a través del día fácilmente se desajustan y la variación en DGM puede ser aún mayor.

Los beneficios de mantener la uniformidad en el tamaño de partícula son más visibles si las dietas no contienen antibióticos u otro tipo de aditivo bacteriostático o existen desafíos constantes de coccidias u otros patógenos intestinales. Muchas veces las moliendas para obtener partículas finas (<600 μm DGM) son preferidas porque facilitan el proceso de peletizado y pueden mejorar la durabilidad del pelet.

Pero, está comprobado que tanto en dietas peletizadas o en harina sin aditivos con efecto bacteriostático lo recomendado para pollos de engorde es tener un DGM entre 800 y 1100 μm para obtener la mejor absorción de nutrientes y reducir problemas entéricos (Amerah *et al*., 2007).

Hace algunos años se consideraba que entre menor era el tamaño de partícula mejor era el pelet, las migajas, la conversión alimenticia, y el crecimiento de los pollos de engorde. Estos resultados se observaban cuando los alimentos balanceados contenían antibióticos promotores de crecimiento, o cuando la ganancia de peso del pollo no era tan rápido, las aves eran más rústicas y los lotes o parvadas de pollo tenían menores desafíos microbiales de campo en galpones con camas nuevas. Actualmente se considera que dietas con una mayor proporción de partículas gruesas (800 a 1100 μm de DGM) mejoran el consumo y la utilización de nutrientes (Nir *et al*., 1990; Kilburn y Edwards, 2004). En aves es importante mantener las características físicas de los granos en la dieta que estimulan la motilidad intestinal la cual incluye peristalsis y retroperistalsis necesarias para mejorar la digestibilidad y reducir factores que causan los problemas intestinales (Oviedo-Rondón *et al*., 2006). Este estímulo de la peristalsis también se puede obtener con la adición de materiales fibrosos en la dieta (González-Alvarado *et al*., 2007).

Las partículas gruesas permanecen un tiempo más prolongando (minutos) en la molleja estimulando secreciones, peristalsis y retroperistalsis que producen un pH adecuado en cada sección del intestino para una óptima actividad enzimática. Los efectos de esta adecuada función digestiva se observan en mejores índices de conversión alimenticia, mayores contenidos de cenizas en las tibias (Kilburn y Edwards, 2004) y ganancias de peso (López *et al*., 2000), y menos problemas entéricos (Engberg *et al*., 2002; Hochstetler, 2005). En contraste dietas con alta proporción de partículas muy finas causan atrofia de la molleja, y consecuentemente este marcapaso de la actividad gastrointestinal falla. Los cambios se observan en aumento del pH intestinal haciéndolo más básico. Este cambio de pH en el intestino reduce la solubilidad y digestibilidad de nutrientes como minerales y proteínas, y facilita la colonización de microorganismos patógenos asociados con problemas entéricos como Salmonella (Santos *et al*., 2008), coccidia y otros problemas intestinales (Amerah *et al*., 2007). Las partículas finas en contacto con el agua causan empastamiento del alimento en el pico, reducen el consumo de alimento y aumentan el desperdicio. Adicionalmente se ha comprobado que partículas muy finas (594 μm de DGM) pueden aumentar los números de mastocitos en el intestino, indicando la mayor susceptibilidad a procesos inflamatorios o respuestas inmunes descontroladas (Liu *et al*., 2006).

Las dietas con una gran proporción de partículas gruesas y un DGM de más de 1200 μm (DGM) se consideran demasiado gruesas. Estas causan desuniformidad en la aprehensión del alimento y reducción en el consumo pues la tasa de pasaje disminuye. Lógicamente dependiendo de la edad del ave, estas tienen preferencia por partículas más gruesas. Para pollito de primera semana se recomiendan dietas con tamaño de partícula entre 700 y 900 μm de DGM, entre tanto que para pollos adulos estas pueden ir hasta 1100 μm.

***Peletizado*.** El peletizado permite la aglomeración de partículas pequeñas en unas de mayor tamaño por medio de procesos mecánicos que incluyen humedad, calor y presión. Los efectos del peletizado incluyen:

- Disminución del polvo, la segregación de ingredientes y de la selección por las aves. Esto facilita la inclusión de materias primas que serían difíciles de incluir en dietas presentadas en harina.
- Mejora las propiedades físicas para almacenamiento y transporte.
- Reducción del desperdicio a nivel de comedero y de bebedero (de campana) que se traduce en mejorías de 2-3% en el índice de conversión alimenticia, al hacer comparaciones bajo las mismas condiciones.
- Aumento en la digestibilidad de los nutrientes por desnaturalización de las proteínas, liberación de lípidos encapsulados, ruptura de estructuras celulares, pregelatinización de almidones, y la inactivación de factores antinutricionales. En realidad la gelatinización del almidón solamente es de un 5 a 10% (Svihus *et al*., 2004) y en general el calor (80 ºC) por pocos segundos poco afecta la digestibilidad de almidón. Su efecto principal es en el extracto etéreo (Mateos *et al*., 2005).
- Mejorar el consumo de alimento, por la estructura más adecuada que aumenta la capacidad de retención en el buche con granos en vez de harinas, y al mismo tiempo mayor velocidad de transito del alimento en el resto del tracto gastrointestinal que reduce la sensación de saciedad.
- Incremento del valor calórico efectivo de la dieta contribuyendo con 187 kcal/kg de la dieta cuando la calidad del pelet es 100% (McKinney y Teeter, 2004). Esto principalmente debido a la disminución en la actividad física necesaria para ingerir, la cual puede ser de hasta 60%.
- Destrucción de microorganismos patógenos, que pueden reducir utilización de nutrientes o generar gasto nutricional para respuestas inmunológicas.

***Efectos negativos del peletizado cuando el tamaño de partícula es muy fino*.** Las aves que ingieren alimento peletizado consumen más agua, tienen menor desarrollo gastrointestinal (Choi *et al*., 1986), y mayores probabilidades de tener problemas intestinales si la molienda previa fue muy fina. Liu *et al*. (2006) observaron que pollos alimentados con dietas peletizadas tenían mayores concentraciones del factor de célula madre el cual es un estimulador de mastocitos que pueden inducir problemas inflamatorios en la mucosa del intestino. Algunas veces se asocia el uso de dietas peletizados con mayor incidencia de problemas metabólicos debido a que promueven mayores ganancias de peso y menor actividad física. Pero esto sucede, si el tamaño de partícula, previo al peletizado, era ya muy fina.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Aunque el proceso de peletización elimina la *Salmonella* en el alimento, si las aves se contaminan en la granja por otras fuentes, la colonización del ciego por *Salmonella* es más probable en aves alimentadas con dietas peletizadas especialmente si la molienda fue muy fina que en aves alimentadas con dietas en harina (Huang *et al*., 2006; Cuadro 3). El peletizado también puede afectar la calidad de algunos aditivos que no son termoestables como: algunas enzimas; ciertos pigmentos carotenoides; ciertas fuentes de minerales como las de iodo; probióticos; antibióticos como la bacitracina, robenidina, tilosina, penicilina y tetracicina; vitaminas como la A, C, K, tiamina, cobalamina, y el ácido fólico; por ser sensibles al calor (70-75 ºC) húmedo que disgrega la matriz de gelatina u otros materiales utilizados para su protección. Finalmente, es importante considerar que las dietas peletizadas son más susceptibles que las dietas en harina a la degradación bacteriana y por hongos si no son almacenadas adecuadamente.

Cuadro 3. Concentración de *Salmonella typhimurium* (log 10 cfu/g de contenido) y propiedades fisicoquímicas en el ciego de pollos de 22 días de edad de acuerdo al tamaño de partícula (grueso, 953 µm o fino 594 µm) o forma del alimento (harina y pelets).

	Harina		Peletizado			Valores - *P*		
Parámetro	Grueso	Fino	Grueso	Fino	SEM	TP	FA	TPxFA
Salmonella typhimurium	3.91 ^{B}	4.21 ^{B}	4.47 ^{A}	4.56 ^{A}	0.10	0.295	0.023	0.579
pH	6.12 ^{A}	6.08 ^{A}	5.72 ^{B}	5.79 ^{B}	0.06	0.934	0.012	0.505
Acetato, µg/g de conten.	3534 ^{B}	3847 ^{B}	4290 ^{A}	4637 ^{A}	138	0.162	0.003	0.941
Propionato, µg/g de conten.	224 ^{B}	243 ^{B}	284 ^{A}	276 ^{A}	11	0.809	0.045	0.545
Butirato, µg/g de conten.	872 ^{B}	943 ^{B}	1158 ^{A}	1106 ^{A}	37	0.880	0.001	0.326
Total, µg/g de conten.	5103 ^{B}	5536 ^{B}	6255 ^{A}	6571 ^{A}	172	0.169	0.001	0.853

Fuente: Huang *et al*., 2006.

El tamaño óptimo del pelet también se puede pensar que varía a medida que el ave crece. Pero resultados de varios estudios (Wilson, 2001; Cerrate *et al*., 2009) indican que hay poco beneficio al usar pelets de tamaño pequeño (1.59 vs 3.17 mm) comparados con migajas (Cuadro 4).

Los beneficios del peletizado se pueden perder cuando la dureza del pelet no permite que llegue entero al comedero. A medida que aumentan los finos, se reduce el crecimiento y aumenta el gasto de energía para aprehensión, empeorando la eficiencia de utilización. El porcentaje de finos medido en la planta de alimentos no es buen indicativo de la calidad del pelet, pues aunque los finos pueden ser tamizados, los pelets restantes pueden no ser lo suficientemente duros para soportar el manejo hasta llegar al comedero. El índice de durabilidad (ID) es el mejor indicativo.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Cuadro 4. Efecto de la presentación del alimento y tamaño del pelet en pollos machos.

Forma del alimento, 0 a 13 d[1]	Peso[1], kg		Cons.[2], kg/ave		Conv. Ali.[3], g:g		Mortalidad[4], %	
	13 d	41 d	0-13 d	0-41 d	0-13 d	0-41 d	0-13 d	0-41 d
Harina	0.417[b]	3.006	0.494[b]	4.872	1.357[a]	1.647	1.33	4.67
Crumble	0.463[a]	3.047	0.502[ab]	4.92	1.204[b]	1.64	0.67	2.67
Pelets								
1.59 mm	0.471[a]	3.062	0.510[a]	4.951	1.205[b]	1.643	2	5.33
3.17 mm	0.470[a]	3.086	0.507[a]	5.006	1.203[b]	1.648	0.67	4
P-value	<0.0001	0.379	0.006	0.443	<0.001	0.852	0.714	0.724
SEM	0.004	0.032	0.003	0.058	0.01	0.007	0.931	1.693
CV	2.34	2.6	1.31	2.89	1.87	1.05	1.122	1.97

[1] Peso vivo (kg); [2] Consumo de alimento (kg); [3] Conversión alimenticia (g:g); [4] Mortalidad;

Fuente: Cerrato *et al*., 2009.

Para mejorar la calidad del pelet medida como ID en el proceso se deben tener en cuenta los siguientes factores:

1. La humedad de la mezcla al entrar al acondicionador que debe ser entre el 12 y 14% para obtener el mejor pelet pues el vapor que se puede adicionar en el acondicionador generalmente no supera el 6%. El óptimo valor de humedad en la peletizadora debe ser cercana al 16%.
2. El tiempo de retención y el diseño del acondicionador.
3. Las propiedades del vapor y correcto balance de temperatura, presión y humedad, para obtener el mayor porcentaje de vapor de calidad.

En orden de importancia las siguientes prácticas parecen mejorar la durabilidad del pelet:

1. Uso del expander antes de la peletización (ID mejora 15%).
2. Reducción del tamaño de partícula a 665 a 550 μm (ID mejora 14.5%). Pero existe evidencia que este tamaño de partícula muy fina puede influenciar negativamente en la eficiencia de utilización de nutrientes, y en la incidencia de problemas intestinales en aves. En conclusión es mejor no usar partículas finas.
3. Uso de aglomerante en dietas de maíz-soja (ID mejora 12.5%).
4. Inclusión de 15% de trigo en dietas de maíz-soja (ID mejora 11.6%).
5. Reducción de la grasa de la dieta (1 a 0%, ID mejora 10%). 50 a 100 kcal de EM proporcionadas por grasa extra pueden anular completamente el efecto positivo del peletizado en el valor calórico efectivo de la dieta (McKinney y Teeter, 2004).
6. Aumento de la humedad de la mezcla en la mezcladora (ID mejora 10%). Lo recomendado es adicionar 1 y máximo 2% de humedad en forma de agua, o soluciones con emulsificantes, surfactantes o inhibidores de hongos como ácidos orgánicos para obtener el máximo ID. Esto también reduce la energía utilizada durante el peletizado, reduce los riesgos de bloqueo de la peletizadora, e incrementa la velocidad de peletizado. La humedad no debe ser mayor para evitar el crecimiento de hongos. La adición de emulsificantes, o surfactantes con ácidos orgánicos puede ser una solución para mejorar calidad de pelet y desempeño de los pollos (Moritz *et al*., 2002; Hott et al., 2008).
7. Aumento de la temperatura del acondicionador (+ 4 oC, ID mejora 10%).

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Teniendo en cuenta que un pelet de mala calidad puede dar más perjuicios que beneficios es primordial seguir algunas estrategias para conseguir los objetivos de calidad. Algunas veces estos procedimientos son difíciles de llevarlos a cabo cuando la planta de alimentos está subdimensionada y tiene presión para producir grandes cantidades de alimento en poco tiempo. Es mejor producir poco alimento peletizado pero de buena calidad. Las alternativas incluyen producir algunas dietas en harina con tamaño de partícula más grueso (800 – 1000 μm), o mezclar parte de los granos después del peletizado. Las experiencias de campo y algunos trabajos publicados indican que la adición de 20 y 30% del maíz de la formula en forma de granos quebrados en un molino de rodillos a dietas peletizadas puede tener casi los mismos efectos en desempeño que una dieta con una alta calidad de pelets (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de la calidad del pelet y la adición post-pelet de maíz quebrantado en molino de rodillos en comparación a dietas en harina sobre el desempeño de pollos de engorde de 3 a 6 semanas de edad.

Tratamiento	PV, [1] kg	Consu Ali[2], kg	CA[3] g:g	Mort.[4] %	Carcasa		Pechuga	
					kg	%	kg	%
Pelets de alta calidad (1)	3.167[a]	4.523[a]	1.712[ab]	2.0	1.949[a]	70.61	0.570[a]	20.65
Pelets de baja calidad (2)	3.093[ab]	4.355[b]	1.694[b]	1.3	1.891[ab]	70.67	0.559[ab]	20.92
Maíz quebrantado post-pelet (3)	3.141[a]	4.477[a]	1.715[a]	1.6	1.893[ab]	70.05	0.558[ab]	20.63
Harina (4)	3.053[b]	4.270[b]	1.695[b]	1.5	1.813[b]	69.45	0.527[b]	20.18
Error estándar de la media	0.020	0.028	0.004	0.5	0.028	0.42	0.009	0.23
Contrastes ortogonales								
1 and 2 vs. 4	0.005	<0.0001	0.183	0.857	0.006	0.032	0.003	0.043
1 vs. 2	0.017	<0.001	0.016	0.311	0.166	0.929	0.443	0.412
1 vs. 3	0.383	0.259	0.675	0.616	0.182	0.354	0.372	0.966

[1] Peso vivo (kg); [2] Consumo de alimento (kg); [3] Conversión alimenticia (g:g); [4] Mortalidad;
Fuente: Dozier *et al*., 2010.

3. Otros Factores que Mejoran Eficiencia Alimenticia

Optimo Ambiente y Programa de Oscurecimiento. La eficiencia alimenticia de las aves esta directamente relacionada con mantener la homeostasis y disminuir el gasto energético para termorregulación o actividad física. Tanto el frio, como el calor y principalmente la gran variación entre los dos puede afectar la eficiencia alimenticia. Los efectos del estrés térmico incluyen alteraciones del desarrollo y función de órganos intestinales y de todo el metabolismo.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Este efecto es más acentuado cuando el estrés o desviación de las condiciones óptimas ocurre a nivel embrionario o en los primeros días de vida. Debido a esto tanto la incubación, la recepción y la cría apropiadas son primordiales para mejorar la eficiencia alimenticia. La ventilación apropiada de acuerdo a la edad y la velocidad del viento para enfriamiento son necesarias para mejorar eficiencia de uso de nutrientes desde el periodo embrionario hasta el sacrificio. Los programas de oscurecimiento ayudan a controlar la actividad de las aves y tienen efectos en el metabolismo que en general mejoran la eficiencia nutricional. Invertir en ambiente y control ambiental es fundamental para mejorar eficiencia. Este aspecto de ambiente fue discutido anteriormente en este mismo evento (Oviedo-Rondón, 2011).

Calidad del Agua. La cantidad, calidad física (temperatura), química (pH, sales disueltas) y microbiológica del agua siempre se deben tener en cuenta para mejorar la eficiencia del uso de nutrientes. La calidad del agua es una fuente de variación importante entre granjas para la eficiencia nutricional (Macari, 1996).

Salud Intestinal. La salud intestinal es otro factor fundamental para mejorar la eficiencia nutricional. Para garantizar buena salud intestinal en los pollos se debe cuidar de los factores mencionados anteriormente y adicionalmente pensar en el control de coccidia y modulación de la microflora intestinal. Para la modulación de las poblaciones microbianas los antibióticos cumplían un rol fundamental que puede ser parcialmente reemplazado por productos alternativos como probióticos, aceites esenciales, ácidos orgánicos, mananooligosacaridos y muchos otros. Los efectos de los antibióticos y productos alternativos ya han sido discutidos en detalle en otras publicaciones (Oviedo-Rondón, 2006). Es importante recordar que tanto los antibióticos como cualquier otro producto alternativo pueden tener efectos entre 0 y 10% para mejorar la eficiencia nutricional bajo condiciones normales y con poco desafío y estrés. En muchas ocasiones no es posible observar efectos significativos en eficiencia nutricional y solo se consigue modulación de la microflora. En el control de las coccidias, que son los principales parásitos intestinales debemos, adicionalmente a modular poblaciones bacterianas, utilizar productos específicos como coccidiostatos, coccidicidas y usar la inmunidad natural de los pollos.

Enzimas Exógenas. Las enzimas exógenas son el aditivo que puede tener mayor impacto en la eficiencia nutricional. Las enzimas ayudan a quebrar compuestos químicos normalmente no digeridos por las enzimas animales. Los compuestos antinutricionales como el fitato y los polisacarideos no amiláceos (PNA) están presentes en todas las materias primas de origen vegetal. La concentración de estos compuestos es variable dependiendo del ingrediente, pero siempre disminuyen la eficiencia de los pollos para utilizar los nutrientes.

***Dr. Edgar O. Oviedo-Rondón**/ North Carolina State University*

Este efecto en el caso del fitato es por quelar nutrientes como el fósforo, calcio, microminerales, y aminoácidos, o irritar la mucosa intestinal. En el caso de los PNA su forma física es bastante hidrofóbica causando aumento de viscosidad de la digesta. Esta viscosidad impide la solubilidad de las enzimas y su acción. La digesta viscosa y no bien digerida causa proliferación de bacterias que desconjugan las sales biliares ocasionando reducción en la digestibilidad de las grasas principalmente, pero también de otros nutrientes (Bedford y Partridge, 2011).

Adicionalmente, los alimentos para aves de origen vegetal o animal generalmente presentan proteínas de difícil digestión. Estas proteínas tienen altos contenidos de puentes disulfuro y pueden encapsular los almidones o hacer difícil la digestión de las proteínas, lo que disminuye la eficiencia de utilización. Entre estas proteínas de difícil digestión se encuentra las karfirinas del sorgo, la glicinina y β-conglicinina de la soya en las fuentes vegetales, y las proteínas de las harinas de productos animales, como las de plumas y subproductos de matadero.

Para todos estos antinutrientes están disponibles enzimas exógenas específicas de acuerdo al substrato. En general todas funcionan con diferentes grados de eficacia dependiendo del pH óptimo al cual actúan; termoresistencia durante el peletizado; o factores de la dieta como el contenido de grasa, contenido de calcio, e inclusive la presencia de otra enzima que altera la digesta, disponibilidad de substrato y hasta la función gastrointestinal (Bedford y Partridge, 2011).

4. Conclusiones

La eficiencia o conversión alimenticia no parecen ser un parámetro para comparar adecuadamente eficiencia de utilización de nutrientes para pollos de lotes diversos bajo condiciones comerciales. Al buscar la mejor conversión alimenticia no siempre se obtiene la mejor eficiencia nutricional, ni el mejor retorno económico. La eficiencia nutricional indica efectos directos de conversión de nutrientes consumidos en peso vivo o producción de carne es decir efectos sobre digestibilidad y metabolismo, por lo que parece ser un mejor parámetro. Dentro de los factores para mejorar la eficiencia nutricional el primordial es el apropiado procesamiento de los alimentos. El procesamiento de alimentos afecta el desempeño de las aves. La calidad inicial de los ingredientes es fundamental para la calidad final del alimento. La molienda se debe programar para obtener partículas entre 800-1000 μm DGM con variación máxima de 8%. La variación en la mezcla no debe superar el 10% CV. Cuando estas metas no se consiguen se deben revisar y corregir los factores aquí discutidos. La dureza del pelet dicta su calidad y el efecto final en desempeño.

Además del procesamiento, el confort térmico desde la incubación hasta el momento del sacrificio son fundamentales para mejorar la eficiencia alimenticia. Los programas de oscurecimiento y oscurecimiento ayudan a disminuir la actividad física y mejorar metabólicamente la utilización de nutrientes. Mantener la salud intestinal y la calidad del agua ayuda a mantener una buena función digestiva. Y finalmente las enzimas exógenas ayudan a la eficiencia nutricional al actuar sobre factores antinutricionales presentes en alimentos que los pollos no consiguen digerir directamente.

REFERENCIAS

1. AGRI STATS Live Production Report (2008-2011). Agri Stats, Inc. 6510 Mutual drive, Fort Wayne, Indiana, USA 46825.
2. Amerah, A.M., V. Ravidran, R.G. Lentle y D.G. Thomas. 2007. Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. *World's Poult. Sci. J.* 63: 439-455
3. Bedford, M.R. y Partridge, G.G. 2011. Enzymes in farm animal nutrition. 2nd Edition. Oxfordshired, UK. CABI. 319pp.
4. Cerrato, S., Z. Wang, C. Coto, F. Yan, and P.W. Waldroup. 2009. Effect of pellet diameter in broiler starter diets on subsequent performance. *J. Appl. Poult. Res*. 18: 590-597.
5. Choi, J.H., So, K.S. y S.L. Kang. 1986. Effects of pelleted or crumbled diets on the performance and development of the digestive organs of broilers. *Poult. Sci.* 65: 594-597.
6. De Beer, M. (2009) Adjusting nutrient density when faced with volatile markets. *Proceedings of the Arkansas Nutrition Conference*.
7. Dozier, W.A., K.C. Behnke, C.K. Gehring, and S.L. Branton. 2010. Effects of feed form on growth performance and processing yields of broiler chickens during a 42-day production period1. *J. Appl. Poult. Res*. 19:219-226.
8. Engberg, R.H., Hedemann, M.S. y B.B. Jensen. 2002. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *Br. Poultry Sci.* 44: 569-579.
9. González-Alvarado, J.M. E. Jiménez-Moreno, R. Lázaro, and G.G. Mateos. 2007. Effect of type of cereal, heat processing of the cereal, and inclusión of fiber in the diet on productive performance and digestive tratis of broilers. *Poult. Sci*. 86:1705-1715.
10. Hancock, J.D. 1996. *World Poultry Misset* 12 (12): 33.
11. Hochstetler, H.W. 2005. En: *Arkansas Annual Animal Nutrition Conference*. Rogers, Arkansas, EEUU. pp: 1-3.
12. Hott, J.M., N.P. Buchanan, S.E. Cutlip, and J.S. Moritz. 2008. The effect of moisture addition with a mold inhibitor on pellet quality, feed manufacture, and broiler performance. *J. Appl. Poult. Res*. 17:262-271.
13. http://www.thepoultryfederation.com/public/userfiles/files/DeBeer%20-%20Adjusting%20Nutrient%20Density%20when%20Faced%20with%20Volatile.pdf. Acceso Febrero 10, 2012.
14. Kilburn, J. y H.M. Edwards. 2004. The effect of particle size of commercial soybean meal on performance and nutrient utilization of broiler chicks. *Poultry Sci.* 83: 428-432.
15. Leeson y Summers. 2005. Commercial poultry nutrition. 3rd. Ed. University Books. Guelph, ON. Canada.
16. Liu, Y.H., X.S. Piao, D.Y. Ou, Y.H. Cao, D.S. Huang and D.F. Li. 2006. Effects of particle size and physical form of diets on mast cell numbers, histamine, and stem cell factor concentration in the small intestine of broiler chickens. *Poult. Sci*. 85:2149-2155.
17. Lopez, C.A., Balaco, N.C. y N.M. Freitas. 2000. *Avicultura Profesional* 18: 12-14.
18. Macari, M. Agua na avicultura industrial. Jaboticabal, SP. FUNEP, 128pp.
19. Mateos, G.G., García Valencia, D. y B. Vicente Piqueras. 2005. Influencia del procesado de ingredientes y piensos terminados sobre la productividad en monogástricos. En: de 2005 XXI Curso de Especialización FEDNA Madrid, 7 y 8 de Nov.pp.277- 322.

20. McCoy, R.A., K.C. Behnke, J.D. Hancock, and R.R. McEllhiney. 1994. Effect of mixing uniformity on broiler chick performance. Poult. Sci. 73:443-451.
21. McKinney, L.J., and R.G. Teeter. 2004. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: I. Pellet quality and II. Prediction of consequential formulation dead zones. *Poult. Sci*. 83:1165-1174.
22. Moritz, J.S., K.J. Wilson, K.R. Cramer, R.S. Beyer, L.J. McKinney, W.B. Cavalcanti, and X. Mo. 2002. J Appl. Poult. Res. 11:155-163.
23. Nir I., Melcion, J.P. y M. Picard. 1990. Effect of particle size of sorghum grains on feed intake and performance by young broilers. Poult. Sci. 69: 2177-2184.
24. Nir, I., Hillel, R., Sheet, G. y Z. Nitsan 1994b. Effect of particle size on performance: 2. Grain texture interactions. Poult. Sci. 73:781-791.
25. Nir, I., Shefet, G. y Y. Aaroni. 1994a. Effect of particle size on performance: 1. Corn. Poult. Sci. 73: 45-49.
26. Oviedo Rondón, E.O. 2006. The role of nutrition in the cause and prevention of gastrointestinal perturbation. In Proceedings of the Workshop "Enteric Diseases of Poultry: The Evolving Challenges and New Developments" ACP. Sacramento, CA. March 5.
27. Oviedo Rondón, E.O. 2006. The role of nutrition in the cause and prevention of gastrointestinal perturbation. In Proceedings of the ACPV Workshop "Enteric Diseases of Poultry: The Evolving Challenges and New Developments" American College of Poultry Veterinarians, ACPV. Sacramento, California. Marzo 5.
28. Oviedo Rondón, E.O. 2010. Uso da modelagem para obter melhor custo/benefício na produção de frangos de corte. In Proceedings of the Fourth Latin-American Congress of Animal Nutrition. CLANA-CBNA. Estância de São Pedro, SP. Brazil. Nov. 23-26.
29. Oviedo Rondón, E.O. 2011. Efecto del ambiente y los programas de alimentación en el desempeño de pollos de engorde. In CD Proceedings of AECACEM, Querétaro, México. Marzo.
30. Parsons, A.S., N.P. Buchanan, K.P. Blemings, M.E. Wilson, and J.S. Moritz. 2006. Effect of corn particle size and pellet texture on broiler performance in the growing phase. J. Appl. Poult. Res. 15:245-255.
31. Pesti, G.M. 2009. Impact of dietary amino acid and crude protein levels in broiler feeds on biological performance. J. Appl. Poult. Res. 18:477-486.
32. Pesti, G.M. y S.R. Rogers. 1997. A computer program to standardize feed efficiency data for broilers of different body weights. J. Appl. Poult. Res. 6:368-372.
33. Santos, F.B.O., B.W. Sheldon, A.A. Santos Jr., and P.R. Ferket. 2008. Influence of housing system, grain type, and particle size on Salmonella colonization and shedding on broilers fed triticale or corn-soybean meal diets. Poult. Sci. 87:405-420.
34. Skinner-Noble, D.O., McKinney, L.J., and R.G. Teeter. 2005. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: III. Feed form affects broiler performance by modifying behavior patterns. Poult. Sci. 84:403-411.
35. Svihus, B., Klovstad, K.H., Perez, V., Zimona, O., Sahlström, S., Schüller, R.B., Jeksrud, W.K. y E. Perestlokken. 2004. Anim. Feed Sci. Techn. 117: 281-293.
36. Wilson, K.J. 2001. Influence of hydrothermal processing on nutritional quality and feeding value of poultry diets. PhD. Thesis. Kansas State University, Manhattan.

Regresar a lista de contenidos

EL MICROBIOMA INTESTINAL Y EL SISTEMA INMUNE

Guillermo Tellez*[1], Víctor M. Petrone[2], L.R. Bielke[1], A.D. Wolfenden[1], and B.M. Hargis[1]
[1]University of Arkansas, Fayetteville, AR USA 72701
[2]FES-Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México
*gtellez@uark.edu

¿Cuál es el tipo de célula más abundante en el cuerpo humano? Las de la piel... no. Glóbulos rojos... Tampoco. Ni blancos ni fibroblastos... Las células con mayor presencia en el organismo son los microbios. Sí, bacterias, hongos y demás seres vivos que cohabitan con nosotros y de los que depende nuestra fisiología, nutrición y salud. Un estudio ha secuenciado por primera vez sus genes.

Se estima que los microbios de nuestro cuerpo suman unos 100 billones de células, 10 veces más que las que conforman el organismo humano. Traducido en genes, estos seres vivos codifican 150 veces más que los contenidos en nuestro genoma. De todos los genes del intestino humano, el 99% son bacterianos.

El microbioma o metagenoma se ha obtenido gracias al análisis de las muestras fecales de 124 adultos europeos y contiene 3,3 millones de genes microbianos únicos de los que "cada individuo concreto porta alrededor de 600.000 y de ellos una tercera parte (200.000) está presente en la mayoría de los individuos. Con esta presencia, no sorprende el hecho de que el ser humano vive gracias a las funciones de los casi 30.000 genes humanos que codifican y dirigen la actividad de nuestras células, pero también gracias a los 600.000 genes de los microorganismos que viven en asociación con el cuerpo. Hasta ahora, se ha identificado un grupo de 160 microbios comunes a todas las personas.

Estas bacterias, que pertenecen sobre todo a las familias Bacteroidetes y Firmicutes, cumplen funciones esenciales para nuestra salud. Sintetizan vitaminas, degradan ciertos compuestos que nuestro cuerpo no es capaz de asimilar, tienen un importante papel en el sistema inmune, etc.

En total, la flora intestinal humana realiza unas 20,000 funciones diferentes, de las cuales 5,000 son aun totalmente desconocidas.

Estos 100 billones de células pesan alrededor de dos kilogramos, "peso comparable al de cualquier órgano, por lo que se les puede considerar uno más, con su propia función. Y como tal, puede estar sano o enfermo. A pesar de la gran variabilidad entre personas, se considera

que existe una 'normalidad' de esta flora intestinal y estados alterados que se corresponden con distintas patologías.

A pesar de constituir una parte tan importante de nuestro organismo, el microbioma es uno de los grandes desconocidos de nuestra biología. Hasta ahora no ha sido estudiado en profundidad y su influencia en la fisiología y funciones de nuestro cuerpo permanece ignorada. ¿Cuál es el papel del microbioma? ¿Ejerce alguna función esencial en nuestra fisiología o sus componentes nos utilizan simplemente como ecosistema para medrar y prosperar?

El Proyecto Microbioma Humano (en inglés Human Microbiome Project o HMP) es un programa del National Institutes of Health (NIH) que pretende dar respuesta a estas y otras preguntas relacionadas con nuestros compañeros de viaje. El HMP utiliza la metagenómica en conjunto con aproximaciones más tradicionales de secuenciación, para conseguir desvelar la incógnita relacionada con los microorganismos que nos acompañan.

Hasta ahora, la microbiología tradicional se basaba en el estudio de los microorganismos como especies aisladas. Sin embargo, la mayoría de los microorganismos de nuestro cuerpo no han podido ser aislados como especímenes viables para su análisis, muy probablemente debido a que su crecimiento está condicionado a un microambiente muy específico que no ha sido o no puede ser reproducido en condiciones de laboratorio. Sin ir más lejos, la mitad de los microorganismos presentes en la boca no son susceptibles de ser cultivados aisladamente. Además, entre los pocos componentes del microbioma que han podido ser aislados, los análisis de marcadores genéticos y patrones de expresión raramente se han centrado en la relación entre especies o a interacciones entre el microorganismo y el hospedador, en este caso el ser humano.

La metagenómica constituye un nuevo campo de análisis basado en las tecnologías más recientes de secuenciación del ADN que permite el análisis de poblaciones completas de microorganismos sin necesidad de aislar cada uno por separado. En lugar de estudiar por separado el genoma de cada uno de los microorganismos de una población, la metagenómica analiza el genoma de todos los organismos de una población a la vez. El objetivo en este caso no es tanto la información relativa a la bioquímica y el metabolismo del organismo, sino más bien la obtención de marcas particulares que distinguen las especies presentes en la muestra, establecen su número aproximado y sirven para deducir la distancia genética que las separa. La metagenómica sirve también para estudiar la respuesta de una determinada comunidad de microorganismos ante determinados factores y para comprobar cómo se modifica el conjunto de genomas de dicha comunidad en respuesta a diferentes estímulos.

El microbioma y la salud

Iniciativas como la del HMP persiguen aumentar nuestro entendimiento en cuanto a la relación entre los cambios en el microbioma y la salud. Quizá la primera pregunta que habría que hacerse es si existen evidencias científicas de esa relación. Pues bien, la convergencia cada vez mayor entre las observaciones clínicas y los avances tecnológicos han acelerado el interés en el estudio del microbioma, no sólo como una diana terapéutica en sí misma sino también como un repositorio del que partir a la hora de descubrir nuevos medicamentos.

Quizá el mejor ejemplo de esta idea lo constituya el microbioma del tracto digestivo. Hace unos años se identificó la causa de una de las enfermedades digestivas crónicas más comunes, la úlcera péptica. Para sorpresa de la comunidad científica y médica, el causante resultó ser una bacteria del microbioma digestivo, la especie *Helicobacter pylori*. Esta enfermedad, que había sido investigada por la epidemiología mediante aproximaciones tradicionales (más basadas en el análisis de factores de riesgo), pasó por alto durante décadas la posibilidad de que un agente transmisible estuviera detrás de esta patología.

El "caso *Helicobacter*" es un ejemplo clarificador de la idea de que muchos desórdenes aparentemente complejos y heterogéneos pueden ser infecciosos en su origen y que, aun siendo multifactoriales, pueden resolverse eliminado de la compleja ecuación de la enfermedad uno de los factores claves que la componen. Sin embargo, quizá la conclusión más importante que se puede extraer de esta historia es que la búsqueda de soluciones para muchas enfermedades crónicas ha de contemplar la interacción del microbioma humano con su hospedador. Otro ejemplo más reciente proviene del estudio de factores genéticos de riesgo relacionados con la enfermedad de Crohn. Una vez más, resulta que entre esos factores se incluyen mutaciones en genes que codifican para sensores del entorno microbiano o que regulan la respuesta inmune del hospedador hacia dicho entorno. Si a ello unimos las evidencias que relacionan los cambios en la alimentación a edades tempranas debidos a nuestro actual estilo de vida con el mayor riesgo de desórdenes inmunoalérgicos, podemos concluir que el microbioma es entre otras cosas un regulador del desarrollo del sistema inmune. La contribución de la metagenómica en el estudio del microbioma digestivo ha permitido implicar a estas comunidades de microorganismos no sólo en desórdenes inmunológicos y gastrointestinales sino en otros como la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico.

El microbioma y la industria biotecnológica

El microbioma parece ser tanto una fuente de salud (en la medida en que mantiene y regula la homeostasia intestinal) como el origen de diferentes enfermedades. En cualquiera de los dos casos es posible inferir que la posibilidad de manipular el microbioma abriría las puertas de

todo un nuevo mundo de aproximaciones terapéuticas. Este hecho es de particular importancia si tenemos en cuenta la evolución de la industria farmacéutica, de la mano de los avances biotecnológicos, desde lo químico a lo biológico. Esta evolución del sector farmacéutico proviene de la necesidad del descubrimiento de nuevas formas de tratamiento más personalizadas y con mejores perspectivas de actuación, tanto a nivel reducción de efectos secundarios como de especificidad de acción.

En los últimos tiempos han surgido numerosas estrategias de manipulación de nuestro microbioma intestinal. Un ejemplo de ello son los probióticos, microorganismos normalmente incluidos en alimentos y llamados a ejercer efectos beneficiosos sobre nuestra fisiología. Algunos alimentos probióticos tradicionales son de sobra conocidos, como el yogur, el kéfir, etc. Recientemente han hecho irrupción en el mercado otros fermentados lácticos que podríamos llamar "de diseño", que basan su actividad en cepas seleccionadas de bacterias que prometen ejercer efectos beneficiosos sobre nuestra inmunología o sobre nuestro tránsito intestinal, si bien muchas veces este efecto no ha sido estudiado en suficiente profundidad e incluso se desconoce su mecanismo de actuación. De hecho, muy probablemente el efecto de un probiótico sea específico de cepa o posea un mecanismo de acción concreto que no se pueda extrapolar a otros probióticos. En este sentido, se hacen necesarios estudios adicionales y una caracterización más profunda del mecanismo de acción de los probióticos.
El estudio en profundidad de la interrelación de los diferentes miembros de la comunidad de microorganismos entre sí, así como con el hospedador, seguramente dará como resultado un mejor conocimiento de esta dinámica biológica con la consiguiente generación de tratamientos nuevos realmente útiles y específicos, ya sea mediante el uso de probióticos específicos o mediante la manipulación indirecta del microbioma a través de la dieta. En el último caso, el desarrollo de nuevos prebióticos (alimentos funcionales no microbianos con efecto terapéutico) constituye una aproximación ya utilizada y en constante evolución.

Los componentes del microbioma pueden ser vistos como un fármaco en sí mismos, pero también como una fuente de diseño y desarrollo de nuevos medicamentos. Concretamente la exploración de la triple interacción entre hospedador, microorganismo y dieta constituye un campo de gran interés para el desarrollo de fármacos.

Ya hemos adelantado que el microbioma intestinal parece ser una fuente de señales reguladoras que influyen en la maduración del aparato digestivo, del sistema inmune y de otros órganos del cuerpo. La definición precisa de las moléculas que intervienen en este tipo de señales constituye una fuente de valor inestimable para la industria biotecnológica, pudiendo enfocar la prospección del microbioma hacia la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos o bioactivos. Esta búsqueda ya está dando resultados en el plano clínico. Por ejemplo, se han identificado diversas moléculas producidas por el microbioma digestivo con actividad

inmunomoduladora, como ácidos nucleicos y oligonucleótidos bacterianos, proteínas y péptidos, polisacáridos, etc.

La investigación sobre la interacción entre los microorganismos del microbioma también constituye una base interesante para el descubrimiento de nuevos fármacos con actividad antibiótica. Un ejemplo real de esta aproximación lo constituye el uso y explotación terapéutica de las bacteriocinas, péptidos producidos por microbios que inhiben el crecimiento de otros de diferente cepa o especie, habiéndose aislado cepas que producen bacteriocinas de amplio espectro de potencia comparable a las de los antibióticos convencionales. También se están caracterizando otras bacteriocinas de espectro restringido.

Recientes estudios de la interacción entre el microbioma humano y la dieta también han apuntado hacia un papel preponderante en el metabolismo, almacenamiento y composición de las grasas que se discutirán más adelante.

Funciones de la microbiota intestinal

El *pool* genético microbiano combinado que se observa en estudios de metagenómica excede considerablemente la complejidad del mismo genoma humano, de forma tal que en términos metabólicos, la interacción humano-microbiota intestinal se cataloga en la actualidad como supra o superorganismo,[30] el cual cumple con funciones biológicas que están revolucionando el enfoque de muchas enfermedades crónicas. La microbiota intestinal contribuye a la fisiología humana mediante la transformación de fibra dietética o mucopolisacáridos en azúcares simples, ácidos grasos de cadena corta y otros nutrientes que pueden ser absorbidos, la producción de vitaminas K, B_{12} y ácido fólico, la participación en el metabolismo y recirculación de ácidos biliares, la transformación de carcinógenos potenciales como los compuestos N-nitroso y aminas heterocíclicas y la activación de algunos compuestos bioactivos como los fitoestrógenos.

Una inequívoca evidencia de que la microbiota intestinal es esencial para la vida y el metabolismo la aporta el hecho de que los mamíferos que crecen libres de gérmenes y no adquieren su microbiota intestinal normal al nacimiento, suelen tener un desarrollo corporal anormal con pared intestinal atrófica y motilidad alterada, metabolismo reducido, corazón, pulmones e hígado de bajo peso, bajo gasto cardiaco, baja temperatura corporal, cifras elevadas de colesterol en sangre y sistema inmunológico (SI) inmaduro con niveles bajos de inmunoglobulinas y sistema linfático atrófico.

Sistema inmunológico. Comunicación microbiota intestinal-hospedero. Mecanismos de protección de la mucosa intestinal

El SI en mamíferos dispone de mecanismos innatos y adaptativos que protegen al individuo de patógenos ambientales. Los mecanismos innatos funcionan independientemente de exposiciones previas a agentes infecciosos e incluyen las barreras mecánicas (piel, epitelio de las mucosas) y componentes celulares (principalmente macrófagos y neutrófilos). En contraste con el SI innato, los elementos celulares (fundamentalmente linfocitos B y T) y moleculares del sistema adaptativo requieren del contacto previo con el agente invasor. Ambos mecanismos, actuando de manera concertada, conducen finalmente a la instauración de la memoria inmunológica; propiedad a través de la cual, después de contactar un antígeno por primera vez, el organismo adquiere la capacidad de responder mejor y más rápidamente ante la reexposición al mismo antígeno.

La mucosa gastrointestinal constituye la superficie de intercambio y comunicación más extensa del cuerpo (entre 300 y 400 m^2, si se considera la superficie total, con las vellosidades desplegadas); expuesta, además, a millones de microorganismos. Se calcula que alrededor del 50 % de la masa fecal está constituida por bacterias. Entre el hospedero y la microbiota intestinal existe una permanente comunicación e intercambio de señales e información que regulan, por una parte, el equilibrio entre las diferentes especies de microorganismos que conviven con él y por otra, la respuesta del hospedero hacia estos agentes externos. Las interacciones entre microorganismos, epitelio y tejidos linfoides intestinales son múltiples, diversas en sus características y continuas, de modo que remodelan constantemente los mecanismos locales y sistémicos de la inmunidad, adaptándolos al ambiente microbiano.

No obstante los beneficios que reporta al hospedero, la microbiota intestinal debe ser mantenida dentro de ciertos márgenes de seguridad, tanto en el sentido de las cantidades de gérmenes presentes en un momento dado, como de los diferentes tipos que de ellos existan, evitando que escapen de la vigilancia del sistema inmunológico, entren en contacto con los tejidos profundos y ocasionen daño. El epitelio de la mucosa intestinal posee potentes mecanismos de defensa que le permiten mantener su integridad y la de todo el organismo, al mismo tiempo que confieren capacidad para discriminar entre patógenos y comensales.

Los mecanismos de protección incluyen una barrera física constituida por las fuertes uniones entre las células epiteliales que sellan los espacios paracelulares, el borde en cepillo de los enterocitos que dificulta la adherencia de los microorganismos y el flujo permanente de moco que recubre íntegramente el intestino y en el cual quedan atrapados los gérmenes para ser eliminados por el peristaltismo. Adicionalmente a la barrera física, a la luz intestinal se incorpora la lisozima, enzima hidrolítica con actividad bactericida y un amplio espectro de péptidos antimicrobianos (más de 500) producidos por las células de Paneth, que funcionan abriendo

poros en las paredes bacterianas, además de inducir el reclutamiento de células del SI adaptativo.

Componentes del SI también participan en los mecanismos de protección de la mucosa, además de ser principales efectores de la comunicación entre microbiota y hospedero. Se estima que alrededor del 70 % de las células del sistema inmunológico se encuentra en, o alrededor del intestino, ya sea como células aisladas o formando parte de tejidos especializados (apéndice, placas de Peyer y folículos linfáticos aislados, todos incluidos en las siglas inglesas GALT, de "gut-associated lymphoid tissue" y los nódulos linfáticos mesentéricos). El repertorio de células incluye a los macrófagos, que representan entre el 10 y el 20 % de todas las células mononucleares en la lámina propia y hacen del intestino su mayor reservorio en humanos. Estas células despliegan una potente actividad fagocítica y bactericida y son los principales elementos con estas funciones en el SI innato.

Las células M y las células presentadoras de antígenos (APC siglas en inglés) actúan de conjunto y son un eslabón intermedio entre la entrada de componentes celulares de microorganismos y su reconocimiento por el SI. Las primeras transfieren partículas antigénicas solubles e incluso, microorganismos íntegros desde la luz intestinal; y las segundas, que incluyen a las células dendríticas, están especializadas en transformar componentes microbianos y presentarlos al SI para su reconocimiento. Las células dendríticas de la lámina propia son capaces de extender sus apéndices entre las células epiteliales y mediante los TLR_2 y TLR_4 (se describirán más adelante) de su superficie, muestrean patrones moleculares de microorganismos patógenos y comensales.

La interacción de las células dendríticas con antígenos de diferente origen conduce a su maduración y a la liberación de citoquinas, que promueven la conversión de las células T-auxiliadoras indiferenciadas (Th_0) en una respuesta madura balanceada de células T-auxiliadoras (Th_1, Th_2 y Th_3/Tr_1), un componente importante en la prevención de enfermedad. La polarización de la respuesta Th_1/Th_2 depende del patrón de citoquinas a que sea expuesta la célula Th_0; este patrón está condicionado por el tipo de antígeno procesado por las células presentadoras de antígenos. La respuesta Th_1, cuyo patrón de citoquinas está integrado por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a, siglas en inglés), interferón gamma (INF-g, siglas en inglés) y las interleuquinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-18, IL-25 e IL-27, va dirigida fundamentalmente contra patógenos intracelulares (clásicamente bacterias y virus); mientras que la Th_2, con un patrón de citoquinas constituido por IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11 e IL-13, va dirigida contra patógenos extracelulares.

Existen múltiples factores moleculares, algunos inductores y otros efectores que también participan, pero dos de ellos tienen un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis

inmune: los receptores de reconocimiento de patrones (PRR, siglas en inglés) y la inmunoglobulina A (IgA) liberada en las secreciones intestinales (IgA secretoria).

Receptores de reconocimiento de patrones

A diferencia de la inmunidad adaptativa, en la cual un infinito número de antígenos potenciales pueden ser reconocidos por las células T y B como consecuencia de las reorganizaciones que, de forma aleatoria, se producen en los genes que codifican para los receptores de antígenos específicos, las células del SI innato reconocen determinados antígenos en virtud de un grupo de receptores codificados en las líneas de células germinales y conservados, incluso, filogenéticamente. Como resultado de la limitada expresión de tales receptores, las células del SI innato no son capaces de reconocer cada posible antígeno, sino que solo lo hacen para determinadas estructuras que son expresadas por varios tipos de microorganismos (bacterias, parásitos, hongos y virus) y que han sido evolutivamente conservadas, debido a que muchas de ellas son imprescindibles para la supervivencia de dichas especies. Estos motivos estructurales conservados han sido llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, siglas en inglés) e incluyen determinados lípidos, LPS, lipoproteínas y ácidos nucleicos. Los receptores del SI innato que reconocen estas estructuras se denominan receptores de reconocimiento de patrones (PRR, siglas en inglés). Las interacciones entre PRR y PAMP resultan en activación de señales intracelulares que culminan con la producción de citoquinas inflamatorias, quimoquinas o interferones. Estas sustancias actuando coordinadamente alertan al organismo sobre la presencia de un agente externo y la posibilidad de una infección.

Entre otros, los PRR incluyen a los miembros de la familia de los receptores Toll like (TLR, siglas en inglés), los receptores de los dominios de oligomerización ligadores de nucleótidos (NOD-like receptors; NLR, siglas en inglés) y los genes tipo helicasa inducibles por ácido retinoico (RIG-like helicases, RLH, siglas en inglés). Desde su descubrimiento, se hizo evidente el papel decisivo, tanto para TLR como para NOD en la protección del hospedero contra las infecciones microbianas y en la homeostasis de la colonización por la microbiota intestinal.

Hasta la fecha, los PRRs mejores caracterizados son los TLRs, una familia de receptores transmembrana evolutivamente conservados desde las plantas hasta los vertebrados, de los cuales se han identificado 13 en mamíferos: 10 en humanos (TLR_{1-10}) y 12 murinos (TLR_{1-9} y TLR_{11-13}); entre ellos, algunos son homólogos.[27] Los correspondientes PAMPs para los TLRs comprenden lipoproteínas di y triaciladas, el peptidoglicano y el ácido lipoteicoico de la pared celular de bacterias; el zymosan de la pared celular de hongos; ARN de doble cadena, generado durante la replicación de virus ARN; LPS bacterianos; flagelina, monómero del flagelo de algunas especies de bacterias; regiones ricas en guanina-uracilo (GU) del ARN de una sola cadena y regiones de bajo grado de metilación del ADN bacteriano y viral.

Es de resaltar el hecho de que varios de los PAMPs que constituyen ligandos de TLRs, son o contienen lípidos entre sus componentes y que además esta porción lipídica es esencial para su actividad agonista. Tal es el caso, de los LPS, ligandos de TLR_4, en los que la fracción lipídica soporta la mayor parte de la actividad biológica; o de los lipopéptidos que activan a TLR_2. Adicionalmente, los ácidos grasos del componente lipídico son generalmente saturados y están acetilados y cuando, experimentalmente, estos ácidos grasos insaturados son desacetilados o sustituidos por ácidos grasos insaturados, se pierde la actividad agonista o actúan, incluso, como antagonistas. A ello se deben adicionar los hallazgos que relacionan los tipos de ácidos grasos de la dieta con la activación o no de los TLRs. Los saturados, por sí solos, son capaces de actuar como ligandos y estimular a TLR_2 y TLR_4 y modular la expresión de determinados genes, mientras que los insaturados inhiben las señalizaciones derivadas de estos receptores, en presencia, incluso de LPS.

La expresión de TLR es amplia en células del SI innato como monocitos y macrófagos tisulares. Varios de ellos se expresan también en células del SI adaptativo (linfocitos B, linfocitos T y células dendríticas), en células epiteliales y endoteliales, en adipocitos y en células del parénquima de algunos órganos. En adipocitos se ha descrito la presencia de TLR_2 y TLR_4, fundamentalmente el primero.

El reconocimiento de componentes microbianos a través de PRRs tales como TLRs es considerado el paso inicial a través del cual el SI informa a las células inmunocompetentes para que estas respondan adecuadamente ante cada estímulo ambiental. Posterior a la interacción entre un ligando y su correspondiente TLR, la cascada de interacciones y señalizaciones que se producen entre factores de diferente naturaleza conducen, fundamentalmente, a la disociación del complejo formado entre el factor nuclear kappa B (NF-kB, siglas en inglés) y su proteína reguladora, el inhibidor de kB (IkB, siglas en inglés), como consecuencia de la fosforilación de esta última. El resultado de esta disociación es la traslocación de NF-kB desde el citoplasma al interior del núcleo, donde induce la regulación de genes involucrados en la expresión de mediadores proinflamatorios TNF-a, IL-1b, IL-6 e IL-12, en la generación de quimiotaxis, fagocitosis y producción de especies reactivas del oxígeno y en la polarización de la respuesta Th_1/Th_2 a predominio de la primera, sobre todo por influencia de IL-12.

Se ha propuesto que la discriminación entre patógenos y comensales es altamente dependiente del rasgo bacteriano reconocido por los PRRs. A diferencia de los patógenos, las bacterias comensales conviven en armonía con su hospedero, porque solo promueven una activación transitoria de los NF-kB, sin mayores consecuencias para su supervivencia o porque son capaces de suprimir su activación, a través de mecanismos que involucran la exportación de NF-kB desde el núcleo, inhibición de la degradación de NF-kB posterior a su fosforilación en la

células epiteliales, regulación de la expresión de TLR e inducción de citoquinas inflamatorias como IL-10.

IgA secretoria

La IgA es la inmunoglobulina más abundante en el intestino y su producción obedece a varios mecanismos conservados evolutivamente. En humanos, al menos el 80 % de todas las células plasmáticas están localizadas en la lámina propia del intestino, y juntas producen más IgA (40-60 mg/kg/día) que cualquiera de los otros isotipos de inmunoglobulinas combinados. La IgA es secretada como dímero, después de incorporársele la cadena J y posterior asociación con la glicoproteína epitelial transmembrana conocida como receptor de inmunoglobulinas poliméricas.

Las células B humanas expresan dos subclases de IgA: IgA1 e IgA2; la segunda es más resistente a la acción de las proteasas bacterianas y tiene, como consecuencia, una vida media más larga en la luz intestinal. La presencia de IgA en el tracto gastrointestinal es necesaria para la regulación de la comunidad de bacterias que allí residen y su adecuada distribución en cada uno de los segmentos intestinales. En ratones, la ausencia de IgA conduce a una expansión anormal de bacterias anaerobias en todos los segmentos del intestino delgado, mientras que su restablecimiento produce un regreso de estas bacterias a los segmentos del intestino grueso donde habitualmente viven y una restitución de la microbiota normal del intestino delgado.

Además de regular cuáles microorganismos convivirán con el hospedero y cuáles no, la IgA, protege la superficie de la mucosa intestinal de la colonización e invasión por patógenos (IgA dependiente de células T, monoreactiva y de elevada afinidad) y al mismo tiempo confina las bacterias comensales a la luz intestinal (IgA independiente de células T, polireactiva y de baja afinidad) impidiendo que abandonen este sitio y alcancen los tejidos extraintestinales, en un proceso conocido como "exclusión inmune". Estos hechos parecen tener implicaciones importantes en el proceso de desarrollo de tolerancia a los comensales y de una adecuada respuesta inmune contra los patógenos. IgA, por otro parte, media la traslocación de antígenos a través de las células M y limita la penetración de bacterias intestinales a los linfonodos mesentéricos. Evidencia de ello son los hallazgos de que *Shigella flexneri*, una bacteria Gram negativa incapaz de atravesar el epitelio intestinal en ratones, es rápidamente detectada en las placas de Peyer y nodos mesentéricos cuando son cubiertas por IgA secretoria específica antes de ser administrada a los animales. Esta entrada controlada de los complejos inmunes IgA-antígenos a través de las células M parece ser crítica para una adecuada iniciación y amplificación de la respuesta inmune intestinal, incluyendo la propia producción de IgA. Además de controlar a patógenos y comensales, los anticuerpos IgA neutralizan epítopos derivados de estos con actividad proinflamatoria, como los LPS y ejerce un profundo efecto sobre la expresión

de genes bacterianos involucrados en el daño oxidativo; restringiendo, de esta forma, la respuesta inflamatoria de las células inmunes intestinales.

Por otro lado, la expresión de IgA en las secreciones intestinales es grandemente influenciada por los estímulos antigénicos provenientes de la colonización del intestino mediada por los TLRs. Animales criados en condiciones libres de gérmenes tienen placas de Peyer extremadamente pequeñas y un reducido número de células plasmáticas productoras de IgA en la lámina propia.

Los humanos al nacer producen escasas cantidades de IgA, las cuales se incrementan gradualmente desde los primeros días en la misma medida en que entran en contacto con las diferentes especies microbianas. La vía y forma de nacimiento, el tipo de lactancia y duración de la misma, así como la introducción de la alimentación complementaria, son factores que exponen al niño a diferentes ambientes y en consecuencia a diferentes perfiles microbianos que impactarán fuertemente el inmaduro SI del neonato y la consiguiente expresión de IgA en respuesta a los diferentes estímulos antigénicos.[52] Evidencias experimentales han encontrado, por ejemplo, que *Bacteroides* (anaerobios obligados Gram negativos, género más abundante del filum *Bacteroidetes*) induce una mayor producción de IgA que *Lactobacilos* (también anaerobios obligados, pero Gram positivos y pertenecientes al filum *Firmicutes*).[78] Asimismo, un estudio dirigido a identificar modificaciones en la microbiota intestinal asociadas a diferentes regímenes dietéticos para reducir el peso corporal encontró una disminución en la proporción de bacterias cubiertas por IgA, paralela a una reducción significativa en la proporción de microorganismos Gram positivos (*Firmicutes*), en individuos con una mayor pérdida de peso.

Evidentemente IgA no es el único factor involucrado en el mantenimiento de las proporciones adecuadas de comensales y la exclusión de patógenos en el tracto digestivo, pero las evidencias se inclinan hacia un rol preponderante de esta inmunoglobulina en dichas funciones, incluido el hecho de su casi exclusivo predominio en el intestino y la existencia de múltiples vías para su generación. Este balance parece ser función tanto de las concentraciones de IgA producidas en respuesta a determinado estímulo antigénico, como del tipo de ella producido, dependiendo o no de la inducción por las células T. Las bacterias cubiertas por IgA dependiente de linfocitos T son expuestas al SI y en consecuencia eliminadas; aquellas cubiertas por IgA no dependiente de células T "escapan" de la "vigilancia" del SI y son mantenidas como comensales en la luz intestinal. La respuesta de IgA a los comensales es mucho más independiente de las células T que la respuesta a patógenos.[52] De esta forma, la existencia de IgA en las secreciones del intestino depende del efecto que sobre el SI tiene la presencia de determinados tipos de microorganismos y a su vez las cantidades, poblaciones y distribución de estos depende, en gran medida, de que se secrete esta inmunoglobulina.

Adipocito, tejido adiposo e interacciones entre el sistema inmune y el metabolismo

Los organismos pluricelulares han evolucionado de manera que su supervivencia descansa fundamentalmente, en la habilidad para enfrentar las infecciones y defenderse del daño que estas pueden ocasionar, así como en la capacidad de almacenar energía para los momentos de baja disponibilidad de nutrientes o elevadas demandas energéticas. El SI y el metabolismo están, por tanto, entre los requerimientos más elementales en todo el reino animal y muchos sistemas que sirven de sensores para los nutrientes y el reconocimiento de patógenos han sido altamente conservados desde organismos como *Caenorhabditis elegans* y *Drosophila melanogaster*, hasta los mamíferos. No resultaría sorprendente, entonces, que vías del SI y el metabolismo hayan evolucionado estrechamente vinculadas e interdependientes. Muchas hormonas, citoquinas, proteínas y péptidos de señalización, factores de transcripción y lípidos bioactivos tienen importantes roles tanto en el metabolismo como en el SI, más aún, ambos sistemas pueden regularse mutuamente.

A pesar de la aparente independencia entre los campos de la inmunología y la nutrición, muchas observaciones, algunas ya más antiguas, otras más recientes, muestran claramente que el SI no puede funcionar adecuadamente en condiciones de malnutrición, ya sea por defecto o por exceso. El desbalance metabólico conduce a un desequilibrio inmunológico, con malnutrición e inmunosupresión en un extremo del espectro, y la obesidad y enfermedades inflamatorias en el otro extremo. Así, la integración entre el metabolismo y el SI, la cual en condiciones normales es beneficiosa y necesaria para el mantenimiento de una buena salud, puede convertirse en perjudicial en condiciones de sobrecarga metabólica.

El adipocito y el tejido adiposo

Hasta hace poco tiempo el tejido adiposo era considerado un mero compartimiento cuya función principal era el almacenamiento de tracilglicéridos, debido a la capacidad del tipo de células más abundante en su estructura, el adipocito, capaz de almacenar hasta el 95 % de su masa en grasa. En la actualidad se considera que el adipocito, además de almacenar lípidos, es una célula endocrina extremadamente activa con roles centrales en la homeostasis energética de todo el organismo e importante influencia sobre otros procesos fisiológicos, entre ellos la función inmune, lo cual ejecutan no solo actuando sobre la homeostasis lipídica sistémica, sino a través de la producción y liberación de factores hormonales, algunos propios y otros compartidos con otros tejidos; citoquinas y componentes de la matriz extracelular (denominados todos adipoquinas).

Entre las principales adipoquinas producidas por el tejido adiposo se encuentran la adiponectina (única adipoquina secretada exclusivamente por el adipocito), leptina, resistina, amiloide sérico A3, omentina, visfatina y la proteína ligadora de retinol 4 (RBP4, siglas en inglés); aunque los patrones de secreción varían ampliamente entre la grasa del tejido celular subcutáneo y la grasa visceral.

Tejido adiposo y sistema inmune

Los nexos entre el tejido adiposo y el SI van desde el nivel anatómico hasta vínculos de diferentes vías, sobre todo del metabolismo energético. Se ha sugerido, por estas razones, que el tejido adiposo debiera formar parte del SI. A nivel anatómico es un hecho que gran parte del tejido linfoide, sobre todo los ganglios linfáticos, se encuentran rodeados y fuertemente asociados al tejido adiposo, lo cual tiene importantes repercusiones estructurales y funcionales. En respuesta a una agresión foránea, se requiere que la energía esté disponible rápidamente para una inmediata reacción del organismo. Por tanto, el tejido adiposo que rodea los ganglios linfáticos sirve como principal suministrador de ácidos grasos para ser utilizados como combustible. Se ha observado, *in vivo*, una inmediata lipólisis en los adipocitos que rodean los ganglios linfáticos posterior a activación inmune local. Los ácidos grasos poliinsaturados del tejido adiposo periganglionar son, por otra parte, precursores de prostaglandinas y leucotrienos, ambos involucrados en la inflamación. Desde el punto de vista estructural se ha observado que el contenido de lípidos de la membrana plasmática de células dendríticas y linfoides de los ganglios linfáticos, se correlaciona con el patrón lipídico de los adipocitos adyacentes, lo cual, adicionalmente, tiene implicaciones en las señalizaciones entre las células presentadoras de antígenos y los linfocitos T y en la orientación de la respuesta Th_1/Th_2.

Histológicamente la composición del tejido adiposo no es homogénea. Además de los adipocitos, existen otros tipos celulares que incluyen: pericitos, monocitos, macrófagos, fibroblastos y células endoteliales y del músculo liso vascular; varios de ellos con actividad inmunocompetente. Más aún, por si esta cercanía morfológica entre células adiposas e inmunes no fuese suficiente, los preadipocitos muestran una potente actividad fagocítica y pueden diferenciarse en macrófagos en respuesta a un estímulo apropiado. Muchos genes que son críticos para el adipocito, incluyendo aquellos que codifican factores de transcripción, citoquinas, moléculas inflamatorias, transportadores de ácidos grasos y receptores barrenderos, se expresan también en los macrófagos y tienen un importante rol en la biología de esta células.

Un rasgo característico en la obesidad, además del incremento del volumen del adipocito, es la infiltración del tejido adiposo por macrófagos, los cuales pueden venir desde los monocitos circulantes al diferenciarse, o por proliferación y diferenciación de preadipocitos. El mayor porcentaje de macrófagos que aparece en el tejido adiposo proviene de la diferenciación a partir de monocitos. Esta diferenciación conduce a dos subpoblaciones de macrófagos: M_1 (producen una amplia variedad de citoquinas inflamatorias y tienen una considerable actividad antimicrobiana) y M_2 (generan productos antiinflamatorios y median la reparación de tejidos). La diferenciación de monocitos en macrófagos M_1 ó M_2 es muy parecida a la diferenciación de los linfocitos Th en Th_1 ó Th_2 y está regulada por diferentes estímulos. Los TLRs promueven el fenotipo M_1 y ello se correlaciona con un incremento de la expresión de citoquinas y

quimoquinas proinflamatorias incluyendo el TNF, IL-6, IL-8, proteína quimioreactante monocitaria 1 e IL-18 en el tejido adiposo.

En términos de respuesta inmune, la integración entre macrófagos y adipocitos tiene sentido, dado que ambos tipos celulares participan en la respuesta inmune innata: los macrófagos que en su rol de células inmunes eliminan patógenos y secretan citoquinas inflamatorias y quimoquinas, y los adipocitos que liberan lípidos moduladores del estado inflamatorio o participan en la neutralización de patógenos.

Otro punto de convergencia entre metabolismo y SI son los receptores nucleares conocidos por sus siglas en inglés PPAR (receptor activado del proliferador de peroxisomas) y LXR (receptor hepático X). Ambos son factores de transcripción activados por lípidos. El primero tiene como ligandos endógenos a los ácidos grasos insaturados, eicosanoides, componentes de las lipoproteínas LDL y VLDL y derivados del ácido linoleico y actúa modulando varias funciones celulares que incluyen la diferenciación del adipocito, la oxidación de los ácidos grasos y el metabolismo glucídico, además de inhibir la expresión de genes inflamatorios que involucra la represión de los genes diana de NF-kB. El segundo responde a varios metabolitos del colesterol y regula la expresión de genes involucrados en el metabolismo de esta sustancia en tejidos específicos y el control de su contenido total en todo el organismo. Adicionalmente a las funciones metabólicas, LXR atenúa la expresión de los productos de genes en respuesta a LPS y ha emergido como un importante regulador de la inmunidad innata.

Microbiota intestinal y obesidad

Recientes estudios sugieren una asociación de las modificaciones de la microbiota intestinal con la etiopatogenia de la obesidad y su comorbilidad asociada. Tanto en humanos, como en modelos animales, se describe un incremento en la razón *Firmicutes/Bacteroidetes* en individuos obesos. La proporción de material genético de *Firmicutes* es más elevada en adultos obesos que en delgados. Esta proporción se hace más semejante cuando los obesos pierden peso durante un año, independientemente del hecho de que la reducción se logre limitando grasas o carbohidratos. El mecanismo subyacente propuesto es el de sistemas y estilos de vida que generan el desarrollo de una microbiota intestinal orientada hacia la generación de obesidad en la vida posterior.

Los ratones genéticamente obesos (Lep ob/ob), tienen niveles dramáticamente más altos de *Firmicutes* y mucho más bajos de *Bacteroidetes* que sus similares delgados. Estudios de metagenómica muestran que la microbiota del intestino distal de esos ratones obesos está enriquecida con genes relacionados con el almacenamiento de energía. Adicionalmente, resulta sorprendente reconocer que ese fenotipo generador de obesidad puede ser transmisible y la implantación de esa microbiota intestinal obesogénica en ratones libres de gérmenes trae como

resultado una adiposidad incrementada, en comparación a lo que sucede cuando la que se trasplanta es la microbiota intestinal de ratones delgados. Cuando se suministra a ratones normo peso una dieta típica occidental elevada en calorías durante 8 sem (aceptado mecanismo de generación de obesidad en ratones), se observa también una marcada reducción de *Bacteroidetes* y una manifiesta elevación de *Firmicutes*.

Todos esos datos sugieren que la dieta, puede efectivamente, ser capaz de modificar la estructura de la microbiota del tracto intestinal, pero por supuesto, se requerirá de extensos estudios epidemiológicos que confirmen si ciertamente la obesidad se encuentra asociada, causalmente o no, con una modificación de la microbiota intestinal en seres humanos. Una vez que esa asociación pueda ser clarificada, entonces tendría que definirse si la modificación de la microbiota intestinal es capaz de generar obesidad. En este sentido hay resultados que muestran que ratones que han crecido de forma natural tienen más grasa corporal que sus contrapartes libres de gérmenes y que la colonización de esos individuos libres de gérmenes con bacterias que forman parte de la microbiota intestinal normal induce lipogénesis hepática y almacenamiento incrementado de lípidos en los adipocitos. Si estos resultados fuesen también detalladamente descritos en seres humanos, las implicaciones terapéuticas podrían ser de importancia.

Cuando se comparan ratones libres de gérmenes con convencionales, la microbiota intestinal funciona como un factor ambiental que regula el almacenamiento de grasa corporal. La colonización del intestino de ratones adultos libres de gérmenes con una microbiota recolectada del ciego de animales convencionales produce un significativo incremento del contenido de grasa corporal y una resistencia relativa a la insulina dos semanas después, a pesar del reducido consumo de alimentos. Esta colonización eleva la utilización de polisacáridos indigeribles, modula genes que afectan la deposición grasa y energética, incrementa el ingreso de glucosa en el intestino y la fermentación de carbohidratos hasta ácidos grasos de cadena corta en el intestino distal, su absorción y adicional estimulación de la síntesis *di novo* de triglicéridos en hígado.

No obstante las evidencias, la asociación entre el peso corporal y las diferencias en las proporciones de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* puede que no sea tan simple. Un estudio realizado con gemelos mono y dicigóticos publicado en Nature en 2009 mostró que existe un núcleo de microorganismos común a cada individuo y que las desviaciones de este núcleo se asocian con diferentes estados fisiológicos (obesos y no obesos); pero este núcleo, compartido y conservado, existe más a nivel de genes que a nivel de diferentes tipos o especies de microorganismos e incluye un componente importante relacionado con varias funciones metabólicas. Los gemelos monocigóticos tienen una ganancia de peso más cercana y reproducible entre un individuo y otro ante una sobrealimentación y son más concordantes con

el índice de masa corporal que la que tienen individuos dicigóticos, lo cual deja una puerta abierta a otros posibles mecanismos, que eventualmente, también podrían estar involucrados.

La mayor parte de las investigaciones se ha centrado en la búsqueda de bacterias *per se*, pero el tracto gastrointestinal también es hábitat de otros microorganismos como las arqueas. Las arqueas (Archaea) son organismos procariotas, pero con características que las separan de las bacterias. Producen gas metano a partir de varios sustratos como H_2 y CO_2; acetato y metilaminas, de ahí la denominación de arqueas metanogénicas o simplemente metanógenos. Son capaces de vivir en ambientes extremos en los que la temperatura, presión, pH y salinidad son incompatibles con la vida de células humanas y de la mayoría de los animales. El principal nicho ecológico de las arqueas en humanos es el colon distal aunque también se han encontrado en las encías y vagina. Las arqueas también han sido vinculadas a una acumulación incrementada de grasa en adipocitos en interacción con las bacterias reductoras de sulfato y el resto de la microbiota intestinal.

Ya se han mencionado los efectos que sobre la instauración de un determinado patrón de microbiota intestinal tienen los eventos que ocurren en la infancia precoz, incluida la lactancia materna; pero mucho más que tener una influencia sobre la composición de la microbiota intestinal infantil mediante el suministro de bacterias beneficiosas y factores de crecimiento prebiótico, la lactancia materna exclusiva pudiera también afectar la tendencia al desarrollo de la obesidad durante la adolescencia o en la edad adulta.

Producto del hecho de que una alterada microbiota intestinal puede ser uno de los factores que contribuyan al desarrollo de obesidad, los estudios prospectivos sobre esta afección deberán ser estructurados en el futuro con el objetivo de identificar en qué medida los diferentes factores ambientales como forma de nacimiento, tipo de lactancia, alimentación complementaria, tratamientos antibióticos recibidos afectan tanto la colonización microbiana del intestino durante la infancia precoz, como la formación de comunidades microbianas estables y de qué forma estas modificaciones, favorecen o no, el desarrollo ulterior de la obesidad.

Posibles mecanismos que asocian el comportamiento de la microbiota intestinal con la obesidad

La microbiota intestinal expresa un amplio repertorio de enzimas glicósido hidrolasas que los humanos no codifican en su genoma. Estas enzimas transforman polisacáridos complejos de la dieta a monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato. Los monosacáridos y AGCC constituyen una fuente importante de energía adicional para el hospedero, estimada en alrededor del 10 % de toda la energía que el

organismo absorbe. La capacidad para fermentar carbohidratos de la dieta varía ampliamente entre microorganismos y las evidencias apuntan hacia una mayor eficiencia de la microbiota intestinal de los individuos con sobrepeso para degradar los carbohidratos no digeribles de los vegetales. Los AGCC no solo difunden pasivamente o son recuperados vía transportadores de ácidos monocarboxílicos, sino que también pueden actuar como moléculas de señalización. El propionato y el acetato son ligandos de los receptores acoplados a la proteína G (GPCRs, siglas en inglés): Gpr41 y Gpr43, expresados fundamentalmente por las células enteroendocrinas del epitelio intestinal. Se ha encontrado que los GPCRs inhiben la expresión del péptido YY, un factor producido por las células enteroendocrinas y el sistema nervioso central y periférico que normalmente tiene efecto anorexígeno, acelera el tránsito intestinal y reduce la extracción de energía de la dieta. Los monosacáridos absorbidos estimulan factores de transcripción claves como la proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos (ChREBP, siglas en inglés), factor que estimula la lipogénesis hepática.

Otro mecanismo postulado se refiere a la supresión intestinal de la expresión del factor adiposo inducido por el ayuno (Fiaf, siglas en inglés), también conocido como proteína 4 semejante a la angiopoyetina. Fiaf es un inhibidor circulante de la lipasa lipoproteica (LPL, siglas en inglés), producido también por intestino, hígado y tejido adiposo. La actividad incrementada de LPL conduce a una mayor incorporación de ácidos grasos a la célula y a la acumulación de triglicéridos en el tejido adiposo.

Un mecanismo adicional involucra a la proteína quinasa activada por AMP (AMPK, siglas en inglés). AMPK es una enzima conservada evolutivamente desde levaduras hasta los humanos que funciona monitoreando los niveles de energía en el organismo y se activa en respuesta al estrés metabólico que resulta en un incremento en la razón AMP/ATP. La forma desfosforilada de la enzima estimula la oxidación de ácidos grasos en tejidos periféricos y conduce a una disminución de los niveles de glucógeno en el hígado e incremento de la sensibilidad a la insulina, mientras que la forma fosforilada induce lo contrario. La ausencia de microbiota intestinal en ratones libres de gérmenes se asocia a incrementos en la actividad de AMPK fosforilada en hígado y músculo.

Un último mecanismo propuesto está relacionado con el estado de endotoxemia metabólica generado por la traslocación de LPS desde la luz del intestino, debido a alteraciones en la permeabilidad del epitelio intestinal, asociado todo a las dietas ricas en grasa. La modulación de la microbiota intestinal que sigue a las dietas con elevado contenido de grasa incrementa fuertemente la permeabilidad intestinal por reducción de la expresión de dos genes que codifican para proteínas (ZO-1 y ocludina) encargadas de mantener las fuertes uniones entre las células del epitelio intestinal. Se propone que los LPS de la microbiota Gram negativa, continuamente liberados a partir de las células muertas, son traslocados a los capilares

intestinales a través de un mecanismo dependiente de TLR_4. Los LPS son transportados más eficientemente junto a los lípidos de la dieta por quilomicrones recién formados, inducen un estado de endotoxemia y en los tejidos diana, interactuando nuevamente con TLR_4, promueven la inflamación y el resto de los fenómenos característicos de la obesidad.

Epigenética, sistema inmune y obesidad

El fenotipo de un individuo no es exclusivamente determinado por el genotipo. La secuencia de cuatro nucleótidos contenida en el código genético es como la tinta indeleble, que salvo raras excepciones es fielmente copiada de una célula a otra, de generación a generación. Pero, por encima de este código existe otro, literalmente "epigenético", representado por la metilación o desmetilación de las bases citosina del ADN en la secuencia CpG o por acetilación, fosforilación, ADP ribosilación o biotinilación de las histonas. Gosden y Feinberg definen la epigenética como "un código escrito a lápiz en los márgenes del ADN". El término hace referencia a cambios en la expresión de determinado gen sin que ocurran modificaciones en la secuencia de nucleótidos de dicho gen. Los procesos epigenéticos pueden ser influenciados por nutrientes y otros factores ambientales y, dependiendo de su naturaleza e intensidad, determinan el silenciamiento o activación de determinados genes. Estudiados en gran medida han sido los efectos de los donadores de grupos metilo de la dieta (metionina y colina) y folato sobre el grado de metilación del ADN, tanto en humanos como en animales.

Aún cuando la genética distingue, en gran medida, a un individuo de otro, el epigenoma o información epigenética, distingue un tipo de célula de otra y cambia rápidamente en la embriogénesis temprana a medida que la célula se diferencia. Los errores que pueden ocurrir durante este proceso pueden ser eliminados en la misma línea germinal, sin embargo, existen evidencias de que pueden quedar "borrones", que potencialmente permitirían que una enfermedad sea transmitida epigenéticamente, tal como sucede con la transmisión genética. En mamíferos se describen dos períodos críticos de modificaciones epigenéticas, uno ocurre durante la gametogénesis, con una amplia desmetilación seguida de remetilación, posterior a la fertilización y el otro durante la embriogénesis temprana, también con un evento de desmetilación, aunque procesos epigenéticos pueden ocurrir durante toda la vida.

Se ha propuesto que el posible origen de enfermedades metabólicas en etapas tardías de la vida, incluyendo la obesidad, estaría determinado en gran parte por exposiciones a un medio adverso (esencialmente disminución o carencia de determinados nutrientes) durante la etapa embrionaria, o edades tempranas posteriores al nacimiento. Las modificaciones epigenéticas durante estos períodos críticos tienen el mayor efecto sobre el fenotipo. En 1986, David Barker de la Universidad de Southampton, propuso la llamada "hipótesis del origen fetal de las enfermedades crónicas". El concepto subyacente consiste en que el ambiente nutricional *in utero,* programa, de alguna manera, un fenotipo que se constituye en riesgo para el desarrollo

de varias enfermedades. Implícita en esta hipótesis está la idea de que el genoma fetal puede detectar las modificaciones de su ambiente y realizar las adaptaciones necesarias para sobrevivir en dicho medio. Estos cambios inducidos por la disponibilidad de nutrientes pueden ser transitorios, pero, según la hipótesis de Barker, si ellos ocurren dentro de determinado período crítico del desarrollo, el resultado puede generar modificaciones irreversibles, que persisten a lo largo de toda la vida.

Se conoce que las marcas epigenéticas pueden ser heredables. La mayoría de las metilaciones del ADN son eliminadas en la misma línea germinal, sin embargo, algunos sitios metilados pueden persistir y ser replicados entonces, por la enzima ADN metiltrasferasa, cada vez que la célula se divide. Cuando los genes pasan de una línea germinal a la otra, el ADN es transferido junto a sus histonas asociadas. Si las histonas son marcadas epigenéticamente, estas marcas pueden ser también copiadas en cada división celular, influyendo la expresión de los genes a lo largo de la vida.

La mayoría de los trabajos en este campo se han centrado en la búsqueda de modificaciones que afecten directamente determinadas funciones metabólicas relacionadas, sobre todo, con el metabolismo energético. Sin embargo, ¿podrían las modificaciones epigenéticas afectar la funcionalidad del SI, de modo que se favoreciese el desarrollo de un determinado patrón de composición de microbiota intestinal sobre otro? Tal vez, incluso, la modificación de la microbiota pueda ser un efecto colateral, y el factor causal en todos estos fenómenos sería entonces la disfunción del SI.

La ontogenia del SI, y en consecuencia la inmunocompetencia del individuo, es altamente dependiente de micronutrientes. Las carencias de cinc, cobre, hierro, selenio y de vitaminas A, C, E y complejo B generan alteraciones en gran parte de sus funciones específicas. Adicionalmente, algunos de estos minerales y vitaminas están involucrados directamente en los procesos epigenéticos.[116] Las enzimas ADN metiltransferasa, algunas histonas lisina metiltransferasas y la histona desacetilasa, por ejemplo, son todas cinc-dependientes y la deficiencia de este mineral, en ratas, reduce significativamente la metilación del ADN e histonas.

Existen informes sobre genes, cuyos productos participan de alguna forma en funciones específicas del SI, los cuales pueden ser afectados por modificaciones epigenéticas. El gen de la leptina, hormona hoy reconocida como modulador inmune similar a citoquinas, es uno de ellos. La deficiencia congénita de leptina es un trastorno poco frecuente que se manifiesta por obesidad grave e hiperfagia acompañada de disfunción metabólica, neuroendocrina y del SI. La biosíntesis de prostaglandinas, por otro lado, se ha encontrado afectada en tejidos placentarios, tanto por metilación del ADN, como por acetilación de las histonas del gen prostaglandina H sintasa 2 que codifica para este mediador inflamatorio. En la cascada de señalizaciones mediada por TLR_4 en macrófagos estimulados por LPS, se han identificado dos clases de genes

cuya regulación descansa en modificaciones de las histonas: unos, que solo responden a un estímulo inicial de LPS y otros que responden a estímulos repetidos. Los primeros incluyen genes de citoquinas proinflamatorias, mientras los segundos, corresponden a genes que codifican para antimicrobianos como el péptido relacionado con la catelicidina.[126] Adicionalmente, se ha informado que las concentraciones de ARN mensajero de PPARa en ratas recién nacidas son sensibles a cambios en el contenido de ácido fólico de la dieta materna. A todo lo anterior hay que agregar los hallazgos de que la diferenciación de las células T inmaduras y la polarización de la respuesta Th_1/Th_2 y sus patrones de citoquinas, dependen en gran medida de mecanismos epigenéticos asociados a factores ambientales, como dieta y situaciones estresantes.

Topología de la grasa corporal. Grasa visceral, inflamación y resistencia a insulina y leptina

La acumulación excesiva de energía en forma de grasa corporal es una condición de riesgo para la salud. Sin embargo, hay evidencias de que la extensión de su depósito en el organismo, no es necesariamente un determinante de morbilidad en la obesidad. Las mujeres acumulan más grasa que los hombres y sin embargo viven más y muestran menos morbilidad por complicaciones metabólicas relacionadas con obesidad. *Vague* citado por *Matsuzawa*, fue el pionero de este concepto hace cerca de 60 años, y propuso clasificar el exceso de peso tipo androide como de alto riesgo, mientras que la obesidad tipo ginoide implicaba un bajo riesgo. Los luchadores de sumo (grandes obesos), consumen dietas con elevada carga energética (7 000-10 000 kcal/día), a fin de ganar peso corporal, sin embargo, sus estudios de tomografía axial computarizada muestran elevadas cantidades de grasa subcutánea y niveles adecuados de grasa intraabdominal con parámetros metabólicos casi normales. Cuando los luchadores de sumo se retiran del deporte activo, reducen su actividad física y mantienen el consumo energético, se incrementa, entonces, la incidencia de diabetes mellitus. La acumulación de grasa visceral también se observa en algunos individuos no obesos; estos son más propensos a padecer trastornos relacionados con la obesidad que sujetos obesos sin acumulación de grasa en esta zona.

En los años 80, se clasificó la obesidad según la diferente distribución de la grasa en el organismo humano. La más reciente de estas clasificaciones corresponde a *Matsuzawa*, el cual la divide en obesidad por grasa visceral y obesidad por grasa subcutánea, la primera implica un riesgo incrementado de trastornos metabólicos. Desde ese momento el tejido adiposo visceral (intraabdominal) se convertiría en el «chivo expiatorio» en esta historia de excesos, "responsable" de cuanta complicación se presentase asociada a la obesidad. De hecho, en años recientes, y en un tema tan controvertido como el síndrome metabólico, se le ha restado importancia al IMC como predictor de esta condición, para adjudicarle más fuerza a la medición

de la circunferencia de la cintura (indicador de acumulación de lípidos en los tejidos intraabdominales). En efecto, la acumulación de grasa intraabdominal tiene importantes implicaciones epidemiológicas. Varios estudios han mostrado asociaciones importantes con la probabilidad de sufrir muchos de los padecimientos que hoy se asocian a la obesidad.

La expresión de los diversos factores que produce el tejido adiposo es proporcional a las dimensiones del adipocito. Particularmente la grasa visceral secreta cerca de 250 proteínas. Las mayores concentraciones de factor de crecimiento visceral, IL-6, inhibidor del activador del plasminógeno, TNF-a, y proteína C reactiva en el organismo, son producidas por la grasa visceral y todos participan de alguna forma en la inflamación. El gen de adiponectina se expresa solamente en el tejido adiposo. Las concentraciones plasmáticas de adiponectina son extremadamente altas (entre 10 y 15 mg/mL) en individuos normales, lo cual excede los niveles típicos de hormonas o citoquinas. Los niveles en plasma tienen una correlación fuertemente negativa con la adiposidad visceral, pero no con la subcutánea. Los mecanismos que explican los valores reducidos en individuos con grasa visceral aumentada aún no están esclarecidos. Se supone que el tejido adiposo visceral produce factores que inhiben la síntesis o secreción de adiponectina y en este sentido se describe a TNF-a como potente inhibidor de la actividad de esta hormona. Adiponectina, además de sus funciones metabólicas, modula al SI e inhibe los procesos inflamatorios suprimiendo la activación del factor NF-kB.

Muchas interrogantes permanecen, sin embargo, sin recibir respuestas. ¿Por qué si la capacidad de almacenar energía en forma de grasa ha sido conservada a través de la evolución, el organismo reacciona causándose daño a sí mismo? ¿Por qué se acumula grasa en la cavidad abdominal en algunos individuos más que en otros, convirtiendo a aquellos con abdómenes prominentes en condenados que con una alta probabilidad desarrollarán trastornos, que a la larga acortarían su esperanza de vida? Desde el punto de vista biológico no representa ninguna ventaja acumular grasa en esta zona, sino todo lo contrario, se eleva la carga de morbilidad y mortalidad asociada a la obesidad. ¿Cuál es el imperativo entonces de almacenar grasa en esta zona del cuerpo, si existen otros sitios donde también puede ocurrir lo mismo y es menos "riesgoso", asumiendo *a priori* que la función más importante del tejido adiposo es la de servir de reservorio energético? ¿Se almacena energía en forma de grasa en el abdomen, solo por un efecto físico debido a que ese tejido es más laxo y por tanto más expandible que el tejido celular subcutáneo, o esta acumulación tiene, por el contrario, algún significado fisiológico? ¿El riesgo que implica el exceso de grasa visceral es atribuible únicamente al hecho de su simple presencia o es riesgosa la condición que subyace a esta acumulación? ¿Por qué razón, la obesidad se acompaña de inflamación?

Si se acepta este escenario de interacciones entre microbiota intestinal, SI, inflamación, obesidad y comorbilidades, como plausible desde el punto de vista biológico, a lo cual debe

añadirse la cercanía morfológica y funcional del tejido adiposo y el SI, lo que sugiere, un rol de la adiposidad en los mecanismos de defensa del huésped y remodelación de los tejidos, sería entonces razonable pensar que el tejido graso intraabdominal prolifera en respuesta a estímulos ambientales, en este caso a un patrón de microbiota intestinal "modulado", al cual ya está expuesto extensiva y mantenidamente y que el organismo interpreta como una agresión y responde con todo su sistema de defensa, incluyendo los procesos inflamatorios.

¿Podría la acumulación de grasa conducente a obesidad, ser interpretada entonces como un mecanismo homeostático natural de protección, más allá de la protección física y energética clásica que se le ha atribuido al tejido adiposo? Recordemos evidencias de un ejemplo vecino respecto a la selección del fenotipo sicklémico o drepanocítico como ventajoso evolutivamente que protege contra la malaria. La sicklemia es desventajosa, pero la infección por *Plasmodium* puede, en muchos casos, ser mortal en poco tiempo si no se trata. ¿Qué sería deseable en términos evolutivos y de conservación de la especie? La obesidad y sus comorbilidades acortan la esperanza de vida; sin embargo: ¿Podrían ser las exposiciones a la microbiota intestinal asociada a la obesidad fenómenos suficientes que atentan contra la vida en un tiempo más o menos corto y la naturaleza entonces, en un intento de preservación, hace que se desplieguen tales mecanismos protectores? Parecería desacertada la comparación entre obesidad y sicklemia en términos de adaptaciones evolutivas. Es más, no es este el objetivo de la comparación. En la sicklemia la presión de la selección natural hizo que se favoreciese la preservación de genes que a largo plazo resultaron en protectores para la especie. En la obesidad no es posible hablar de selección de genes protectores; pero sí se puede hablar de vías metabólicas e interacciones de diferentes mecanismos que han existido siempre y que responden ante una sobrecarga. En ambos casos el resultado final sería la protección del individuo ante las agresiones del medio.

La inflamación crónica y de bajo grado que acompaña al exceso de grasa corporal, está relacionada sobre todo, con el patrón de adipoquinas liberado por la grasa visceral. La inflamación podría ser una alerta que el SI da al organismo de que algo anormal está ocurriendo y podría ser, a su vez, el común denominador que subyace en el resto de los padecimientos acompañantes de la obesidad. La intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus y varias enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares ligadas a la aterosclerosis tienen un punto de confluencia en la inflamación. Se sugiere que los efectos de diferentes factores aterogénicos, incluyendo la dieta, están mediados por el estado de endotoxemia, la interacción de los PAMPs con los TLRs y el desencadenamiento de mecanismos inflamatorios. Asimismo, se ha informado reducción de la glucosa sanguínea en ayunas, incremento de la sensibilidad a la insulina, disminución de la proteína C reactiva y disminución del peso corporal en pacientes diabéticos cuando utilizan altas dosis de aspirina. Más recientemente, un estudio publicado en Nature

Medicine, advierte que la obesidad y la resistencia a la insulina podrían revertirse mediante inmunoterapia.

La resistencia a la insulina que se observa en la evolución clínica del individuo obeso, también parece tener su origen en la inflamación inducida por endotoxemia. Se postula que el principal mecanismo por el que la inflamación puede interferir con la acción de la insulina involucra modificaciones postraduccionales de los sustratos moleculares del receptor de la insulina, particularmente fosforilación de los residuos de serina. El retículo endoplásmico (RE) es el principal sitio de la célula involucrado en la modificación postraduccional y maduración de las proteínas y junto al aparato de Golgi, transportación y liberación de proteínas en su conformación tridimensional funcionalmente activa. Bajo condiciones que se constituyen en estrés para este organelo se desata una respuesta denominada, respuesta de proteínas desenrolladas (UPR, siglas en inglés), que conduce a la formación de proteínas que no son activas o lo son parcialmente. Condiciones que pueden disparar esta respuesta incluyen el incremento de la síntesis de proteínas, inhibición de la glicosilación, desbalance de los niveles de calcio en el RE, deprivación de glucosa y energía, hipoxia, toxinas y patógenos o componentes asociados a patógenos. La obesidad, y la microbiota intestinal asociada a ella, manifiestan muchas de las condiciones que estresan el RE en los tejidos metabólicamente activos.

Pero, ¿por qué se acompaña la obesidad de resistencia a la insulina? Se sabe que las infecciones agudas también se manifiestan con una respuesta alterada de los tejidos periféricos a los efectos de la insulina y que en individuos diabéticos con sepsis de algún tipo, aún en ausencia de obesidad, resulta más difícil el control metabólico y las cifras de glicemia muestran incrementos más significativos. El SI, por sus funciones, está en permanente actividad y muchos factores de tipo proteico, entre otros, son producidos constantemente. Todo el sistema de señalizaciones y los procesos de proliferación/activación en la respuesta inmune consumen elevadas cantidades de energía provenientes, sobre todo, de la glucosa. Las células inmunes expresan diferentes patrones de transportadores de glucosa (GLUT, siglas en inglés). La estimulación *in vitro* con mitógenos o LPS incrementa las isoformas GLUT 1, 3 y 4, las que manifiestan una elevada afinidad por la glucosa. GLUT 4 es dependiente de insulina, pero no GLUT 1 ni GLUT 3. Se ha observado una considerable expresión de GLUT 1 en todos los tipos celulares posterior a estimulación. Esta puede ser la isoforma que asegura la provisión de glucosa para las necesidades metabólicas básicas, quedando el SI "libre", en cierta forma, del requerimiento de insulina para mantener su soporte energético. Se ha informado, adicionalmente, que el incremento de la glucosa extracelular puede proteger a neutrófilos de la muerte por apoptosis y este efecto protector se correlaciona con la tasa de utilización de glucosa por la célula.[144] La apoptosis es un rasgo importante en la biología de los neutrófilos y la prevención de la muerte de neutrófilos por las altas concentraciones de glucosa podría ser vista

como un efecto beneficioso, puesto que estas células son componentes claves en la inmunidad innata. ¿Sería entonces la resistencia a la insulina un mecanismo que el organismo despliega para reservar los sustratos oxidables y ponerlos a disposición del SI? Es esta otra interrogante por responder.

Un panorama similar, aunque por vías diferentes, da explicación a la anemia que acompaña a las infecciones. El mecanismo en sí involucra a la hepcidina, principal regulador de la homeostasis del hierro en mamíferos. La hepcidina es un péptido producido por el hígado y también por el tejido adiposo que funciona inhibiendo la transferencia de hierro desde la ferroportina a la transferrina, para evitar la sobrecarga de hierro en el organismo, puesto que éste no cuenta con mecanismos para su excreción. La expresión de hepcidina es inhibida cuando se depletan las reservas de hierro. Se ha propuesto que es vital para el hospedero privar a los patógenos del suministro de hierro, con lo que se limitaría su multiplicación. El incremento en la expresión de hepcidina inhibe la absorción de hierro y como consecuencia se reducen sus concentraciones séricas. Las señalizaciones a través de los TLRs, la inflamación, los niveles incrementados de leptina y últimamente la UPR por estrés del RE son, hasta el presente, las vías que se proponen como inductoras del aumento de los niveles de hepcidina. Coincidentemente estas mismas vías se manifiestan también en la obesidad.

¿Por qué el individuo obeso no detiene la ingestión de alimentos? Resistencia a la leptina en el sistema nervioso central

¿Por qué si la adiposidad, más allá de ciertos límites, resulta dañina para el organismo, el individuo obeso sigue ingiriendo alimentos? Existen mecanismos que normalmente participan en la regulación de la ingestión de alimentos y dentro de ellos, un grupo de factores estimulantes (orexígenos) unos, e inhibidores (anorexígenos) otros, del apetito. ¿Fallan estos mecanismos, o son regulados a favor de que el individuo se mantenga ingresando energía?

La leptina es uno de los factores anorexígenos más potentes. Es una hormona peptídica de 146 aminoácidos producida por estómago, hipófisis, hipotálamo, músculo esquelético, placenta; pero principalmente por el tejido adiposo. La leptina tiene un efecto directo sobre las neuronas del hipotálamo, pero también sobre otros tejidos fuera del Sistema Nervioso Central. Bajo sus efectos se inhiben las neuronas liberadoras de neuropéptido (NPY) y la proteína relacionada con el gen agoutí (AGRP) (orexígenas) y se estimulan las liberadoras de propiomelanocortina y la hormona estimulante de melanocitos (a MSH) (anorexígenas). Es, en consecuencia, una señal aferente en el balance energético producida, sobre todo, por los adipocitos en respuesta a la acumulación de energía, bajo el control de la insulina y los glucocorticoides. Sus niveles circulantes se correlacionan con el porcentaje de grasa corporal y por lo tanto transmite información al hipotálamo sobre las reservas energéticas a largo plazo. La disminución de la leptina es interpretada por el hipotálamo como "desnutrición" y ello genera respuestas de

adaptación que aumentan el apetito y reducen el gasto energético de reposo. El aumento de leptina reduce la curva de ingreso de alimentos y aumenta la actividad del sistema nervioso autónomo produciendo un aumento del gasto energético.

Las concentraciones de leptina en suero se incrementan proporcionalmente al aumento de la grasa corporal, sin embargo, en obesos se ha documentado un estado de resistencia a sus efectos sobre el hipotálamo. Se postula que el estado de resistencia es consecuencia de un fallo en el transportador de leptina desde la sangre al interior del Sistema Nervioso Central, a través de la barrera hematoencefálica. Trabajos recientes informan sobre la expresión de TLRs en la mayoría de las células del SNC, incluidas las células fagocíticas de la glia (microglias), y que un estado inflamatorio de bajo grado, sobre todo en hipotálamo, podría ser subyacente a la no respuesta de los tejidos centrales a los estímulos anorexígenos. Un estudio en ratas ha mostrado que los ácidos grasos saturados de la dieta inducen una respuesta inflamatoria en hipotálamo a través de la activación de señalizaciones dependientes de TLR_4. ¿Sería entonces la resistencia a las señales anorexígenas un mecanismo que el organismo emplea para que se mantenga el consumo de alimentos, sustento de las necesidades energéticas básicas del SI, y de esta forma hacer frente a señales de agresión que le llegan desde la microbiota intestinal?

No se ha documentado en individuos obesos resistencia a la leptina en los tejidos periféricos, por lo que el SI queda, adicionalmente, a merced de las elevadas concentraciones de leptina que modulan varias de sus funciones. Leptina, además de sus efectos anorexígenos, estimula la proliferación de diferentes estirpes celulares, incluidas las células endoteliales, mejora la actividad fagocítica del sistema monocitos/macrófagos, regula el balance Th_1/Th_2 y sus correspondientes patrones de citoquinas, incrementa la producción de IL-2 e interferón-g y reduce los niveles de IL-4, tiene además, propiedades antiapoptóticas y promueve la agregación plaquetaria.

Todos estos elementos podrían ser explicaciones perfectamente plausibles al hecho de que una persona con sobrepeso, a pesar de lo perjudicial de esta condición, no sea capaz de controlar su apetito a favor de reducir el ingreso de energía a su organismo.

CONCLUSIONES

En años recientes se han registrado importantes avances en la comprensión de los múltiples mecanismos involucrados en la génesis de la obesidad, sin embargo, no existen aún conclusiones sobre un factor en específico. Es más, probablemente nunca se llegue a identificar ese posible único factor. Por el contrario, las evidencias cada vez más se inclinan a apoyar la hipótesis de la multicausalidad en la obesidad. Las fuertes relaciones entre el tejido adiposo y el SI y más recientemente los hallazgos que asocian la obesidad con determinados patrones de

microorganismos en el sistema digestivo, hacen de este un contexto en el cual podrían encontrarse respuestas a múltiples preguntas sobre los verdaderos orígenes de la obesidad.

La malnutrición previa a la concepción y el inadecuado aporte de nutrientes durante la vida intrauterina podrían condicionar modificaciones que alteren la funcionalidad del SI. Unido a ello, la insuficiente lactancia materna, la dieta occidental obesogénica con exceso de energía y deficiente en micronutrientes y la inactividad física contribuirían a la disfuncionalidad del SI y al predominio de una microbiota intestinal distorsionada, tal vez más "agresiva". El SI y la microbiota intestinal modulándose mutuamente y en estrecha interacción podrían conducir al estado inflamatorio crónico y de bajo grado, característico de la obesidad.

La resistencia a insulina y leptina y tal vez a otros factores anorexígenos podrían ser mecanismos protectores para sostener las funciones de defensa del SI. La proliferación del tejido adiposo y eventualmente obesidad, sobre todo visceral, podría ser interpretada como consecuencia de una respuesta del organismo ante el cúmulo de agresiones, potenciada por la resistencia central a estímulos anorexígenos.

En toda esta secuencia de eventos no es posible descartar que otros factores ambientales como la polución, aditivos alimentarios y exposición a químicos ambientales pudieran participar como adyuvantes. La carga genética de un individuo, podría adicionalmente interpretarse como factor predisponente amplificador de los restantes factores.

La obesidad seguirá siendo por décadas un problema para investigadores y clínicos, y ninguna esfera de la vida quedará excluida de su impacto. Su magnitud hoy se compara con los efectos del calentamiento global. Las dificultades para su solución radican en su multicausalidad, aun por ser totalmente esclarecida, pero sobre todo en el hecho de que, tal como ocurre con el SIDA, su génesis está indisolublemente ligada a requerimientos básicos para la supervivencia de la especie, en este caso la alimentación.

No caben dudas de que modificaciones sostenidas en los estilos de vida, sin tener que renunciar necesariamente a las bondades de la modernidad, tendrían un impacto inmediato. Sin embargo, no siempre existe la disposición personal de asumir tales cambios o las condiciones medioambientales no son propicias para que estos cambios tengan lugar. Si las posibles soluciones hoy más cercanas son aún insuficientes, corresponde entonces a la investigación básica diseñar estrategias sobre la base de los conocimientos ya existentes y otros que aparecerán. Es este un terreno fértil para dicha empresa.

REFERENCIAS

1. Caballero B. The global epidemic of obesity: An overview. Epidemiol Rev. 2007;29:1-5.
2. Yang W, Kelly T, He J. Genetic epidemiology of obesity. Epidemiol Rev. 2007;29:49-61.
3. McLaren L. Socioeconomic status and obesity. Epidemiol Rev. 2007;29:29-48.

4. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. Obesity. 2006;14(4):529-644.
5. Christakis NA, Fowler JH. The spread of obesity in a large social network over 32 years. N Engl J Med. 2007;357(4):370-9.
6. Tamburlini G, Cattaneo A. The spread of obesity in a social network. N Engl J Med. 2007;357(18):1886.
7. Dhurandhar NV. Infectobesity: Obesity of infectious origin. J Nutr. 2001;131:2794S-97S.
8. Kolakowski N. The obesity virus? Researchers suggest viral infection may cause obesity. DOC News. 2005;2(1):13.
9. Desruisseaux MS, Nagajyothi, Trujillo ME, Tanowitz HB, Scherer PE. Adipocyte, adipose tissue, and infectious disease. Infect and Immun. 2007;75(3):1066-78.
10. Van Ginneken V, Sitnyakowsky L, Jeffery JE. Infectobesity: viral infections (especially with human adenovirus-36: Ad-36) may be a cause of obesity. Med Hypotheses. 2009;72(4):383.
11. Dhurandhar NV, Kulkarni PR, Ajinkya SM, Sherikar AA, Atkinson RL. Association of adenovirus infection with human obesity. Obes Res. 1997;5(5):464-9.
12. Thjodleifsson B, Olafsson I, Gislason D, Gislason T, Jögi R, Janson C. Infections and obesity: A multinational epidemiological study. Scand J Infect Dis. 2008;40(5):381-6.
13. Toplak H, Wascher TC, Weber K, Lauermann T, Reisinger EC, Bahadori B, et al. Increased prevalence of serum IgA Chlamydia antibodies in obesity. Acta Med Austriaca. 1995;22(1-2):23-4.
14. Ekesbo R, Nilsson PM, Lindholm LH, Persson K, Wadström T. Combined seropositivity for H. pylori and C. pneumoniae is associated with age, obesity and social factors. J Cardiovasc Risk. 2000;7(3):191-5.
15. Lajunen T, Vikatmaa P, Bloigu A, Ikonen T, Lepäntalo M, Pussinen PJ, et al. Chlamydial LPS and high-sensitivity CRP levels in serum are associated with an elevated body mass index in patients with cardiovascular disease. Innate Immun. 2008;14(6):375-82.
16. Pasarica M, Mashtalir N, McAllister EJ, Kilroy GE, Koska J, Permana P, et al. Adipogenic human adenovirus Ad-36 induces commitment, differentiation, and lipid accumulation in human adipose-derived stem cells. Stem Cells. 2008;26(4):969-78.
17. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y la enfermedad. Nutr Hosp. 2007;22(Supl. 2):14-9.
18. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95(12):6578-83.
19. Nicholson JK, Holmes E, Wilson ID. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. Nat Rev Microbiol. 2005;3(5):431-8.
20. Draganov PV. Recent advances and remaining gaps in our knowledge of associations between gut microbiota and human health. World J Gastroenterol. 2009;15(1):81-5.
21. Kinross JM, von Roon AC, Holmes E, Darzi A, Nicholson JK. The human gut microbiome: Implications for future health care. Curr Gastroenterol Rep. 2008;10(4):396-403.
22. Frank DN, Pace NR. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. Curr Opin Gastroenterol. 2008;24(1):4-10.
23. DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, Krajmalnik-Brown R, Decker GA, Rittmann BE. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. Mayo Clin Proc. 2008;83(4):460-9.
24. Mai V. Dietary modification of the intestinal microbiota. Nutr Rev. 2004 Jun;62(6 Pt 1):235-42.
25. Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. Int J Obes. 2008;32(11):1720-4.
26. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri M, Moreno LA, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. Int J Obesity. 2009;33(7):758-67.
27. Wolowczuk I, Verwaerde C, Viltart O, Delanoye A, Delacre M, Pot B, et al. Feeding our immune system: Impact on metabolism. Clin Dev Immunol. 2008; 2008 February 25. doi: 10.1155/2008/639803.
28. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. Microbiol Immunol. 1984;28(9):975-86.
29. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acids profile. Gut. 2001;48(2):198-205.
30. Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. Trends Microbiol. 2004;12(3):129-34.

31. Bjursell MK, Martens EC, Gordon JI. Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, Bacteroides thetaiotaomicron, to the suckling period. J Biol Chem. 2006;281(47):36269-79.
32. Macpherson AJ, Slack E. The functional interactions of commensal bacteria with intestinal secretory IgA. Curr Opin Gastroenterol. 2007;23(6):673-8.
33. Palmer C, Bik EM, Di Giulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. 2007;5(7):e177.
34. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature. 2009;457(7228):480-4.
35. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr. 1999;69(5):1035S-45S.
36. Dai D, Walker WA. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. Adv Pediatr. 1999;46:353-82.
37. Stark PL, Lee A. The microbial ecology of the large bowel of breast-fed and formula-fed infants during the first year of life. J Med Microbiol. 1982;15(2):189-203.
38. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics. 2006;118(2):511-21.
39. Hällström M, Eerola E, Vuento R, Janas M, Tammela O. Effects of mode of delivery and necrotizing enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004;23(6):463-70.
40. Bettelheim KA, Breadon A, Faiers MC, O'Farrell SM, Shooter RA. The origin of O serotypes of Escherichia coli in babies after normal delivery. J Hyg (Lond). 1974;72(1):67-70.
41. Brook I, Barrett CT, Brinkman CR, Martin WJ, Finegold SM. Aerobic and anaerobic bacterial flora in the maternal cervix and newborn gastric fluid and conjunctiva: a prospective study. Pediatrics. 1979;63(3):451-5.
42. Lennox-King SM, O'Farrell SM, Bettelheim KA, Shooter RA. Colonization of caesarean section babies by Escherichia coli. Infection. 1976;4(3):134-8.
43. Lennox-King SM, O'Farrell SM, Bettelheim KA, Shooter RA. Escherichia coli isolated from babies delivered by caesarean section and their environment. Infection. 1976;4(3):139-45.
44. Lotz M, Gütle D, Walther S, Ménard S, Bogdan C, Hornef MW. Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. J Exp Med. 2006;203(4):973-84.
45. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic microflora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. Infection. 1987;15(5):332-6.
46. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature. 2006;444(7122):1022-3.
47. Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development of differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. Pediatrics. 1983;72(3):317-21.
48. Bullen CL, Tearle PV, Willis AT. Bifidobacteria in the intestinal tract of infants: an in-vivo study. J Med Microbiol. 1976;9(3):325-33.
49. Maendar R, Mikelsaar M. Transmission of mother's microflora to the newborn at birth. Biol Neonate. 1996;69(1):30-5.
50. Fujita K, Kakuya F, Ito S. Vitamin K1 and K2 status in faecal flora in breast fed and formula fed 1-month-old infants. Eur J Pediatr. 1993;152(10):852-5.
51. Penders J, Vink C, Driessen C, London N, Thijs C, Stobberingh EE. Quantification of Bifidobacterium spp., Escherichia coli and Clostridium dificile in fecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. FEMS Microbiol Lett. 2005;243(1):141-7.
52. Macpherson AJ, Hunziker L, McCoy K, Lamarre A. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms. Microbes Infect. 2001;3(12):1021-35.
53. Labeta MO, Vidal K, Nores JE, Arias M, Vita N, Morgan BP, et al. Innate recognition of bacteria in human milk is mediated by a milk.derived highly expressed pattern recognition receptor, soluble CD 14. J Exp Med. 2000;191(10):1807-12.
54. LeBouder E, Rey-Nores JE, Rushmere NK, Grigorov M, Lawn SD, Affolter M, et al. Soluble forms of Toll like receptor (TLR) 2 capable of modulating TLR2 signaling are present in human plasma and breast-milk. J Immunol. 2003;171(2):6680-9.

55. LeBouder E, Rey-Nores JE, Raby AC, Affolter M, Vidal K, Thornton CA, et al. Modulation of neonatal microbial recognition: TLR-mediated innate immune responses are specifically and differentially modulated by human milk. J Immunol. 2006;176(6):3742-52.
56. Laitinen K, Hoppu U, Hämäläinen M, Linderborg K, Moilanen E, Isolauri E. Breast milk fatty acids may link innate and adaptive immune regulation: analysis of soluble CD14, prostaglandin E2, and fatty acids. Pediatr Res. 2006;59(5):723-7.
57. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science. 2006;312(5778):1355-9.
58. Gaurner F. Papel de la flora intestinal en la salud y la enfermedad. Nutr Hosp. 2007;(Supl 2):14-19.
59. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. Appl Environ Microbiol. 1999;65(11):4799-807.
60. Werner T, Haller D. Intestinal epithelial cell signalling and chronic inflammation: From the proteome to specific molecular mechanisms. Mutat Res. 2007;622(1-2):42-57.
61. Magalhaes JG, Tattoli I, Girardin SE. The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. Sem Immunol. 2007;19(2):106-15.
62. Salzman NH, Underwood MA, Bevins CL. Paneth cells, defensins, and the commensal microbiota: A hypothesis on intimate interplay at the intestinal mucosa. Sem Immunol. 2007;19(2):70-83.
63. Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell MW. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. Mucosal Immunol. 2008;1(1):31-7.
64. Schenk M, Mueller C. Adaptations of intestinal macrophages to an antigen-rich environment. Sem Immunol. 2007;19(2):84-93.
65. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. Nat Immunol. 2001;2(4):361-7.
66. Kidd P. Th1/Th2 balance: The hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev. 2003;8(3):223-46.
67. Janeway CA. The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self. Immunol Today. 1992;13(1):11-6.
68. Raetz CR. Biochemistry of endotoxins. Annu Rev Biochem. 1990;59:129-70.
69. Kitchens RL, Ulevitch RJ, Munford RS. Lipopolysaccharide (LPS) partial structures inhibit responses to LPS in a human macrophage cell line without inhibiting LPS uptake by a CD14-mediated pathway. J Exp Med. 1992;176(2):485-94.
70. Lee JY, Hwang DH. The modulation of inflammatory gene expression by lipids: mediation through Toll-like receptors. Mol Cells. 2006;21(2):174-85.
71. Sanz Y, Santacruz A, De Palma G. Insights into the role of gut microbes in obesity. Interdiscip Perspect Infect Dis. 2008; Article ID 829101, 9 pages doi:10.1155/2008/829101.
72. Sanders VM. Epigenetic regulation of Th1 and Th2 cell development. Brain Behav Immun. 2006;20(4):317-24.
73. Schiffrin EJ, Blum S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. Eur J Clin Nutr. 2002;56(Suppl 3):S60-S64.
74. Suzuki K, Ha S, Tsuji M, Fagarasan S. Intestinal IgA synthesis: A primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut. Semin Immunol. 2007;19(2):127-35.
75. Cerutti A. Location, location, location: B-cell differentiation in the gut lamina propria. Nature. 2007;1(1):8-10.
76. Cerutti A, Rescigno M. The Biology of intestinal immunoglobulin A responses. Immunity. 2008;28(6):740-50.
77. Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen FE, Brandtzaeg P. The immune geography of IgA induction and function. Mucosal Immunol. 2008;1(1):11-22.
78. Yanagibashi T, Hosono A, Oyama A, Tsuda M, Hachimura S, Takahashi Y, et al. Bacteroides induce higher IgA production than Lactobacillus by increasing activation-induced cytidine deaminase expression in B cells in murine Peyer's patches. Biosci Biotechnol Biochem. 2009;73(2):372-7.
79. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflamation, stress and diabetes. J Clin Invest. 2005;115(5):1111-9.

80. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(6):2548-56.
81. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2005;115(5):911-9.
82. Alvarez-Llamas G, Szalowska E, de Vries MP, Weening D, Landman K, Hoek A, et al. Characterization of the human visceral adipose tissue secretome. Mol Cell Proteomics. 2007;6(4):589-600.
83. Fain JN, Madan AK, Hiler MLl, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. Endocrinology. 2004;145(5):2273-82.
84. Caspar-Bauguil S, Cousin B, Galinier A, Segafredo C, Nibbelink M, André M, et al. Adipose tissues as an ancestral immune organ: Site-specific change in obesity. FEBS Lett. 2005;579(17):3487-92.
85. Pond CM, Mattacks CA. Interactions between adipose tissue around lymph nodes and lymphoid cells in vitro. J Lipid Res. 1995;36(10):2219-31.
86. Matarese G, La Cava A. The intricate interface between immune system and metabolism. Trends Immunol. 2004;25(4):193-200.
87. Pond CM, Mattacks CA. In vivo evidence for the involvement of the adipose tissue surrounding lymph nodes in immune responses. Immunol Lett. 1998;63(3):159-67.
88. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. Science. 2001;294(5548):1871-5.
89. Balamuth F, Leitenberg D, Unternaehrer J, Mellman I, Bottomly K. Distinct patterns of membrane microdomain partitioning in Th1 and Th2 cells. Immunity. 2001;15(5):729-38.
90. Mattacks CA, Sadler D, Pond, CM. The effects of dietary lipids on dendritic cells in perinodal adipose tissue during chronic mild inflammation. Br J Nutr. 2004;91(6):883-92.
91. Charrière G, Cousin B, Arnaud E, André M, Bacou F, Pénicaud L, et al. Preadipocyte conversion to macrophage. J Biol Chem. 2003;278(11):9850-5.
92. Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. J Clin Invest. 2003;112(12):1785-88.
93. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest. 2003;112(12):1796-1808.
94. Gordon S. Alternative activation of macrophages. Nature Rev Immunol. 2003;3(1):23-35.
95. Bensinger SJ, Tontonoz P. Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. Nature. 2008;454(7203):470-7.
96. Raoult D. Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27(8):631-4.
97. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA. 2005;102(31):11070-5.
98. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. Appl Environ Microbiol. 2007;73(4):1073-8.
99. Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity in linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. Cell Host Microbe. 2008;3(4):213-23.
100. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JL. Molecular analisis of comensal host-microbial relationships in the intestine. Science. 2001;291(5505):881-4.
101. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101:(44)15718-23.
102. Bäckhed F, Manchester JK, Clay F, Jeffrey I. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104(3):979-84.
103. Levitt MD, Furne JK, Kuskowski M, Urdí J. Stability of human methanogenic flora over 35 years and a review of insights obtained from breath methane measurements. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006;4(2):123-9.
104. Conway de Macrio E, Macario AJ. Metanogenic archaea in health and disease: A novel paradigm of microbial patogenesis. Int J Med Microbiol. 2009;299(2):99-108.
105. Liepke C, Adermann K, Raida M, Mägert HJ, Forssmann WG, Zucht HD. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. Eur J Biochem. 2002;269(2):712-8.

106. Agras WS, Kraemer HC, Berkowitz RI, Hammer LD. Influence of early feeding style on adiposity at 6 years of age. J Pediatr. 1990;116(5):805-9.
107. Von Kries R, Koletzko B, Sauerwald T, von Mutius E, Barnert D, Grunert V, et al. Breast feeding and obesity: cross sectional study. BMJ. 1999;319(7203):147-50.
108. Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Camargo CA Jr, Berkey CS, Frazier AL, Rockett HR, et al. Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. JAMA. 2001;285(19):2461-7.
109. Hediger ML, Overpeck MD, Kuczmarski RJ, Ruan WJ. Association between infant breastfeeding and overweight in young children. JAMA. 2001;285(19):2453-60.
110. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon GI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature. 2006;444(7122):1027-31.
111. Tilg T, Moschen AR, Kaser A. Obesity and the Microbiota. Gastroenterology. 2009;136(5):1476-83.
112. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck A, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes. 2008;57(6):1470-81.
113. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. Gut. 2009;58(8):1091-103.
114. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes. 2007;56(7):1761-72.
115. Gosden RG, Feinberg AP. Genetics and epigenetics-nature's pen-and-pencil Set. N Engl J Med. 2007;356(7):731-3.
116. Institute of Medicine (IOM). Nutrigenomics and beyond: Informing the future. Washington, DC: The National Academies Press; 2007.
117. Cutfield WS, Hofman PL, Mitchell M, Morison IM. Could epigenetics play a role in the developmental origins of health and disease? Pediatr Res. 2007;61(5):68R-75R.
118. Zeisel SH. Epigenetic mechanisms for nutrition determinants of later health outcomes. Am J Clin Nutr. 2009;89(5):1488S-93S.
119. Smith NH, Ozanne SE. Intrauterine origins of metabolic disease. Rev Gynecol Perinatal Practice. 2006;6:211-7.
120. Haemer MA, Huang TT, Daniels SR. The effect of neurohormonal factors, epigenetic factors, and gut microbiota on risk of obesity. Prev Chronic Dis. 2009;6(3):A96.
121. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. J Nutr. 2005;135:1382-6.
122. Gluckman PD, Lillycrop KA, Vickers MH, Pleasants AB, Phillips ES, Beedle AS, et al. Metabolic plasticity during mammalian development is directionally dependent on early nutritional status. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104(31):12796-800.
123. PD Gluckman, Hanson MA. Developmental and epigenetic pathways to obesity: an evolutionary-developmental perspective. Int J Obes. 2008;32(Suppl 7):S62-71.
124. Cunningham-Rundles S, McNeeley DF, Moon A. Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. J Allergy Clin Immunol. 2005;115(6):1119-28.
125. Maret W, Sandstead HH. Possible roles of zinc nutriture in the fetal origins of disease. Exp Gerontol. 2008;43(5):378-81.
126. Hattori M, Taylord TD. The human intestinal microbiome: A new frontier of human biology. DNA Res. 2009;16(1):1-12.
127. Symonds ME, Stephenson T, Gardner DS, Budge H. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. Reprod Fertil Dev. 2007;19(1):53-63.
128. Merlot E, Couret D, Otten W. Prenatal stress, fetal imprinting and immunity. Brain Behav Immun. 2008;22(1):42-51.
129. Matsuzawa Y. The role of fat topology in the risk of disease. Int J Obes. 2008;32(Suppl 7):S83-92.
130. Crepaldi G, Maggi S. El síndrome metabólico: contexto histórico. Diabetes Voice. 2006;51:8-10.
131. Slentz CA, Houmard JA, Kraus WE. Exercise, abdominal obesity, skeletal muscle, and metabolic risk: evidence for a dose response. Obesity. 2009;17(Suppl 3):S27-33.

132. Potenza MV, Mechanick JI. The metabolic syndrome: definition, global impact, and pathophysiology. Nutr Clin Pract. 2009;24(5):560-77.
133. Schelbert KB. Comorbidities of obesity. Prim Care. 2009 Jun;36(2):271-85.
134. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(3):1023-33.
135. Saillan-Barreau C, Cousin B, André M, Villena P, Casteilla L, Pénicaud L. Human adipose cells as candidates in defense and tissue remodeling phenomena. Biochem Biophys Res Commun. 2003;309(3):502-5.
136. Aidoo M, Terlouw DJ, Kolczak MS, McElroy PD, ter Kuile FO, Kariuki S, et at. Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. Lancet. 2002;359(9314):1311-2.
137. Williams TN, Mwangi TW, Roberts DJ, Alexander ND, Weatherall DJ, Wambua S, et al. An immune basis for malaria protection by the Sickle Cell trait. PLoS Med. 2005 May;2(5):e128.
138. Fontana L, Eagon C, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. Diabetes. 2007;56(4):1010-3.
139. Erridge C. The roles of pathogen-associated molecular patterns in atherosclerosis. Trends Cardiovasc Med. 2008;18(2):52-6.
140. Hundal RS, Petersen KF, Mayerson AB, Randhawa PS, Inzucchi S, Shoelson SE. Mechanism by which high-dose aspirin improves glucose metabolism in type 2 diabetes. J Clin Invest. 2002;109(10):1321-6.
141. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, et al. Reversal of obesity and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. Science. 2001;293(5535):1673-7.
142. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. Nat Med. 2009;15(8):921-31.
143. Hotamisligil GS. Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. Int J Obes. 2008;32(Suppl 7):S52-4.
144. Healy DA, Watson RWG, Newsholme P. Glucose, but not glutamine, protects against spontaneous and anti-Fas antibody-induced apoptosis in human neutrophils. Clin Sci. 2002;103(2):179-89.
145. Chung B, Matak P, McKie AT, Sharp P. Leptin increases the expression of the iron regulatory hormone hepcidin in HuH7 human hepatoma cells. J Nutr. 2007;137(11):2366-70.
146. Lynch S. Iron metabolism. In: Kraemer K, Zimmermann MB, editors. Nutritional Anemia. Basel: SIGHT AND LIFE Press;2007. p. 59-76.
147. Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. J Clin Invest. 2004;113(9):1251-3.
148. Peyssonnaux C, Zinkernagel AS, Datta V, Lauth X, Johnson RS, Nizet V. TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. Blood. 2006;107(9):3727-32.
149. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J Clin Invest. 2004;113(9):1271-6.
150. De Domenico I, Kaplan J. A new wrinkle in the fold: hepcidin links inflammation to the unfolded protein response. Cell Metab. 2009;10(4):245-6.
151. Sánchez JC. Perfil fisiológico de la leptina. Colombia Médica. 2005;36(1):50-9.
152. Flier JS. Obesity wars: Molecular progress confronts an expanding epidemic. Cell. 2004;116(2):337-50.
153. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature. 1998;395(6704):763-70.
154. Kielian T. Toll-Like Receptors in Central Nervous System Glial inflammation and homeostasis. J Neurosci Res. 2006;83(5):711-30.
155. Wisse BE, Schwartz MW. Does hypothalamic inflammation cause obesity? Cell Metab. 2009;10(4):241-2.
156. Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signalling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. J Neurosci. 2009 Jan14;29(2):359-70.
157. Wisse BE. The inflammatory syndrome: The role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. J Am Soc Nephrol. 2004;15(11):2792-800.
158. Fantuzzi G, Faggioni F. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol. 2000;68(4):437-46.

Regresar a lista de contenidos

IMMUNOPROPHYLAXIS OF POULTRY USING A NOVEL ORAL SUBUNIT PLATFORM NOW UNDER COMMERCIAL DEVELOPMENT

L.R. Bielke, G.I. Tellez, A.D. Wolfenden, N.R. Pumford, C.J. Kremer, S. Shivaramaiah, M. Morgan, and B.M. Hargis*

University of Arkansas, Fayetteville, AR USA 72701

**bhargis@uark.edu*

Killed whole-cell bacterins and live attenuated vaccines are the most common types of vaccines currently used in the poultry industry. Vaccination programs depend on the recognition of specific antigens, called epitopes, by the immune system of the host to prevent or reduce the spread of pathogenic viruses and bacteria. A number of important diseases that affect poultry are caused by more than one serovar, such as avian influenza and *Salmonella*, making vaccination against all serotypes impossible using conventional vaccines. For infections like *Salmonella* there are a large number of serovars, each with individual epitopes that elicit little or no cross-protection against other serovars, there has been little traditional emphasis on development of generic vaccines. Primarily, killed vaccines, which generally must be administered parenterally (through injection), have been applied to protect against systemic infections, and although they have been shown to reduce colonization and shedding, the protection provided by these vaccines has limited ability to stop intestinal colonization. They predominantly stimulate both humoral (circulating IgM and IgG) and cell-mediated responses, but are quite ineffective at generating mucosal immunity as secretory IgA antibody stimulation is very low through this type of vaccination. This is important because, whereas both systemic (humoral and cell-mediated) and mucosal immunity can reduce the chances of disease and mortality, only the mucosal portion of this adaptive immune response is capable of protecting animals from infection. The key to inducing both an adaptive systemic and mucosal response has traditionally been through the use of the mucosa as a "portal of entry" for live but weakened (attenuated) vaccines. However, the use of such vaccines for protection against *Salmonella* infection has been tremendously limited due to the very large number of different antigens presented by the more than 200 serotypes that can infect domestic animals and man, with more than 38 of these commonly infecting poultry within the United States and 56 within the European Union (Hargis et al., 2010; EFSA 2010). Avian influenza has many possible antigenic combinations with 9 hemagglutinin and more than 16 neuraminidase types. Developing a single vaccine against the antigenic epitopes of each strain or serotype (and sub-serotypes) has proven a difficult endeavor for human influenza and has only been occasionally effectively achieved for poultry in emergency outbreaks. Thus, autogenous vaccines are often developed for the purpose of treating flocks and farms based on the strain or serotype that currently poses a threat.

One approach to solving the problem of serotype variation among the pathogens with multiple antigenic strains is the identification of "universal epitopes" that are shared among all isolates. For example, the TRAP sequence of *Eimeria* and other Apicomplexan species. This concept has been established for a number of pathogens and is based on the identification of a minor surface structure (antigen or epitope) which does not cause robust immune reaction during infection, but which can be targeted for protection if the antigen is presented in a way that tricks the animal into responding robustly. Some of these are relatively minor antigens which are highly conserved among related organisms – usually because they involve biological function. Since small peptide sequences that are biologically functional cannot vary in sequence, organisms that carry a mutation for such sequences are often either

lethal or sufficiently detrimental to cause these to not be successful pathogens over time (Neirynck et al., 1999).

A well-described example of this phenomenon is a small 23 amino acid peptide on the surface of Type A Influenza viruses named M2e. This peptide is part of an ion transport channel which is necessary for viral activation. Mutations in this sequence undoubtedly occur frequently, but since the 1918 Spanish Influenza outbreak, all Type A Influenza isolates share a highly conserved core sequence for this peptide (Layton et al., 2009). Although natural influenza infection does not result in a robust immune response to this peptide sequence, tricking the animal into producing a strong response has resulted in protective immunity in several animal species (Neirynck et al., 1999; Mozdzanowska et al., 2003; Fiers et al., 2004; Zou et al., 2004). In recent years, the rapid increase in molecular biological techniques has led to the development of more sophisticated vaccines, of which live recombinant bacterial vectored vaccines are one of the most promising (Ashby et al., 2005; Zhang et al., 2000; Duc et al., 2007; Kajikawa et al., 2007; Uyen et al., 2007; Yang et al., 2007; Huang et al., 2008; Liu et al., 2008; Ceragioli et al., 2009; Deguchi et al., 2009).

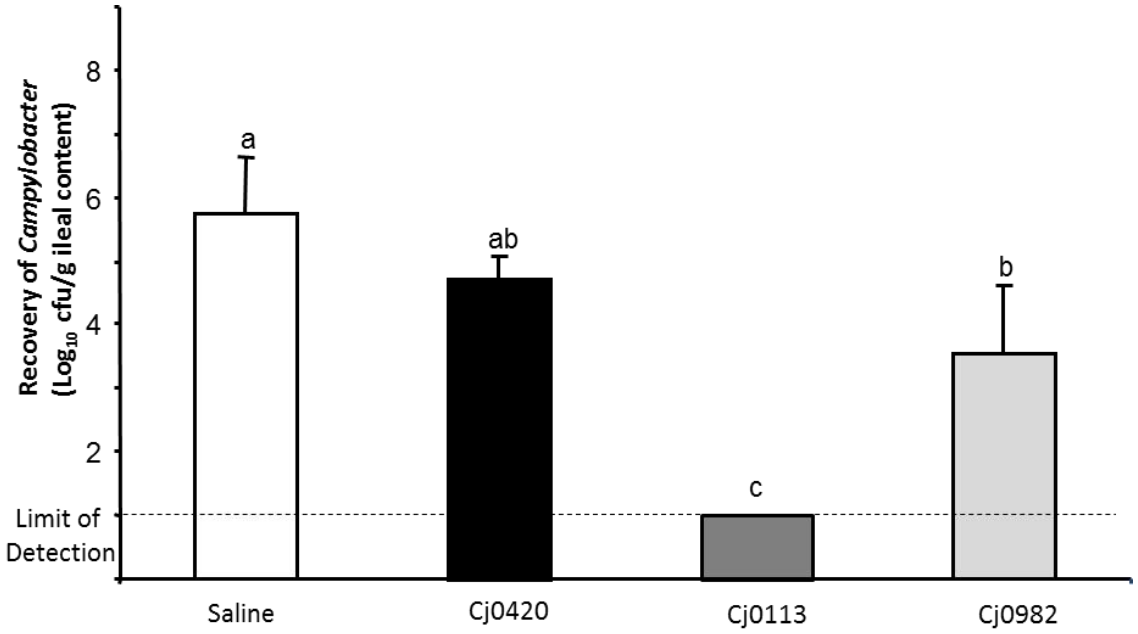


Figure 1. *Campylobacter jejuni* recovery of *Salmonella*-vectored vaccination and challenge in chicks. Chicks were vaccinated by oral gavage on day of hatch with *Salmonella*-vectored vaccine against epitopes Cj0420, Cj0113, or Cj0982, and challenged with ~$1x10^7$ cfu/chick *C. jejcuni* on day 21. Ileal samples for qPCR quantification of *C. jejuni* were taken on day 32. Data presented as log_{10} mean ± SEM, different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$).

This type of vaccine uses a genetically modified bacterium to express a heterologous antigen. Oral live attenuated *Salmonella* vaccine vectors expressing recombinant foreign antigens have previously been shown to stimulate systemic, mucosal, humoral, and cell-mediated immune responses against *Salmonella* (Mollenkopf et al., 2001; Kotton and Hohmann, 2004; Ashby et al., 2005). *Salmonella* vectors have the potential advantage of being extremely inexpensive to manufacture and, because they do not have to be injected and can be administered by spray or drinking water, they are much more acceptable for widespread administration to commercial poultry. Attenuated *Salmonella* strains as vaccine delivery

vectors have been effectively used in several experimental models. *Salmonella* is known to colonize the cecum in about 12 hours and the liver and spleen within 24-48 hours post-immunization (Cheeseman et al., 2008). It is capable of stimulating mucosal, humoral, and cell-mediated immunity by effectively colonizing the gut tissue (Ashby et al., 2005). Therefore, potentially important to effectiveness of a vaccine is organ invasion by the recombinant *Salmonella* vector, however, for food safety reasons, clearance of the vector is also important. Three different attenuation gene deletion recombinants were created to test invasion and clearance of the cultures in our laborator (Layton et al., 2009; Shivaramaiah et al., 2010). Δ*aro*A, Δ*htr*A, and Δ*aro*A-Δ*htr*A attenuated strains were created to limit organ invasion and promote clearance of *Salmonella* before slaughter.

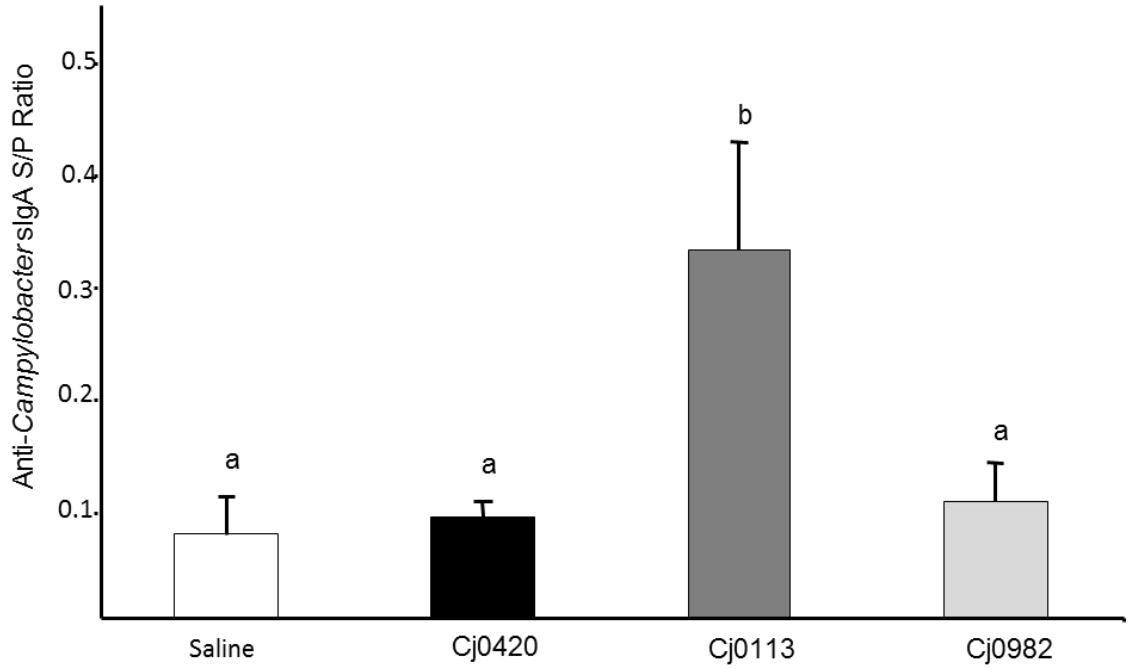


Figure 2. *Anti-Campylobacter jejuni* IgA recovery from chicks vaccinated with *Salmonella*-vectored Campylobacter epitopes. *C. jejuni*-specific mucosal sIgA antibody detected from ileal mucosa samples, levels were determined by ELISA on day 32 after vaccination by oral gavage with either saline or 10^8 cfu/chick of *Salmonella*-vectored candidates Cj0420, Cj0113, or Cj0982. Data presented as mean ± SEM, different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$).

Currently, our laboratory is exploiting this concept by identifying candidate antigens/epitopes that are evolutionarily conserved between the many different serotypes of *Salmonella* and which do not elicit a robust response when animals are infected with wild type *Salmonella* (or vaccinated with conventional vaccines), but which may protect against infection when delivered in an appropriate way using a recombinant vaccine platform (Wolfenden et al., 2010; Kremer et al., 2011). Recently, bacterial carriers of antigens (vectors), including *Salmonella* Enteritidis and *Bacillus subtilis*, have been manipulated to express protein antigens to protect against bacterial, viral, and protozoal pathogens in our laboratory (Layton et al., 2009; O'Meara et al., 2010; Kremer et al., 2011; Layton et al., 2011). These vaccines have an advantage over many other types of vaccines in that they are able to be delivered directly to a mucosal surface via nasal, ocular, or oral administration. Because most pathogens invade the host through a mucosal surface, an enhanced mucosal immune response is the only portion of acquired immunity that

can markedly reduce the probability of an animal or flock to become infected, as discussed above. While prevention of morbidity and mortality alone are useful traits of conventional vaccines for most poultry disease-causing agents, in the case of the common *Salmonella* serotypes which cause foodborne illness, these isolates generally cause little or no disease in the animals. Thus, recombinant vaccines that are able to provide wide-range protection against common *Salmonella* serotypes of poultry, by mucosal presentation, may be a critical component for controlling this problem in the next few years.

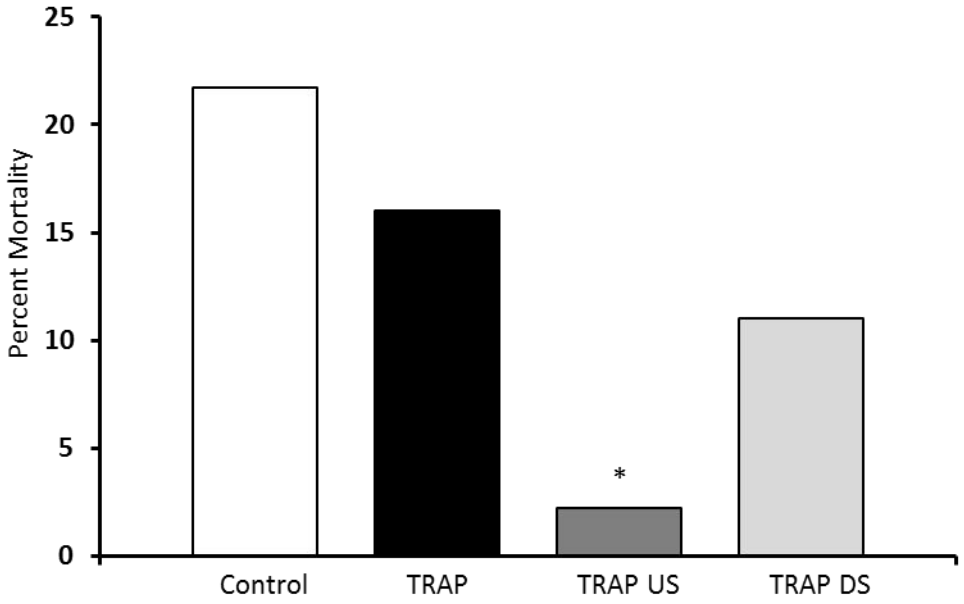


Figure 3. Mortality associated with *Eimeria* challenge after vaccination with *Salmonella*-vectored TRAP vaccine. Chicks were vaccinated on day of hatch by oral gavage with *Salmoenlla*-vectored TRAP, TRAP upstream sequence (US), or TRAP downstream sequence (DS), and challenged with *Eimeria* on day 21. Mortality reported within 5 days of challenge. Results reported as percent mortality of total chicks per treatment group. * significantly different ($P \leq 0.05$)

Multiple vaccines have been tested in an attenuated recombinant *Salmonella enterica* serovar Enteritidis PT13A isolate. A *Salmonella*-vectored *Campylobacter* vaccine was tested (Layton et al., 2011) when three different *Campylobacter* epitopes were inserted into an attenuated *Salmonella* PT13A isolate. Vaccine candidates Cj0113 (Omp18/CjaD), Cj0982c (CjaA), and Cj0420 (ACE393), plus CD154, were created using a combination of overlapping extension PCR, the Red recombinase system, and an intermediary insertion of the I-SceI endonuclease recognition site as a counter-selection marker (Cox et al., 2007, Layton et al., 2010). When vaccinated via oral gavage with live *Salmonella*-vectored *Campylobacter* vaccine, followed by *C. jejuni* challenge 21 days later, Cj0113-vaccinated chicks were protected from infection sufficiently enough that *C. jejuni* was not detected in ileum samples (Figure 1). Accordingly, anti-*Campylobacter* IgA antibodies were increased in birds vaccinated with Cj0113 when compared to controls (Figure 2). The Cj0113 epitope expressed on *Salmonella* had the highest levels of sIgA and greatest protection following challenge. Similarly, Godlewska et al. (2009) showed an increased humoral response with Cj0113 vaccination using a *Salmonella* plasmid vector.

Similarly, a *Salmonella*-vectored *Eimeria* vaccine with a thrombospondin related adhesive protein (TRAP), CD154 insert was investigated for protection against morbidity and mortality associated with

coccidiosis (Shivamaraiah et al., 2010). Recombinant attenuated *Salmonella*-vectored vaccine strains containing stable integrated copies of TRAP, TRAP upstream (TRAP US) and TRAP downstream (TRAP DS) were constructed by the methods of Cox et al., 2007. The homologous and well-conserved TRAP sequence found in other apicomplexan members has potential to cross-protect against multiple parasites within the Phylum Apicomplexa (Tomley et al., 2001; Witcombe et al., 2003; Carruthers and Boothroyd, 2007). Day-of-hatch vaccination with live attenuated *Salmonella*-vectored TRAP, followed by *Eimeria* challenge on day 21 resulted in reduced mortality for chickens vaccinated with TRAP US or TRAP DS (Figure 3).

Using the same recombinant methods above, an M2e recombinant *Salmonella*-vectored vaccine against avian influenza was evaluated for organ invasion and M2e-specific antibody response (Layton et al., 2009). Chickens were vaccinated by oral gavage on day of hatch and day 21 with a live recombinant attenuated *Salmonella*-vectored M2e vaccine. All three M2e vaccines, Δ*aro*A-M2e-CD154, Δ*htr*A-M2e-CD154, and a Δ*aro*A-Δ*htr*A-M2e-CD154 resulted in increased IgG antibody response on day 35 post-vaccination when compared to controls (Figure 4).

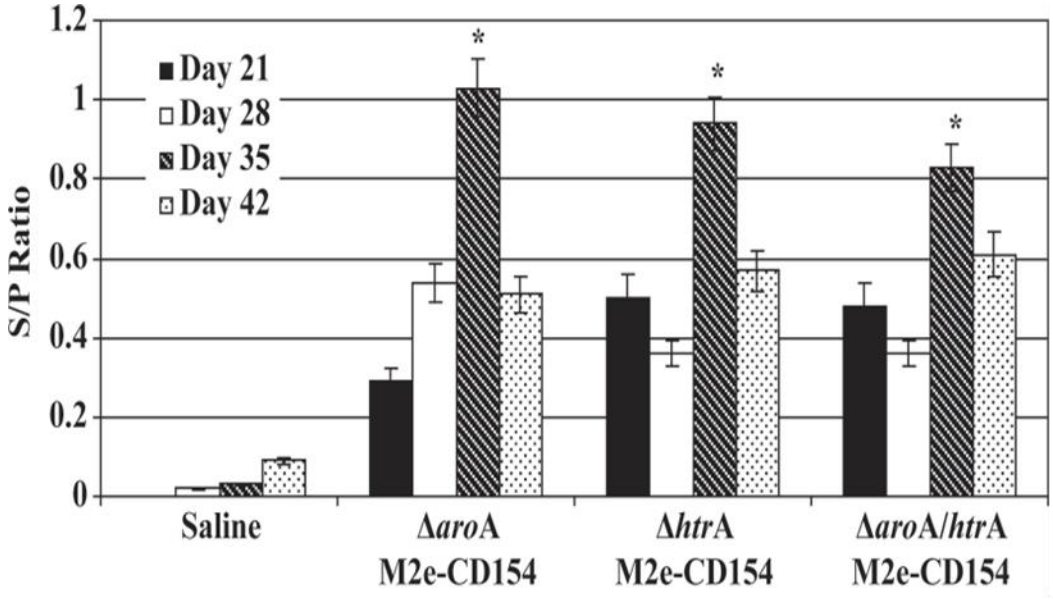


Figure 4. Anti-M2e serum IgG levels in chicks after oral vaccination with *Salmonella*-vectored M2e-CD154 vaccine. Chicks were vaccinated by oral gavage on day of hatch and day 21. Serum anti-IgG antibody levels were determined by ELISA on days 21, 28, 35, and 42. Means reported as mean S/P ratios ± SEM. * significantly different ($P \leq 0.05$).

Along with presentation of conserved antigens through mucosally-administered recombinant vaccines, there is a need to trick the immune system of the animal to respond robustly to these recombinant bacteria that are not capable of infecting or causing disease. Co-expression of molecules that may enhance the immune response or may be recognized by receptors located on the mucosal surface of the gastrointestinal tract is a promising area of work. Our laboratory is currently experimenting with co-expression of several such molecules that may enhance the response to these recombinant vaccines (Layton et al., 2009; O'Meara et al., 2010; Shivamaraiah et al., 2010; Wolfenden et al., 2010). CD154 (CD40L) is a member of the tumor necrosis factor ligand family, is expressed on the surface of activated T-cells and plays several key roles in the regulation of both humoral and cell-mediated immune responses (Barr et al., 2003; Xu and Song, 2004; Tregaskes et al., 2005). The CD40-CD154 interaction

has been shown to upregulate co-stimulatory molecules, thereby activating antigen-presenting cells and influencing T-cell-mediated effector functions (Grewal and Flavell, 1998; Miga et al., 2000; Xu and Song, 2004). In addition, CD40 antibodies mimicking the endogenous CD40-CD154 interaction have been shown to exhibit potent adjuvant effects when attached to antigens (Barr et al., 2003). Another possible immune-enhancer under consideration for inclusion in recombinant vaccine vectors is high mobility group protein B1 (HMGB1). A cytokine mediator of inflammation, HMGB1 binds TLR4 and activates macrophage cytokine release.

Presently, there are no broad-spectrum recombinant vaccines approved for use in agricultural animals to protect against the wide range of serotypes which plague poultry producers worldwide. Specific serotype vaccines, such as *S.* Enteritidis or *S.* Gallinarum, have gained considerable acceptance in countries with endemic problems with these more devastating serovars, particularly in breeders and table egg production chickens (see Shivaprasad, 1997, for a review). These vaccines generally do not provide robust protection against infection with even the identical serotype, and even less protection against heterologous serotypes (Hargis et al., 2010). However, there is a general consensus that some protection is provided and for valuable birds, these vaccines may offer a much-needed modicum of protection, though often through reduced persistence and shedding of the organism, thus limiting spread. For example, studies have shown that oil emulsion *Salmonella* Enteritidis bacterins administered to breeders caused a three $\log_{10}$ cfu/g cecal content reduction in recovery from progeny chicks (Inoue et al., 2008), and a two $\log_{10}$ cfu/g cecal content reduction in breeders after molting (Nakamura et al., 2004). Thus, these vaccines have value at the present time, especially for breeders and at-risk laying hens.

Live-type vaccines with gene deletions assuring avirulence while allowing immunogenicity have been reported (Curtiss and Kelly, 1987; Dueger et al., 2003), and other specific deletion mutants have been proposed (Zhang-Barber et al., 1999; Sydenham et al., 2000). Day-of-hatch chicks vaccinated with this type of attenuated *Salmonella* vaccine have been shown to have serological protection to homologous and heterologous *Salmonella* serotypes, possibly through a mechanism similar to competitive exclusion (Hassan and Curtiss, 1997; Dueger et al., 2003; Holt et al., 2003; Bohez et al., 2008). Furthermore, maternal antibodies can be demonstrated in eggs and chicks from breeders vaccinated with this vaccine. These antibodies were reported to reduce *Salmonella*e colonization and to provide protection to laying hens up to 11 months post-inoculation (Hassan and Curtiss, 1997). However, susceptibility to antimicrobial agents commonly used in poultry production can reduce or eliminate the efficacy of live vaccines, and these vaccines are subject to the serotype limitations as discussed above.

Autogenous vaccines provide for yet another mechanism for vaccinating poultry. In many (but not all) countries, there are regulatory provisions under certain circumstances for production of specific killed vaccines using the specific isolate plaguing a given poultry flock or complex. These "autogenous" *Salmonella* isolates are typically grown, killed and mixed with an adjuvant (a chemical that potentiates the immune response) for parenteral administration. Some veterinarians associated with valuable breeder flocks believe that these vaccines are highly preferred for vaccination against endemic and common serotypes for which no commercial vaccine exists. While they may do little to reduce infectivity, they are very effective for limiting systemic disease and morbidity, and reduce vertical shedding from the reproductive tract, and many have speculated that parenteral autogenous vaccination may shorten the period of shedding due to prevention of enterohepatic circulation of salmonellae in some cases.

Taken together, there are tremendous future opportunities for manipulating the acquired immune response, particularly the mucosal secretory IgA response, for reducing *Salmonella* infections in poultry. However, current vaccine availability is limited and progress is greatly needed on two fronts: 1) improving mucosal immune responses for *Salmonella* vaccines; and 2) targeting shared protective epitopes for broad-spectrum serotype coverage for the paratyphoid *Salmonellae* that currently plague poultry producers world-wide. Currently-available commercial vaccines are enjoying significant popularity due to the intense regulatory pressures facing meat and egg producing poultry, although applications are generally limited to breeder or layer flocks except under intense regulatory pressure.

Ongoing work in our laboratory is aimed at extending our work with bacterial vectors which co-express key epitopes for selected pathogens and immune-enhancing molecules to enhance response from mucosal dendritic cells and other cells of macrophage lineage. The most recent data, presented at this symposium, suggests that co-expression of significant molecules such as CD154 with key epitopes can markedly enhance immune responses to vectored antigens and may provide an avenue for oral vaccination with inactivated or Generally Recognized As Safe (GRAS) vaccine vectors in the near future.

References:

1. Ashby, D, I Leduc, W Lauzon, BC Lee, N Singhal, and DW Cameron, 2005. Attenuated *Salmonella* Typhimurium SL3261 as a vaccine vector for recombinant antigen in rabbits. *J Immunol Methods* 299: 153–164.
2. Barr, TA, AL McCormick, J Carlring, and AW Heath, 2003. A potent adjuvant effect of CD40 antibody attached to antigen. *Immunology* 109:87–92.
3. Bohez, L, J Dewulf, R Ducatelle, F Pasmans, F Haesebrouk, and F Van Immerseel, 2008. The effect or oral administration of a homologous *hilA* mutant strain of *Salmonella enteritidis* in broiler chickens. *Vaccine* 26: 372.
4. Carruthers, V and JC Boothroyd, 2007. Pulling together: An integrated model of Toxoplasma cell invasion. *Curr Opin Microbiol* 10: 83-89.
5. Cheeseman, JH, NA Levy, P Kaiser, HS Lillehoj and SJ Lamont, 2008. *Salmonella enteritidis*-induced alteration of inflammatory CXCL-chemokine Messenger-RNA gene expression and histologic changes in the ceca of infected chicks. *Avian Dis* 25: 229-234.
6. Ceragioli, M, G Cangiano, S Esin, E Ghelardi, E Ricca, and S Senesi, 2009. Phagocytosis, germination and killing of *Bacillus subtilis* spores presenting heterologous antigens in human macrophages. *Microbiology* 155: 338–346.
7. Cox, MM, SL Layton, T Jiang, K Cole, BM Hargis, LR Bergham, WG Bottje, and YM Kwon, 2007. Scarless and site-directed mutagenesis in *Salmonella enteritidis* chromosome. *BMC Biotechnol* 7:59.
8. Curtiss, RS and M Kelly, 1987. *Salmonella typhimurium* deletion mutants lacking adenylate cyclase and cyclic AMP receptor protein are avirulent and immunogenic. *Infect Immun* 55: 3035.
9. Deguchi, K, E Yokoyama, T Honda, and K Mizuno, 2009. Efficacy of a novel trivalent inactivated vaccine against the shedding of *Salmonella* in a chicken challenge model. *Avian Dis* 53: 281–286.
10. Duc, H, HA Hong, HS Atkins, HC Flick-Smith, Z Durrani, S Rijpkema, RW Titball, and S. M Cutting, 2007. Immunization against anthrax using *Bacillus subtilis* spores expressing the anthrax protective antigen. *Vaccine* 25: 346–355.
11. Dueger, EL, JK House, DM Heithoff, and MJ Mahan, 2003. *Salmonella* DNA adenine methylase mutants prevent colonization of newly hatched chickens by homologous and heterologous serovars. *Int J Food Microbiol* 80: 153.
12. EFSA, 2008. Analysis of the baseline survey on the prevalence of Campylobacter in broiler batches and of Campylobacter and Salmonella on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: Campylobacter and Salmonella prevalence estimates. EFSA Journal 2010; 8(03):1503). [99 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1503. Available online: www.efsa.europa.eu.
13. Fiers, W, M De Filette, A Birkett, S Neirynck, and W Min Jou, 2004. A universal human influenza A vaccine. *Virus Res* 103: 173–176.
14. Godlewska, R, K Wisniewska, Z Pietras, and E K. Jagusztyn-Krynicka, 2009. Peptidoglycan-associated lipoprotein (Pal) of Gram-negative bacteria: function, structure, role in pathogenesis and potential application in immunoprophylaxis. *FEMS Microbiol Lett* 298:1–11.
15. Grewal, IS, and RA Flavell, 1998. CD40 and CD154 in cellmediated immunity. *Annu Rev Immunol* 16:111–135.
16. Hargis, BM, DJ Caldwell, and JA Byrd, 2010. Microbial pathogens: Live poultry considerations. In: Owens, CM, CZ Alvarado, and AR Sams, Poultry Meat Processing. CRC Press, Boca Raton, FL.
17. Hassan, JO and R Curtiss, 1997. Efficacy of live avirulent *Salmonella typhimurium* vaccine in preventing colonization and invasion of laying hens by *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis*. *Avian Diseases* 41: 783.
18. Holt, PS, RK Gast, and S Kelly-Aehle, 2003. Use of a live attenuated *Salmonella typhimurium* vaccine to protect against *Salmonella enteritidis* infection while undergoing molt. *Avian Diseases* 47: 656.
19. Huang, JM, RM La Ragione, A Nunez, and SM Cutting, 2008. Immunostimulatory activity of *Bacillus* spores. *FEMS Immunol Med Microbiol* 53: 195–203.
20. Inoue, AY, A Berchieri, Jr., A Bernardino, A, JB Paiva, and EV Sterzo, 2008. Passive immunity of progeny from broiler breeders vaccinated with oil-emulsion bacterin against *Salmonella enteritidis*. *Avian Diseases* 48: 567-571.
21. Kajikawa, A, E Satoh, RJ Leer, S Yamamoto, and S Igimi, 2007. Intragastric immunization with recombinant *Lactobacillus casei* expressing flagellar antigen confers antibody-independent protective immunity against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Vaccine* 25: 3599–3605.
22. Kotton, CN, and EL Hohmann, 2004. Enteric pathogens as vaccine vectors for foreign antigen delivery. *Infect Immun* 72: 5535–5547.

23. Kremer, CH, KM O' Meara, SL Layton, BM Hargis, and K Cole, 2011. Evaluatin of recombinant *Salmonella* expressing the flagellar protein fliC for persistence and enhanced antibody response in commercial turkeys. *Poultry Science* 90: 752-758.
24. Layton, SL, DR Kapzcynski, S Higgins, J Higgins, AD Wolfenden, KA Liljebjelke, WG Bottje, D Swayne, LR Berghman, YM Kwon, BM Hargis, and K Cole, 2009. Vaccination of chickens with recombinant *Salmonella* expressing M2e and CD154 epitopes increases protection and decreases viral shedding after low pathogenic avian influenza challenge. *Poultry Science* 88: 2244-2252.
25. Layton, SL, MJ Morgan, K Cole, YM Kwon, DJ Donoghue, BM Hargis, and NR Pumford, 2011. Evaluation of *Salmonella*-vectored *Campylobacter* peptide epitopes for reduction of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. *Clinical Vaccine Immunol* 18: 449-454.
26. Liu, M, S Li, S Hu, C Zhao, D Bi, and M Sun, 2008. Display of avian influenza virus nucleoprotein on *Bacillus thuringiensis* cell surface using CTC as a fusion partner. *Appl Microbiol Biotechnol* 78: 669–676.
27. Miga, A, S Masters, M Gonzalez, and RJ Noelle, 2000. The role of CD40–CD154 interactions in the regulation of cell mediated immunity. *Immunol Invest* 29:111–114.
28. Mollenkopf, H, G Dietrich, and SHE Kaufmann, 2001. Intracellular bacteria as targets and carriers for vaccination. *Biol Chem* 382: 521–532.
29. Mozdzanowska, K, J Feng, M Eid, G Kragol, M Cudic, L Otvos, and W Gerhard, 2003. Induction of influenza type A virus-specific resistance by immunization of mice with a synthetic multiple antigenic peptide vaccine that contains ectodomains of matrix protein 2. *Vaccine* 21: 2616–2626.
30. Nakamura, M, T Nagata, S Okamura, K Takehara, and PS Holt, 2004. The effect of killed *Salmonella enteritidis* vaccine prior to induced molting on the shedding of *S. enteritidis* in laying hens. *Avian Dis* 48: 183–188.
31. Neirynck, S, T Deroo, X Saelens, P Vanlandschoot, W Min Jou, and W Fiers, 1999. Universal vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nature* 5:1157–1163.
32. O'Meara, KM, CJ Kremer, SL Layton, LR Berghman, BM Hargis, and K Cole, 2010. Evaluation of recombinant *Salmonella* expressing CD154 for persistence and enhanced antibody response in commercial turkeys. *Poultry Science* 89: 1399–1405.
33. Shivaramaiah, S, JR Barta, SL Layton, C Lester, YM Kwon, LR Berghman, BM Hargis and G Tellez, 2010. Development and Evaluation of an aroA / htrA *Salmonella enteritidis* Vector Expressing *Eimeria maxima* TRAP Family Protein EmTFP250 with CD 154 (CD 40L) as Candidate Vaccines against Coccidiosis in Broilers. *I J Poult Sci* 9: 1031-1037.
34. Shivaprasad HL. Pullorum disease and fowl typhoid. In: Calnek BW, John Barnes H, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, eds. Diseases of poultry. London: Mosby-Wolfe, 1997: 82-121.
35. Sydenham, M, D Gillian, F Bowe, S Ahmed, S Chatfield, and G Dougan, 2000. *Salmonella enterica* serovar typhimurium *surA* mutants are attenuated and effective live oral vaccines. *Infect Immun* 68: 1109.
36. Tomley, FM, KJ Billington, JM Bumstead, JD Clark and P Monaghan, 2001. EtMIC4: A microneme protein from *Eimeria tenella* that contains tandem arrays of epidermal growth factor-like repeats and thrombospondin type-I repeats. *Int J Parasitol* 31: 1303-1310.
37. Tregaskes, CA, HL Glansbeek, AC Gill, LG Hunt, J Burnside, and JR Young, 2005. Conservation of the biological properties of the CD40 ligand, CD154 in a non-mammalian vertebrate. *Dev Comp Immunol* 29:361–374.
38. Uyen, NQ, HA Hong, and SM Cutting, 2007. Enhanced immunization and expression strategies using bacterial spores as heat-stable vaccine delivery vehicles. *Vaccine* 25: 356–365.
39. Witcombe, D.M., S.I. Belli, M.G. Wallach and N.C. Smith, 2003. Molecular characterisation of EmTFP250: A novel member of the TRAP protein family in *Eimeria maxima. Int J Parasitol* 33:691-702.
40. Wolfenden, RE, SE Layton, AD Wolfenden, A Khatiwara, G Gaono-Ramirez, NR Pumford, K Cole, YM Kwon, G Tellez, LR Bergman, and BM Hargis, 2010. Development and evaluation of candidate recombinant *Salmonella*-vectored *Salmonella* vaccines. *Poultry Science* 89: 2370-2379.
41. Xu, Y, and G Song, 2004. The role of CD40–CD154 interaction in cell immunoregulation. *J Biomed Sci* 11:426–438.
42. Yang, X, BJ Hinnebusch, T Trunkle, CM Bosio, Z Suo, M Tighe, A Harmsen, T Becker, K Crist, N Walters, R Avci, and DW Pascual, 2007. Oral vaccination with *Salmonella* simultaneously expressing *Yersinia pestis* F1 and V antigens protects against bubonic and pneumonic plague. *J Immunol* 178: 1059–1067.
43. Zhang, QJ, JC Meitzler, SX Huang, and T Morishita, 2000. Sequence polymorphism, predicted secondary structures, and surface-exposed conformational epitopes of *Campylobacter* major outer membrane protein. *Infect Immun* 68: 5679–5689.
44. Zhang-Barber, L, AK Turner, PA Barrow, 1999. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine* 17: 2538.
45. Zou, P, W Liu, and Y Chen, 2004. The epitope recognized by a monoclonal antibody in influenza A virus M2 protein is immunogenic and confers immune protection. *Int Immunopharmacol* 5: 631–635.

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

VACCINATION AGAINST COCCIDIOSIS: INFLUENCE OF DIET AND MANAGEMENT ON THE DEVELOPMENT OF IMMUNITY

D.J. Caldwell, M.B. Farnell, and J.T. Lee
Poultry Science Department, Texas A&M University, College Station, TX

Presentation Format

- History of coccidiosis vaccination
- Influence of diet on vaccination:
  - Broilers
  - Replacement broiler breeders
- Influence of probiotics on vaccination
- Conclusions and recommendations

Historical Perspectives:

Live Oocyst Vaccines

- Live oocyst vaccination has been used by the poultry industry for over 50 years. Initial use was primarily for broiler breeder and replacement layer stock.
  - Chapman *et al.,* (2002)
  - The basis for vaccination is the host immunity that is generated against subsequent infections by the same species.
  - Yun *et al.,* (2000)

Limited Acceptance of Coccidiosis Vaccination within Main-Stream Broiler Production

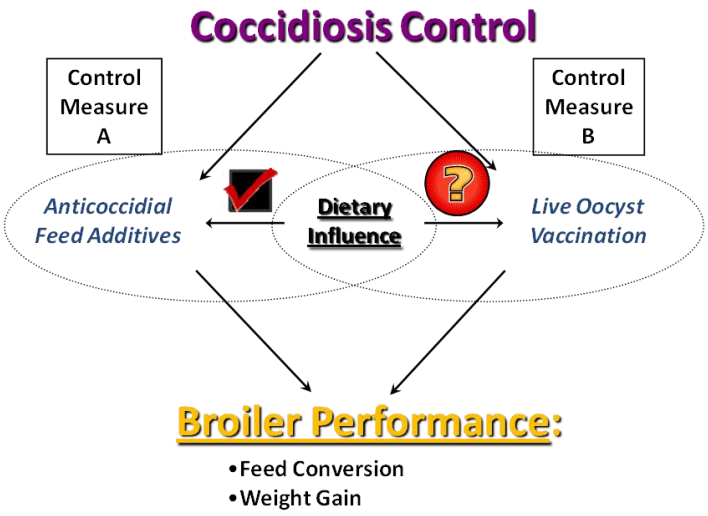
- "Large-scale" broiler integrators within the U.S. have been reluctant to introduce vaccination programs due to reported reduced performance.
  - Allen and Fetterer (2002)
  - Such reports involve decreased weight gain and increased feed conversion compared to feed-based anticoccidial usage during grow-out.
  - Williams (2002)
  - Waldenstedt *et al*., (1999)
  - Danforth (1998)

Vaccination: Contradictory Reports of Performance Equal to Medication

- Vaccinated broilers performed similar to if not better than medicated broilers.
    - Danforth (1998)
    - Mathis and Lang (2001)
    - Williams and Gobbi (2002)
    - Compensatory gain in vaccinated broilers has been shown to take place between 28 and 42 days of age.
    - Mathis (1999)
    - Vaccinated broilers had significantly lower mortality rates compared to medicated broilers.
    - Williams *et al.,* (1999)

Nutritional or Dietary Variability During Live Oocyst Vaccination

- Nutritional programs varied in the previously cited literature.
    - Dietary composition not described
    - NRC formulation
    - Diets formulated for anticoccidial usage used for vaccination
- A decrease in performance is due to impaired protein digestibility during periods of clinical coccidiosis.
    - Turk (1972)
- Previous research has indicated that varying protein levels can influence performance during clinical coccidial infection.
    - Sharma *et al.,* (1973)



Working Hypothesis:

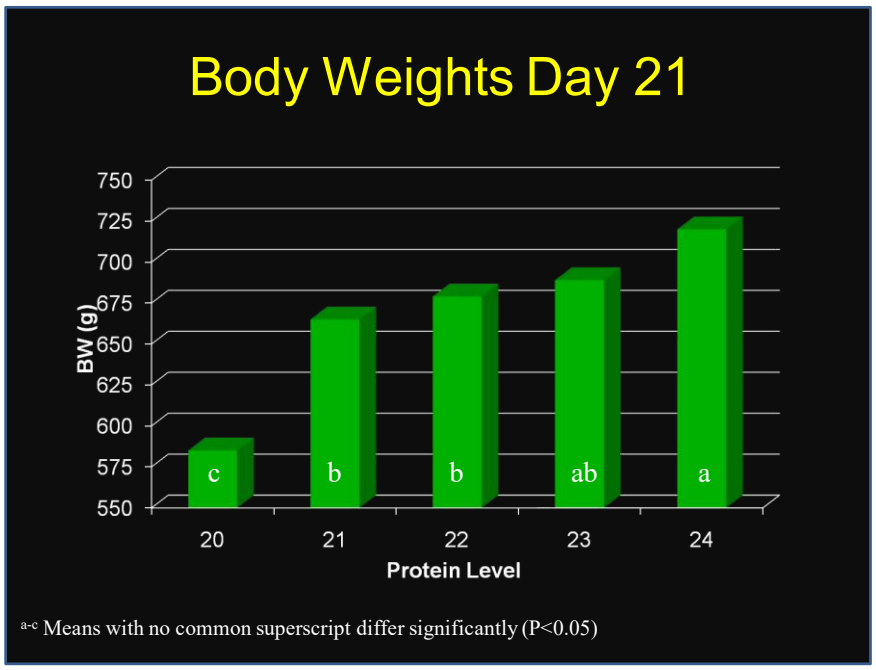
Since extreme dietary variability exists in reports where live oocyst vaccination has been compared to anticoccidial drug usage, particularly in studies where vaccination has failed, we *hypothesize* that such failures are in part due to attempting to vaccinate against coccidiosis using a nutritional and management platform designed for anticoccidial drug usage.

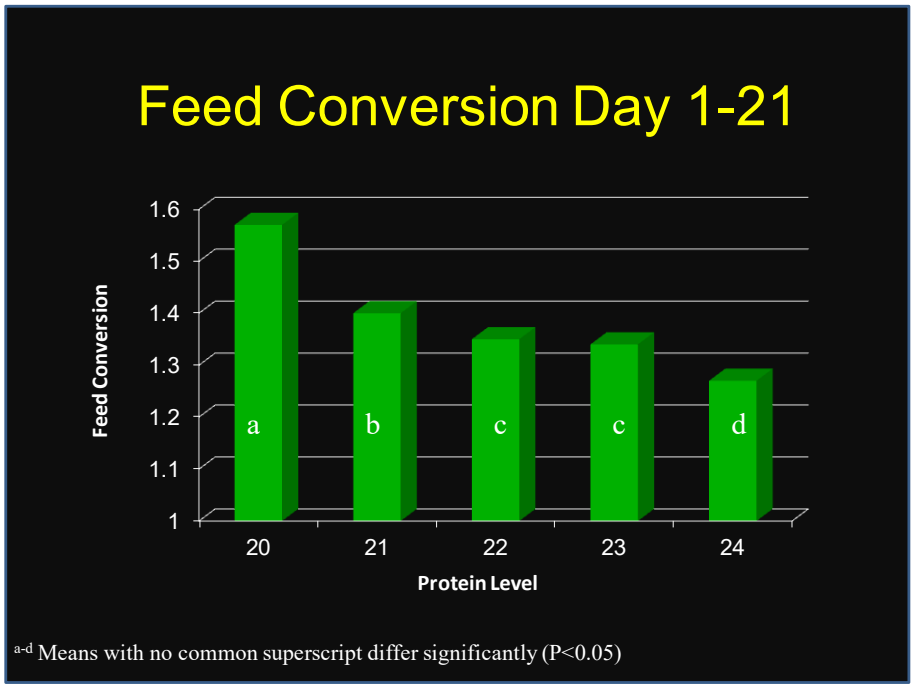
INFLUENCE OF DIET ON PERFORMANCE IN VACCINATED BROILERS

Materials and Methods

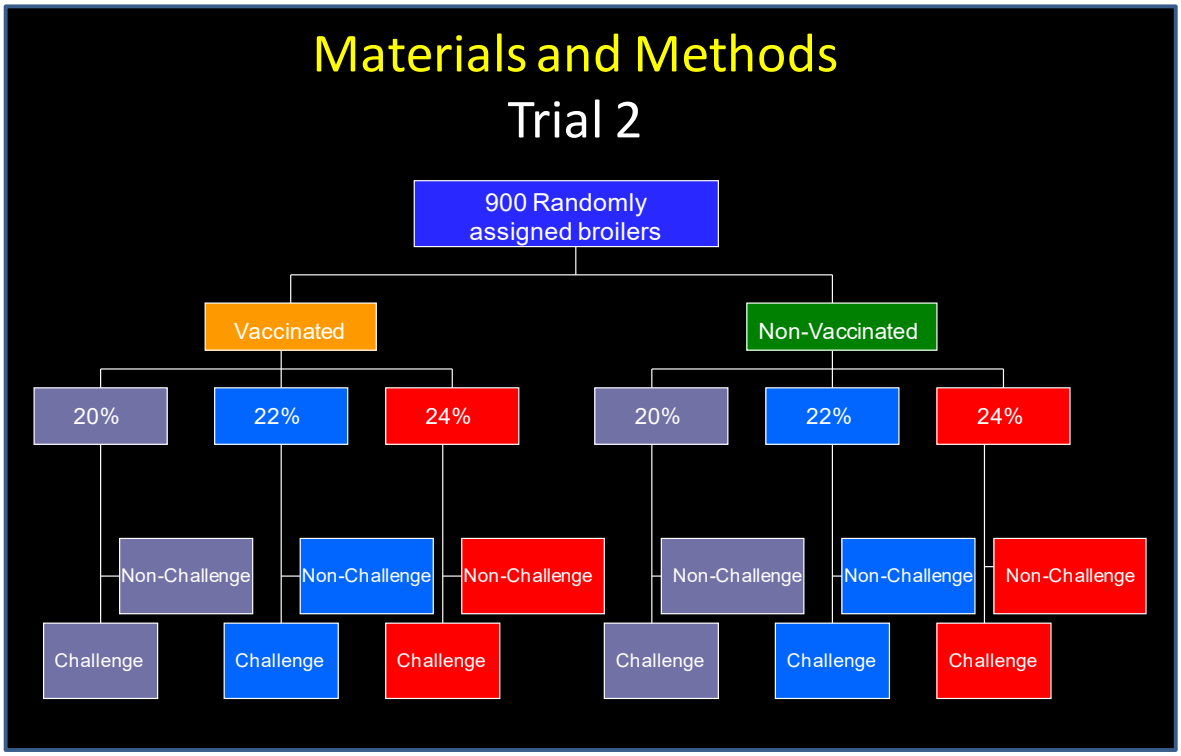
Trial 1

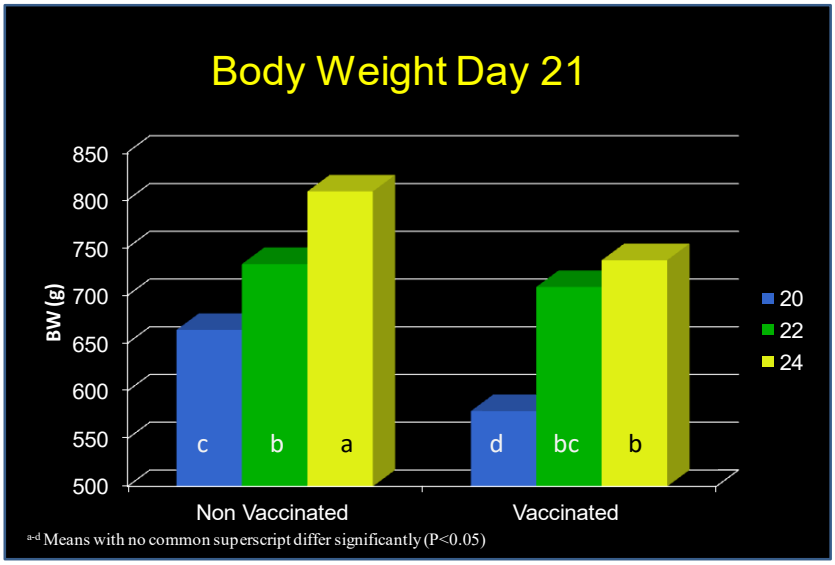
- Five dietary protein levels with eight replicates: 20, 21, 22, 23, and 24% protein / ME=3200 Kcal/kg
  - On day of hatch, all chicks were individually weighed, wing banded and vaccinated with Coccivac®-B
- Grow-out for 21 days

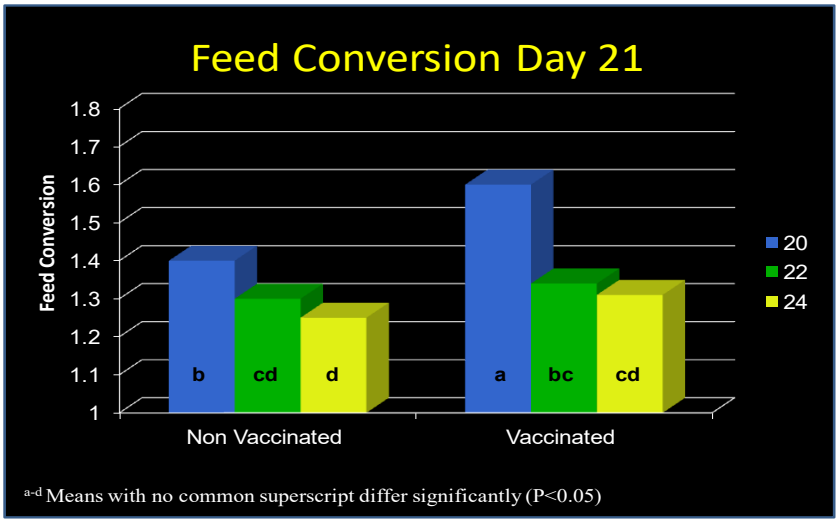


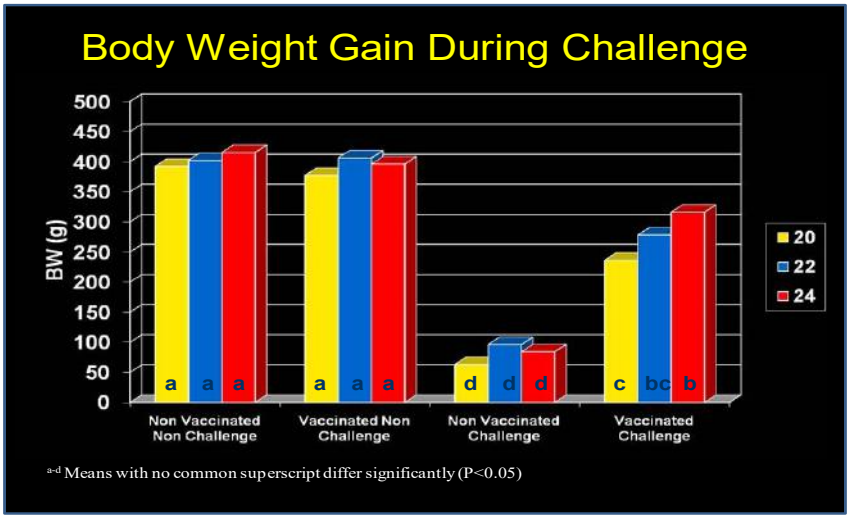


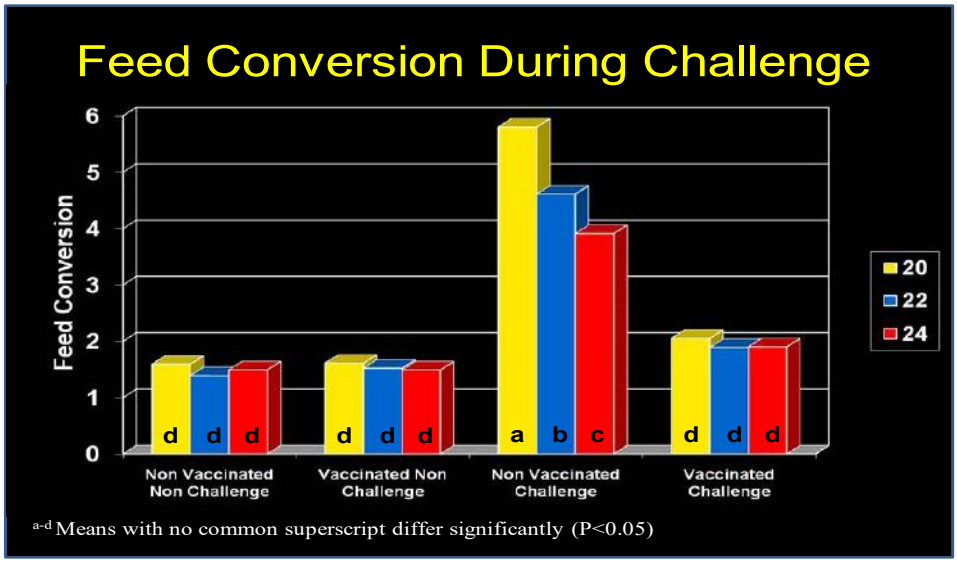
[a-d] Means with no common superscript differ significantly (P<0.05)




Body Weight Day 21
BW (g)
850
800
750
700
650
600
550
500
c
b
a
d
bc
b
Non Vaccinated
Vaccinated
20
22
24
a-d Means with no common superscript differ significantly (P<0.05)


Feed Conversion Day 21
Feed Conversion
1.8
1.7
1.6
1.5
1.4
1.3
1.2
1.1
1
b
cd
d
a
bc
cd
Non Vaccinated
Vaccinated
20
22
24
a-d Means with no common superscript differ significantly (P<0.05)


Body Weight Gain During Challenge
BW (g)
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
a a a
a a a
d d d
c bc b
Non Vaccinated Non Challenge
Vaccinated Non Challenge
Non Vaccinated Challenge
Vaccinated Challenge
20
22
24
a-d Means with no common superscript differ significantly (P<0.05)



Experimental Design

Trial 3

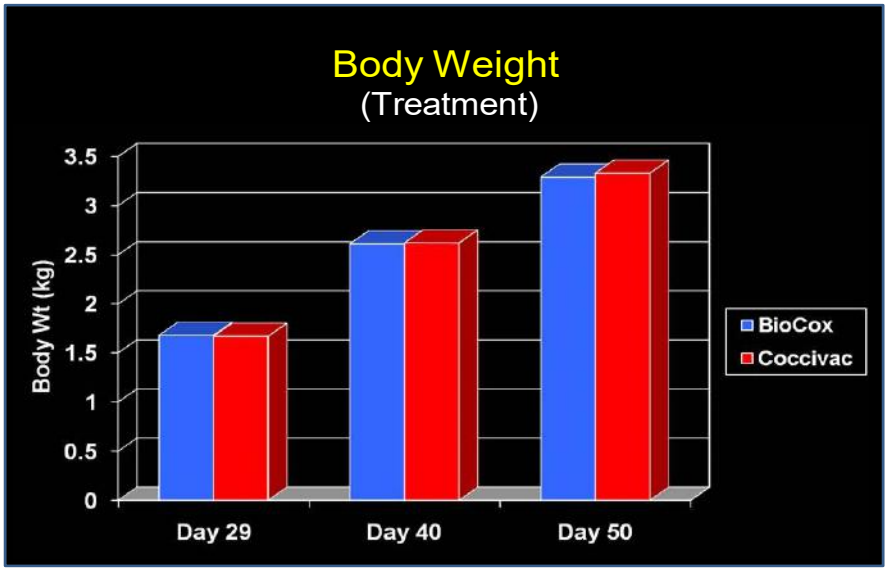
- 50 day grow-out at industry stocking densities
- Design: 2 x 2 factorial (vaccination or ionophore X diet)
- Medicated diet:
  - Starter: Salin. (60g/ton) + BMD (50g/ton)
  - Grower: Salin. (60g/ton) + BMD (25g/ton) + roxarzone (45g/ton)
  - Finisher: Salin. (50g/ton) + BMD (25g/ton) + roxarzone (34g/ton)
- Chickens in Coccivac-B groups did not receive Salinomycin in diets.

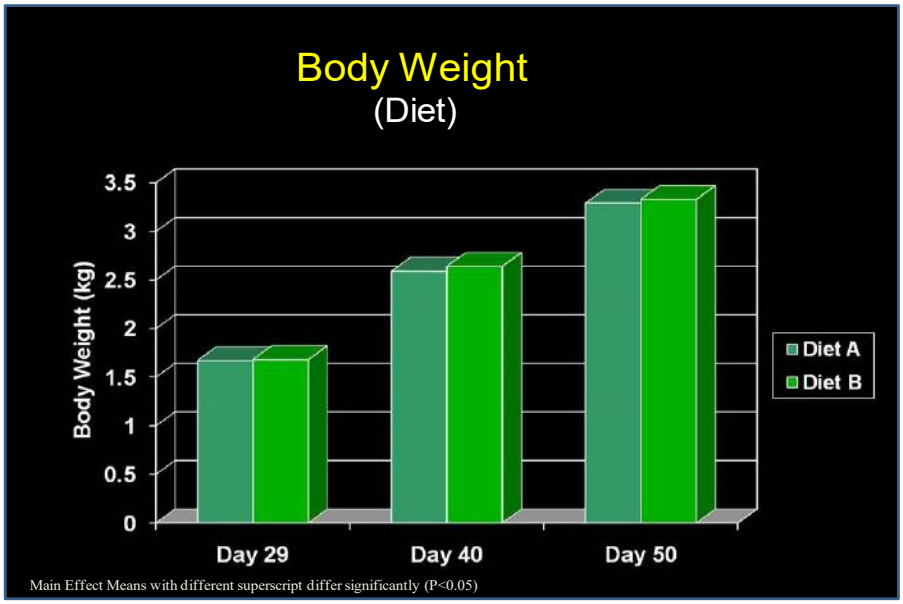
Comparisons between **Starter** Diets: Diet A vs. Diet B

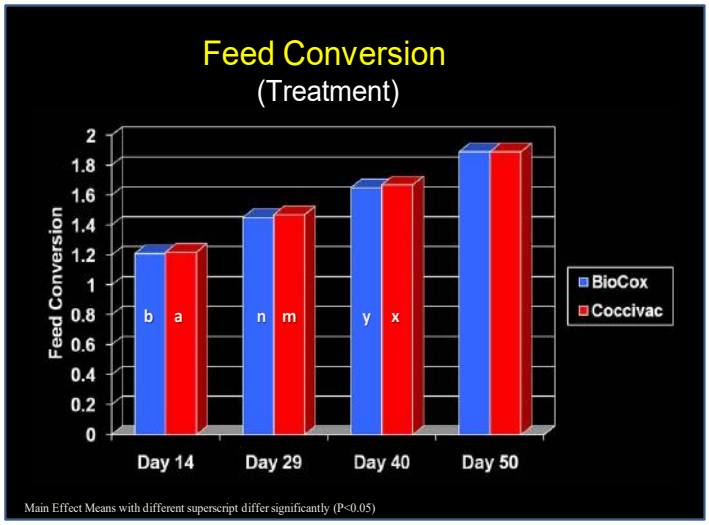
Dietary Component:	Diet A	Diet B
Total Protein:	21.5%	22.0%
Methionine	0.58	0.59
Lysine	1.22	1.27
TSAA	0.95	0.97
ME (kcal/kg)	3080	3080

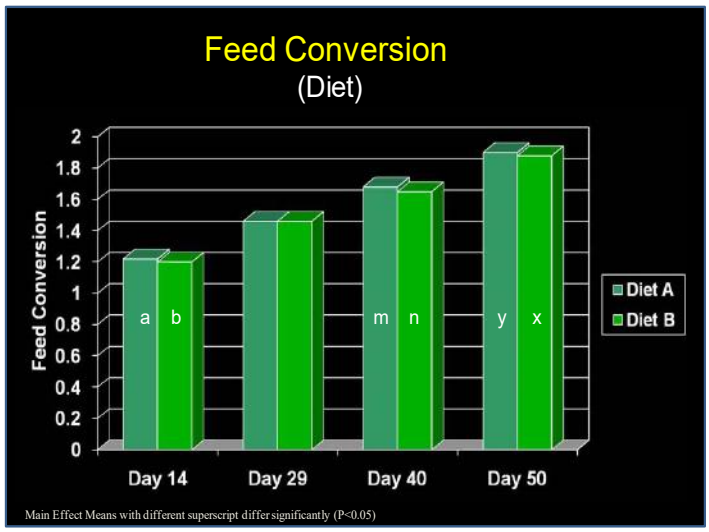
Comparisons between **Grower** Diets: Diet A vs. Diet B

Dietary Component:	Diet A	Diet B
Total Protein:	20.0%	19.6%
Methionine	0.55	0.56
Lysine	1.14	1.12
TSAA	0.90	0.90
ME (kcal/kg)	3135	3135





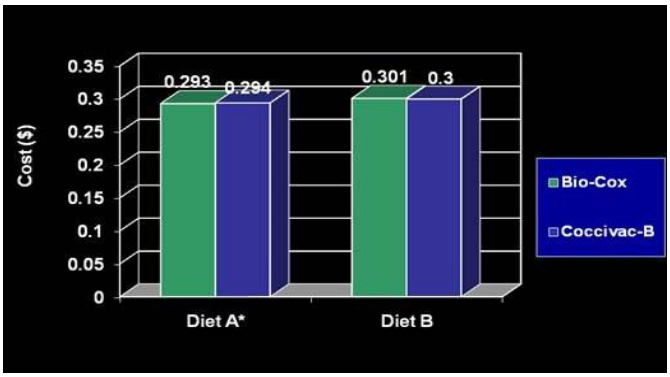




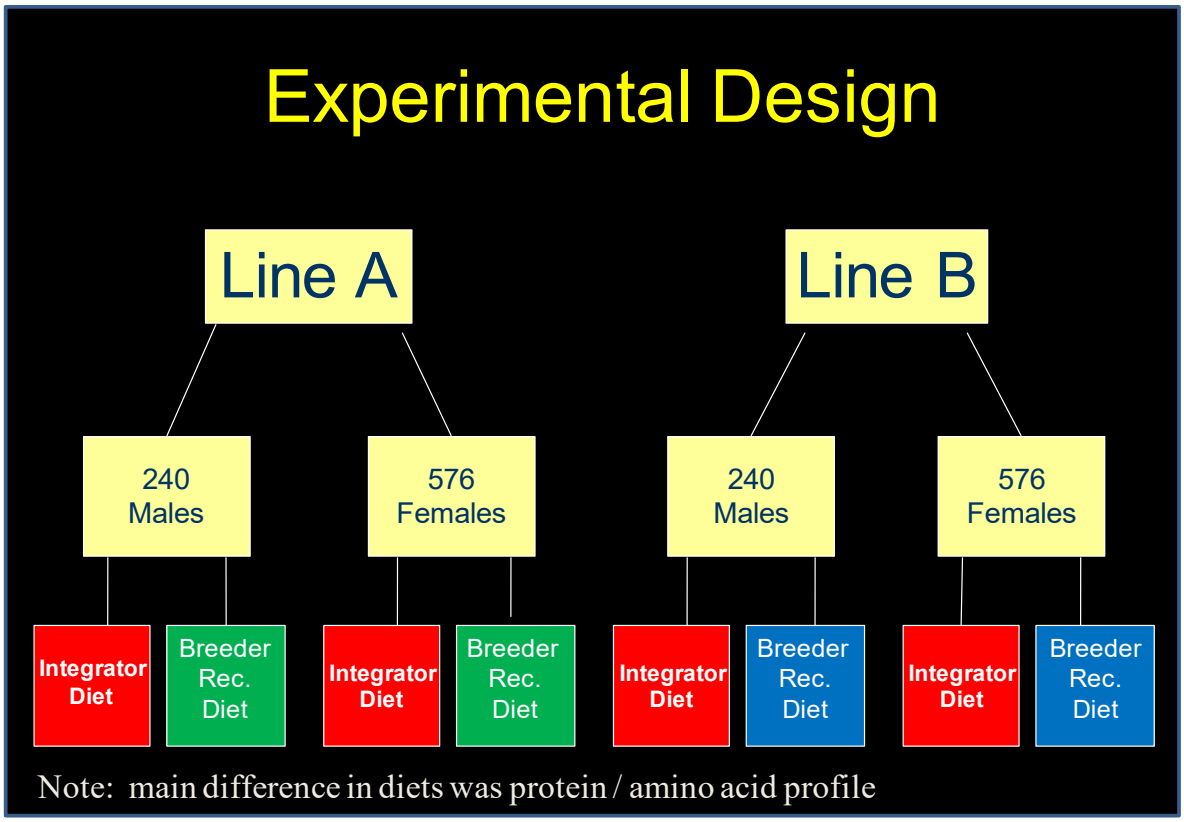
Total Feed Cost with Coccidial Control Measure (cost/kg of live weight)

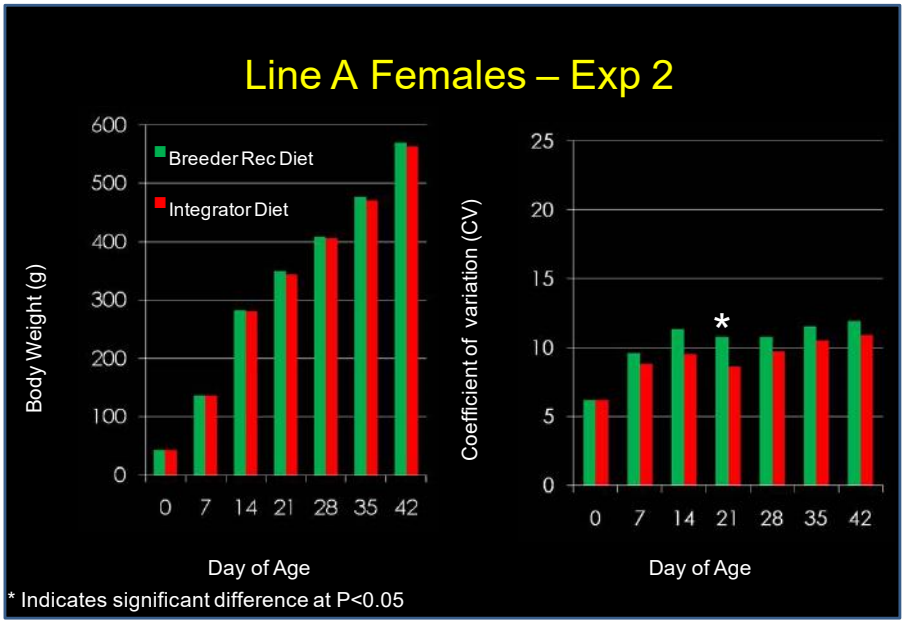
<u>Dietary Cost</u>

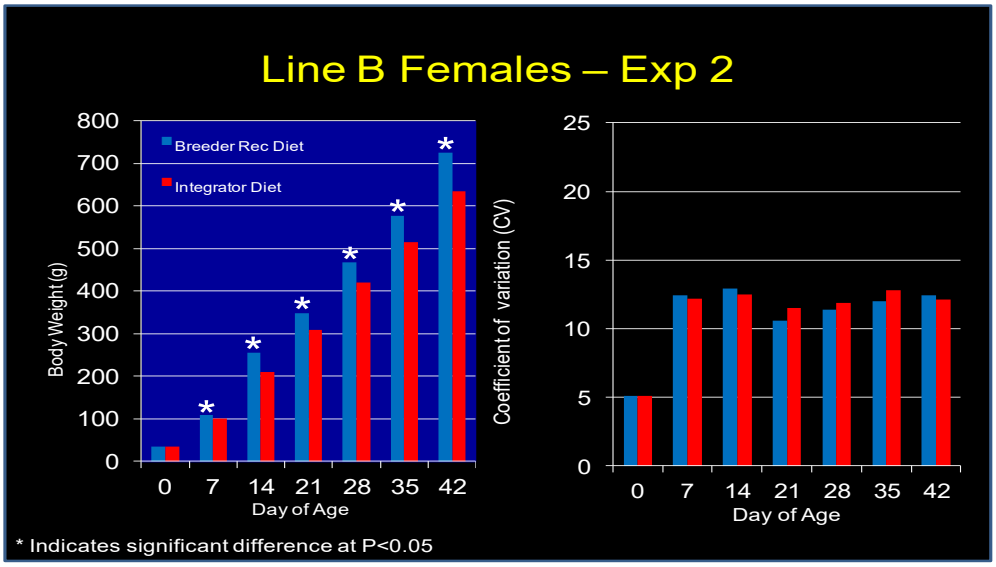
- Diet A
  - Starter $155.06/ton
  - Grower $150.10/ton
- Diet B
  - Starter $159.68/ton
  - Grower $148.66/ton



INFLUENCE OF DIET ON PERFORMANCE IN VACCINATED REPLACEMENT BROILER BREEDERS







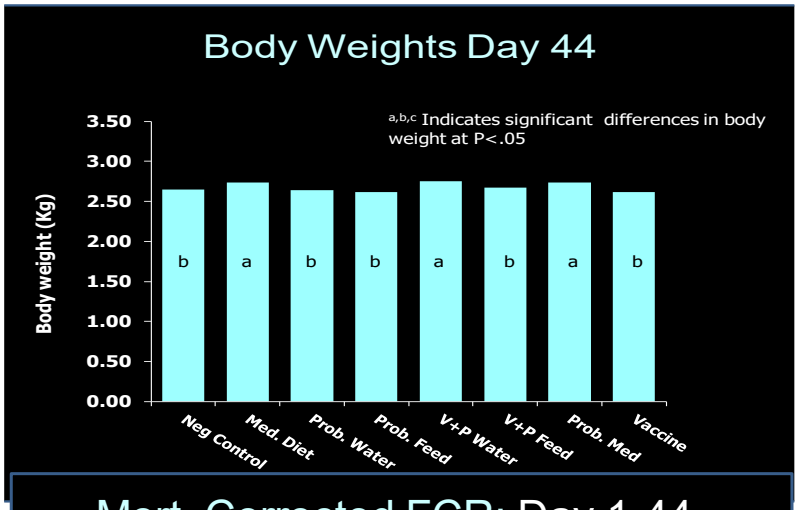
INFLUENCE OF PROBIOTICS ON PERFORMANCE IN VACCINATED BROILERS

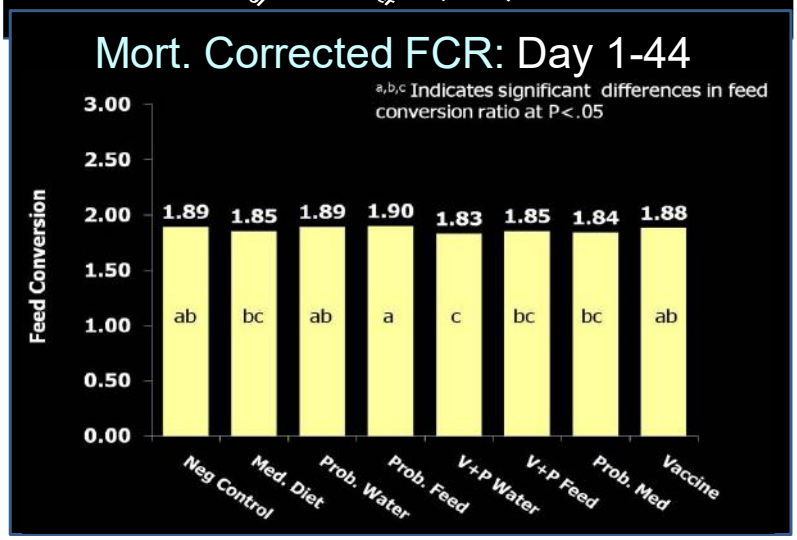
- Study Overview
- Objective: to determine the added benefit, if any, to dual application of a probitic (Biomin® PoultryStar) with a coccidiosis vaccine to commercial strain broilers during 42, 44, or 49 day grow-out.
- Experimental trials:
  - Trial 1: Fall 2007 (used litter/no challenge)
  - Trial 2: Spring 2008 (used litter/with challenge)
  - Trial 3: Fall 2008 (used litter/with challenge/comparison to medicated diets)

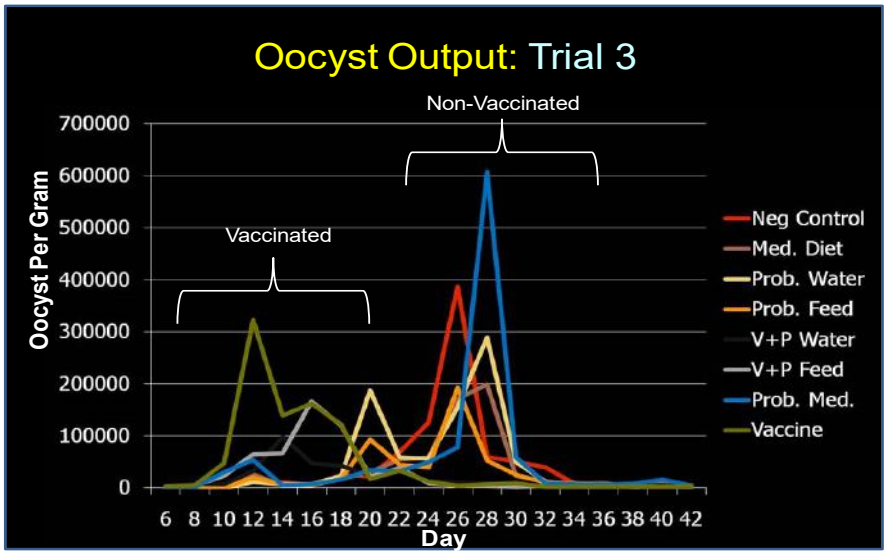
Experimental Design and Methods

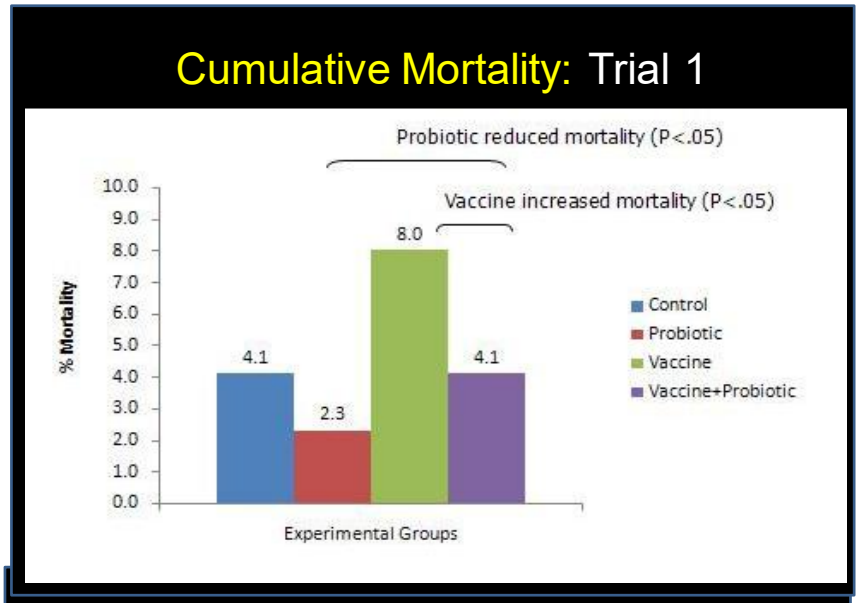
Trial 3

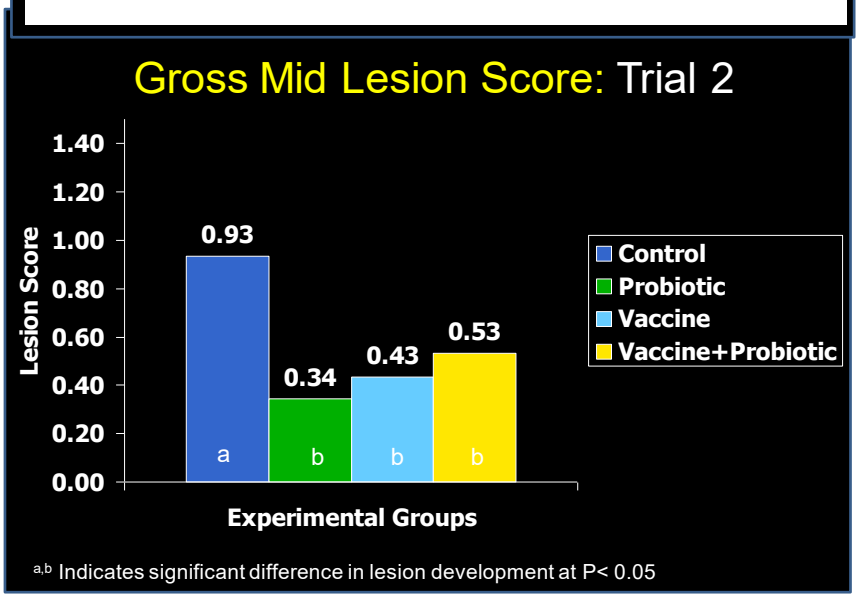
- Eight experimental groups:
  - Negative Control
  - Medicated Diet (Coban® 90 (monensin))
  - Probiotic (Water App.)
  - Probiotic (Feed App.)
  - Vaccine+Probiotic (Water App.)
  - Vaccine +Probiotic (Feed App.)
  - Probiotic + Medicated Diet (Coban® 90 (monensin))
  - Vaccine
- 64 pen study containing 8 replicate pens per experimental group
- Cumulative Mortality: Trial 1


Body Weights Day 44
a,b,c Indicates significant differences in body weight at P<.05
Body weight (kg)
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
b
a
b
b
a
b
a
b
Neg Control
Med. Diet
Prob. Water
Prob. Feed
V+P Water
V+P Feed
Prob. Med
Vaccine


Mort. Corrected FCR: Day 1-44
a,b,c Indicates significant differences in feed conversion ratio at P<.05
Feed Conversion
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
1.89
1.85
1.89
1.90
1.83
1.85
1.84
1.88
ab
bc
ab
a
c
bc
bc
ab
Neg Control
Med. Diet
Prob. Water
Prob. Feed
V+P Water
V+P Feed
Prob. Med
Vaccine


Oocyst Output: Trial 3
Non-Vaccinated
Vaccinated
Oocyst Per Gram
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
0
6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42
Day
Neg Control
Med. Diet
Prob. Water
Prob. Feed
V+P Water
V+P Feed
Prob. Med.
Vaccine





Overall Conclusions

- Commercial-strain broilers and replacement broiler breeders are affected by dietary protein during early placement while vaccinating with a live oocyst coccidiosis vaccine.
- When managed appropriately, vaccination can be as effective using an ionophore for protection against coccidiosis-induced performance loss in broilers.
- Intermittent probiotic application during grow-out of vaccinated broilers enhances vaccine efficacy.

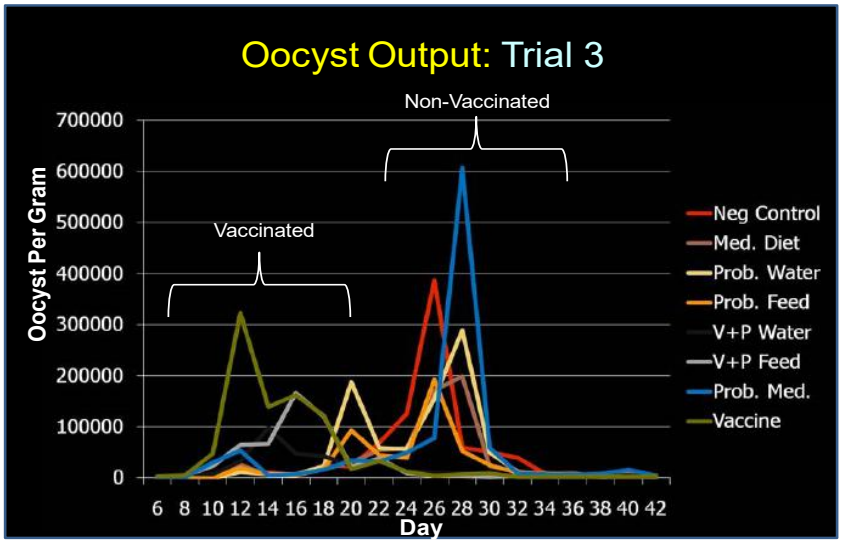
Recommendations

- Vaccination success depends upon early phase of production—specifically the starter period.

- Our research has shown a significant interaction between diet and vaccine efficacy in broilers when starter protein levels were specifically formulated and fed at a level of 22% protein.

- Other research offers insight into focusing early in production with vaccination—Teeter *et al*., 2007.
  - Majority of broiler growth occurs post-day 27
  - Insults to performance (*Eimeria* challenge) pre-day 27 can be overcome by compensatory gain.
  - Insults to performance post-day 27 result in permanent performance loss for the animal.

- Vaccination fits this model well:
  - Low-grade, controlled *Eimeria* infection early in production peaks by Day 21, results in immunity development and improved performance during post-day 27 production.



Department of Poultry Science

Thank You

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

RELACIÓN DE AMBIENTE-NUTRICIÓN EN EL DESARROLLO DE POLLO A LA PRIMERA SEMANA

Antônio Mário Penz Junior
Cargill Animal Nutrition
mpenz@provimila.com

¿Cuando inicia un lote?

- **¡Al final del lote anterior!**
- **Preparación de la Granja**
  - **Limpiar la parte externa del galpón y el galpón**
- **¡Donde la granja está limpia el galpón está organizado!!!!**

PRIMERA VISITA
Visita de prealojamiento

Preparación de la Granja

- Limpiar los silos
- Limpiar los depósitos de agua

Valores del agua normales en granja

Muestra	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Cloro Libre
Cisterna	40/100 ml	3/100 ml	0
Primero Nipple	10000/100 ml	92/100 ml	0
Normal	2 UFC/100ml	0 UFC/100ml	0.1-1.0 ppm

- Distribución de los equipos
- Después de toda la estructura limpia (5 días de trabajo), dejar un vacío sanitario de 10 días.
- Antes de la llegada de los pollitos, el técnico debe visitar la granja para identificar si todos los cuidados fueron tomados.

Tiempo de alojamiento
(período entre el final de la vacunación en la incubadora e la llegada de los politos a la granja)

FALTA DE GLUCOGENO

Pollito no come

↓

Reduce glucosa sanguínea, una vez que tiene pequeña reserva de glucógeno

↓

Falta de glucosa - apatía

↓

Apatía reduce consumo

↓

Falta de consumo – menor ingestión de glucosa

↓

Disminución de glucosa – más apatía

SEGUNDA VISITA

Visita de alojamiento

Cuando la llegada de los pollitos, el técnico debe estar presente para supervisar que los procedimientos de alojamiento están siendo seguidos.

Efecto del ayuno en el peso relativo y el desarrollo muscular

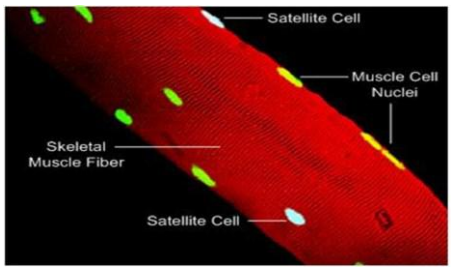
Parámetros		Período de Ayuno (días)			
		Normal	0-2	2-4	4-6
Peso Corporal	8 días	100 a	78.4 c	79.3 c	82.8 b
Peso Corporal	41 días	100 a	92.7 c	94.0 bc	97.8 ab
Muslo Pechuga	41 días	100 a	88.6 b	91.3 b	100.9 a

Adaptado de Havely *et al*., 2000

Restricción de alimentación en esta fase produce la disminución de los movimientos antiperistálticos, Esto causa la disminución de absorción de inmunoglobulinas del saco vitelino y promove la alteración de la función inmune Juul-Madsen *et. al*., 2004

Células musculares satélites

Estructuras que donan sus núcleos a las miositos adyacentes en los primeros días de vida, propiciando el crecimiento muscular través de la hipertrofia muscular.



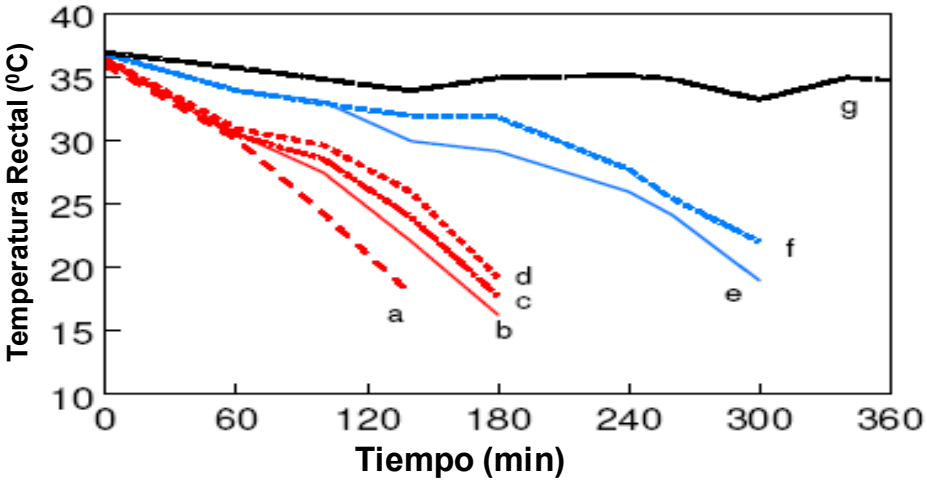
Características de las vellosidades duodenales según edad

Características		Días			
		1	7	14	21
Número	quadrante	13.0	12.9	11.9	10.9
Altura	µm	514	1340	1448	1657
Prof Cripta	µm	54	86	114	101

Adaptado de Viola, Ribeiro y Penz, 2005

Temperatura del galpón

Temperatura rectal de 7 pollitos, individualmente alojados, en un ambiente con 10ºC y 60% de humedad relativa



Adaptado de Kalthoven e Dijk, 1984.

Temperatura del agua

Su efecto sobre el consumo de agua es determinante.

El agua tiende a tener la temperatura del ambiente. Así, el uso de "flushing" es indispensable.

!Pollos con sed se quedan mojados!

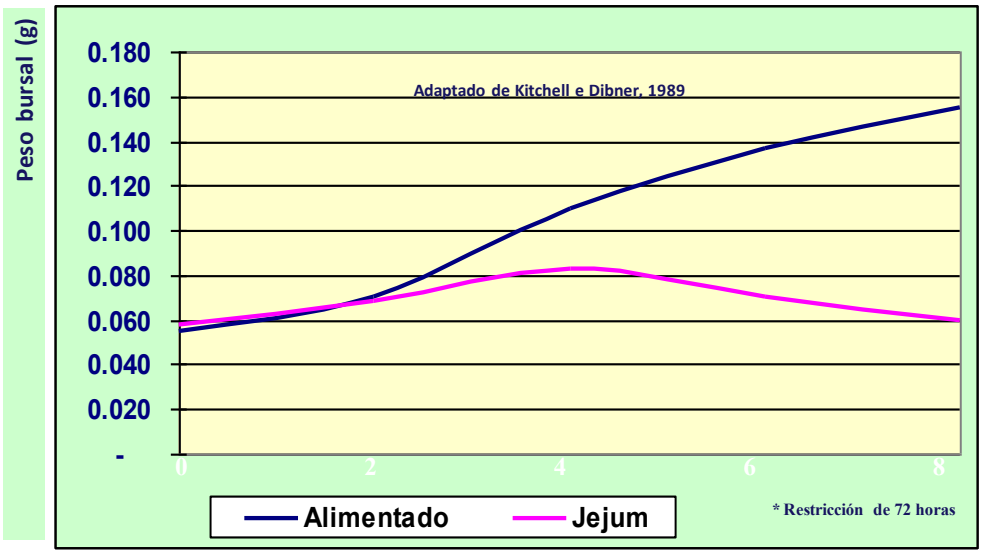
Macari, 1996 encontró que:

- La respuesta a la temperatura del agua ocurre desde los 24°C y se inicia en el nervio lingual.
- Agua con 36°C proporciona respuesta 10 veces mayor del nervio lingual que la agua con 24°C.

Consumo de alimento

Adaptado de Viola, Penz y Ribeiro, 2003

Efecto de la restricción de alimento en el peso de la bolsa de Fabricio

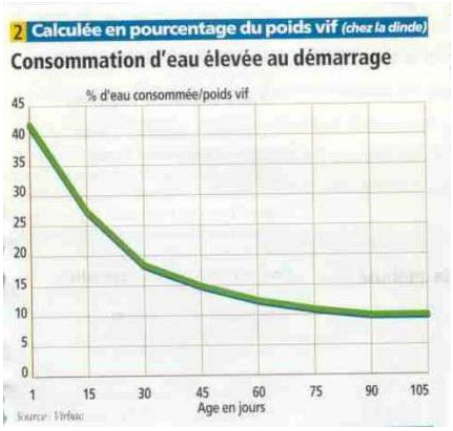


Estímulo del consumo

- Inmediatamente después de la eclosión: más importante que todos los nutrientes del saco vitelino es el estímulo de consumo de alimento sólido (Newey et al.,1970; Michael y Hodges, 1973; Baranyová y Holman, 1976)
- El retraso de alojamiento de los pollitos puede perjudicar su estado inmune (Casteel et al., 1994)
- El retraso del acceso al alimento después de la eclosión afecta el metabolismo de las hormonas tiroideas (T3 e T4). Esto tiene efecto en la manutención de la termorregulación de los pollitos en este período de sus vidas (Willemsen et al., 2010)

En el tracto digestivo, las enzimas que actúan sobre los carbohidratos, los lípidos y las proteínas SON SUSTRATO DEPENDIENTES.

Así, con base en esta afirmación, desde el inicio de la vida !alimente los pollos lo máximo posible!



Consumo agua/peso corporal (%)

En el primer día el consumo de agua es el 40% del peso corporal.

Efecto de la altura del nipple en altas temperaturas, sobre el consumo de agua

Tipo de Bebedero	Consumo de Agua Diário (% do Peso Vivo)
Pendular	16.9 a
Nipples (alto)	11.2 c
Nipples (bajo)	14.7 b

Adaptado de May et al. (1997)

Efecto de la restricción de agua y de alimento en el desarrollo del tracto digestivo

	Alimento	
Agua	Si	No
	Jejuno (% PC)	
Si	2.7 ay	1.5 az
No	1.7 by	1.7 ay
	íleo (% PC)	
Si	1.8 ay	1.0 az
No	1.1 by	1.0 ay
	íleo (cm)	
Si	17.8 ay	13.8 az
No	14.0 by	13.5 ay

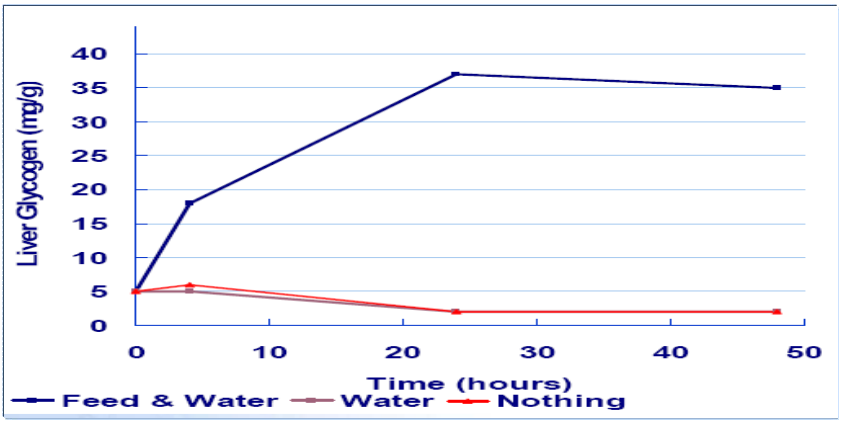
Adaptado de Maiorka et al., 2003

Efecto de la restricción del agua en las características de las villosidades

Tratamientos	Número (quadrante)	Altura (μm)	Prof Cripta (μm)
0%	12.9	1340	86
10%	11.9	1137	82
20%	12.1	1134	82
30%	12.1	1100	81
40%	12.2	1064	79
Prob	0.91	0.76	0.96
Regr	NS	NS	NS

Adaptado de Viola, Penz y Ribeiro, 2003

Efecto del consumo de agua y de alimento en la cantidad de glucógeno hepático



Adaptado de Warriss *et al.*

La granja tiene que tener medidor de agua.
La relación consumo de agua y consumo de alimento debe ser mayor de que 2:1
El agua debe ser limpia.
El agua no debe estar caliente.

Temperatura del Agua

Temperatura Agua °C	Ganancia Peso Diario (g)
13 °C	55,4
31 °C	50,3
42 °C	47,0

Adaptado de Word Technical Support ,2006

La calidad del agua debe ser examinada cada 6 meses
El agua debe ser clorada

Agua clorada y el desempeño de 1 a 35 días

Cloro	CR	GP	CA
T1- 0 ppm	3361 bc	2163 ab	1,55
T2- 6 ppm	3568 a	2271 a	1,57
T3- 12 ppm	3408 b	2179 a	1,56
T4- 18 ppm	3440 ab	2174 a	1,58
T5- 60 ppm	3224 c	2024 b	1,59
P	0,00	0,00	0,60
CV (%)	3,5	4,0	3,0

Consumo de ración (CR, g); ganancia de peso (GP, g) y conversión alimenticia (CA).
a, b, c diferentes letras son estatisticamente diferentes (Tukey, P<0,05)

Todos los días se debe medir el cloro en el agua.

TERCERA VISITA

Visita de calidad del galpón y de los pollos

En el cuarto día el técnico debe visitar la granja para identificar las condiciones de ambiente del galpón y mortalidad inicial, uniformidad del lote, involución del saco vitelino, duodeno y consumo de alimento ("teste do papo").

El saco vitelino es absorbido más rápido por pollitos que están comiendo, cuando comparados con aquellos que están sin comer. Noy y Sklan, 1997

El nivel de proteína de la dieta inicial afecta la velocidad de absorción del saco vitelino. Mayor proteína mayor absorción. Everaert et al (2010)

Disfunción del duodeno-páncreas

Restricción alimenticia de 0 a 2, 2 a 4 o 4 a 6 días fue responsable de pérdidas irrecuperables a los 41 días de edad.
El consumo de alimento inmediatamente después de la eclosión es vital para la proliferación de las células satélite musculares, responsables del desarrollo muscular (Halevy et al., 2000)

Importancia del tamaño de partícula en la primera fase de vida

Efecto del tamaño de partícula en la preferencia de consumo (%)

Tamaño de Partícula (μm)	1 a 7 días	1 a 14 días	1 a 21 días
768	56	48	52
473	30	34	41
360	14	18	7

Adaptado de Bueno, 2006.

Tamaño de partículas y utilización de nutrientes a los 7 días de edad

DGM (micras)	AMEn (kcal/kg)	N Ret (%)	MS Ret (%)
561	2780 b	50 c	72 c
783	2787 b	57 b	75 b
997	2843 a	59 a	77 a
Prob	0.006	0.001	0.001

Adaptado de Kraabe y Penz, 2000

Efecto del alimento preinicio (Prest) en pollitos con diferentes condiciones sanitarias (1 a 9 días de edad)

Cocc	Clostr	Prest	CDA (g)	PC (g)	CA (g/g)
-	-	-	24,8 ^{a}	232 ^{a}	1,17 ^{b}
-	-	100 g	27,0 ^{b}	266 ^{b}	1,08 ^{a}
+	+	-	24,7 ^{a}	236 ^{a}	1,14 ^{b}
+	+	100 g	27,4 ^{b}	269 ^{b}	1,08 ^{a}

Adaptado de ID-DLO – Provimi Holanda
P<0.05

Efecto del alimento preinicio (Prest) en pollitos con diferentes condiciones sanitarias (1 a 35 días de edad)

Cocc	Clostr	Prest	CDA (g)	PC (g)	CA (g/g)
-	-	-	89,7 ^{b}	2040 ^{b}	1,57 ^{ab}
-	-	100 g	92,9 ^{c}	2094 ^{b}	1,58 ^{b}
+	+	-	84,8 ^{a}	1949 ^{a}	1,56 ^{a}
+	+	100 g	91,3 ^{bc}	2059 ^{b}	1,58 ^{b}

Adaptado de ID-DLO – Provimi Holanda
P<0.05

CUARTA VISITA

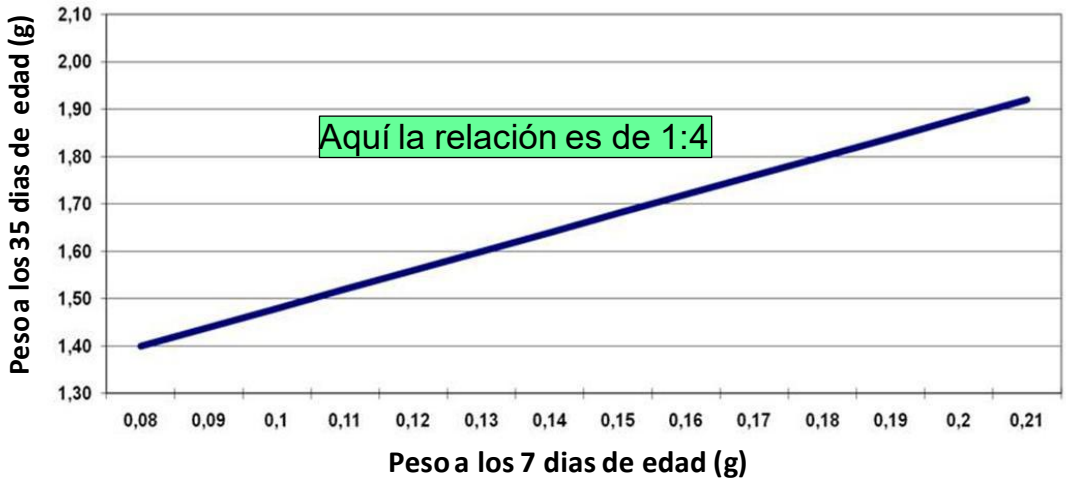
Visita de inspección

Entre 7 y 14 días, el técnico debe visitar la granja para revisar todos los procedimientos ejecutados en la primera semana, dejando una nota al productor.

Importancia del peso a los 7 días

Nutrición "in ovo" promueve la aceleración del desarrollo entérico. Esto favorece la digestión y la absorción, el estado sanitario y la resistencia a los estreses después de la eclosión. (Uni y Ferket, 2001)

Relación entre 7 y 35 días en el peso corporal



Adaptado de International Hatchery Practice, 2000.

Pesos relativos del intestino delgado y páncreas en pollitos

	% Peso Corporal		Pico después de la eclosión
	Eclosión 1.2	Pico crecimiento	Días
Intestino Delgado	a 2.6	6.2 a 6.6	5 a 7
Páncreas	0.1 a 0.2	0.5 a 0.8	8 a 9

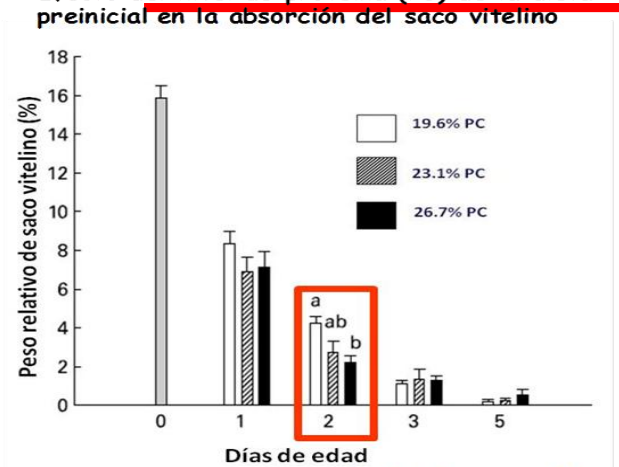
Importancia de formular dieta preinicial sin grasa

- Evitar la oxidación en el intestino
- Evitar esteatorrea
- Evitar la disminución del transito intestinal, que favorece el desarrollo de microorganismos prejudiciales al hospedero

Efecto de diferentes niveles de proteína cruda de la harina de soya en la digestibilidad de la energía y de la materia seca

Tratamientos	Energía	Materia Seca
	3 a 7 días	3 a 7 días
Harina Soya 44%	76.4 b	70.6 c
Harina de Soya 46%	76.7 b	72.1 b
Harina de Soya 48%	77.9 a	73.0 a

Efecto del nivel de proteína (PC) de la dieta preinicial en la absorción del saco vitelino



Adaptado de Everaert *et al* (2010)

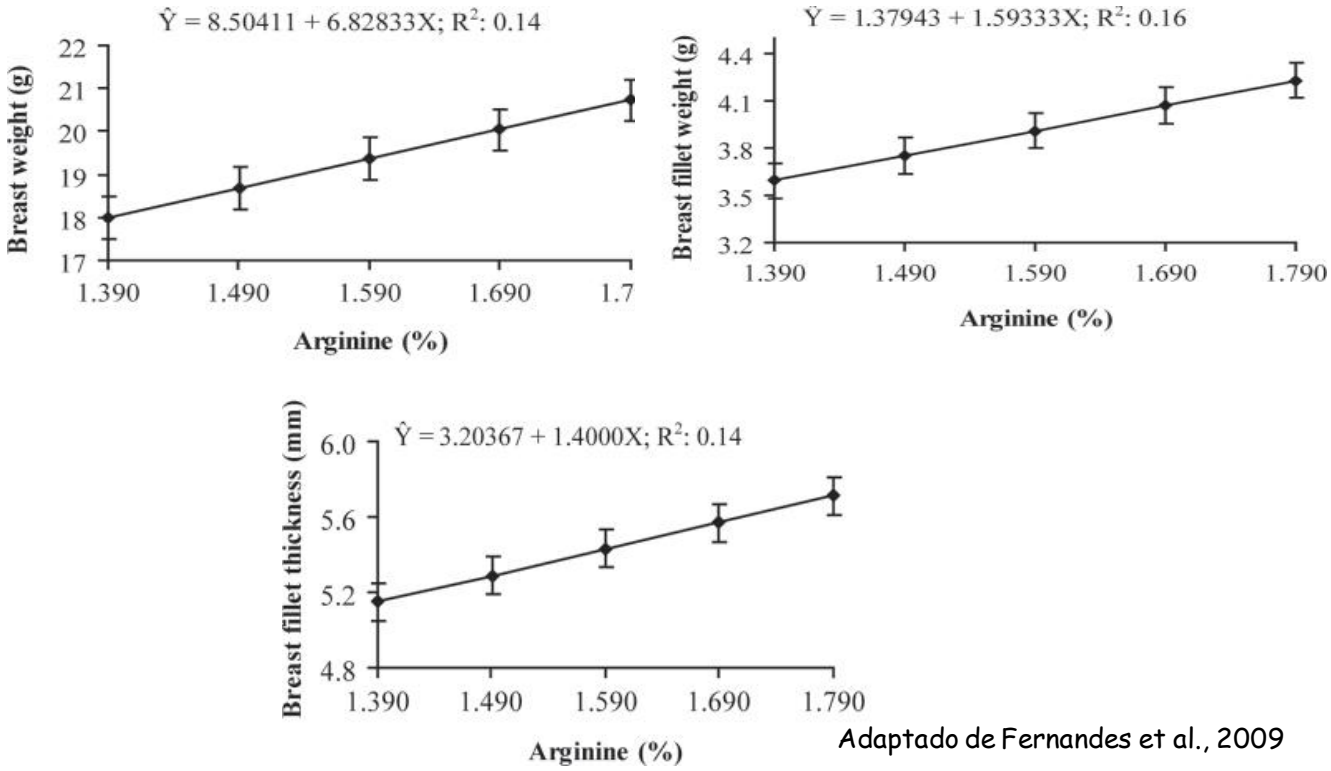
Efecto de la proteína y de los amino ácidos en el desempeño de pollos con 7 días de edad

Adaptado de Gerdes, Lenz y Robeiro, 2004

Tratamientos	CAlim	PC	GP	CA
		Efecto Proteína		
Alto – 25%	152 b	187 a	145 a	1.05 b
Medio – 23%	158 a	186 a	144 a	1.10 a
Bajo – 21%	153 b	180 b	138 b	1.11 a
		Efecto Amino Ácidos		
Medio (1.3/65/75)	156	185	143	1.10
Alto (1.3/63/70)	153	183	141	1.07
		Probabilidad		
Proteína (A)	0.010	0.000	0.000	0.001
Amino Ácidos (B)	0.047	0.341	0.169	0.006
Interacción A x B	0.037	0.774	0.929	0.057

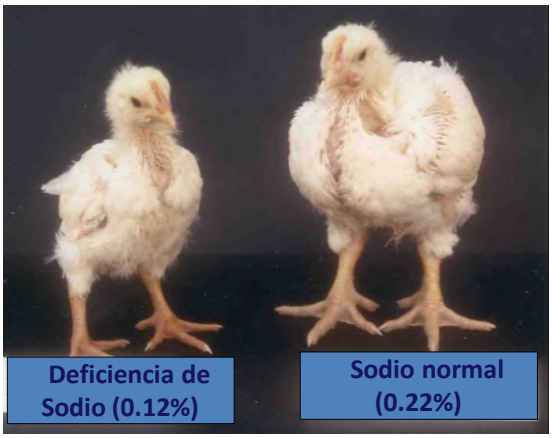
Nutron Alimentos Ltda, 2005

Efecto de la arginina en el peso de pechuga, peso y grosor del filete de pechuga a los 7 días de edad



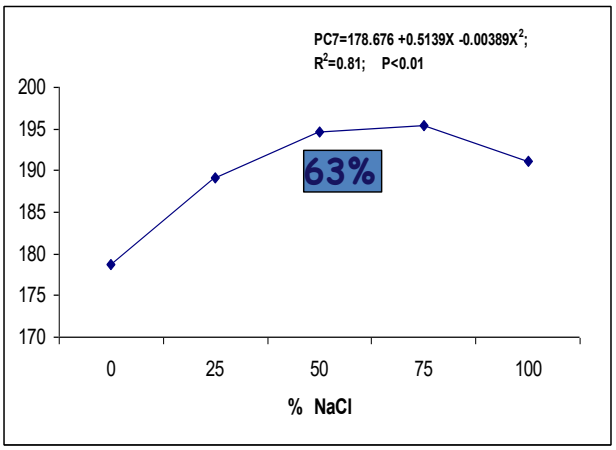
Adaptado de Fernandes et al., 2009

Baja absorción de glucosa y metionina en pollos después de la eclosión puede ser por falta de sodio. Este mineral forma parte del mecanismo de transporte de carbohidratos y amino ácidos (Stevens et al., 1984)

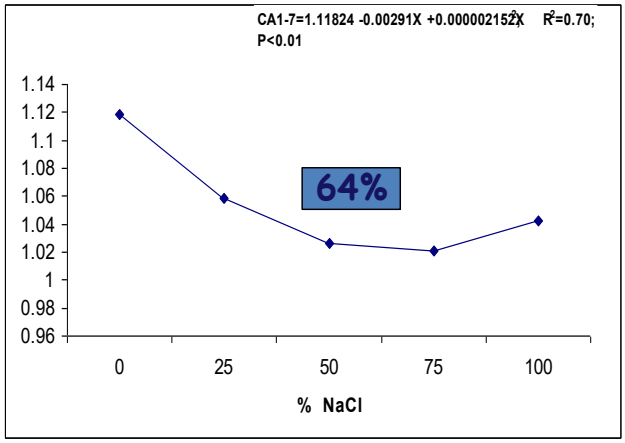


Efecto de cloruro de sodio y bicarbonato de sodio en el GP y CA de pollos con 7 días de edad (g)

Ganancia de Peso



Conversión Alimentícia



0.21% Na total

Nutron Alimentos Ltda, 2009

Pollos tienen una necesidad mínima de fibra durante la primera semana de vida.
La necesidad es:
> 3.5% FDN
> 1.5% FC

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS EN LAS PLANTAS DE ALIMENTO

Antônio Mário Penz Junior
Cargill Animal Nutrition
mpenz@provimila.com

Calidad de las materias primas es un factor que afecta resultados de producción y económicos.

Cuando compramos materias primas como Commodities...

Podemos no tener en consideración datos de calidad como:

- Humedad
- Proteína
- Grasa
- Calidad Física

….muchas veces tenemos en consideración como determinante

SU PRECIO!

Esto vale para países importadores o no?

Procedimientos que anteceden la compra de los ingredientes

Conocer los proveedores

Conocer los niveles nutricionales de la materia prima antes de emplearla

Tener un programa de recepción de materias primas con especificaciones claras.

Establecer padrones de especificación

nutron	Padrão de Especificação	PE-TEC-118	
		Rev. nº: 03	Pág.: 01/01
Título: 1030C - Milho Grão Produção Toledo / Chapecó		Elaborado: 24/04/01	Revisado: 08/11/01
Responsável: Assistente de Nutrição			

Matéria Prima:	X	Produto:	

Especificação: 1030C - Milho Produção Toledo/Chapecó

Aplicação: veículo da linha de núcleos

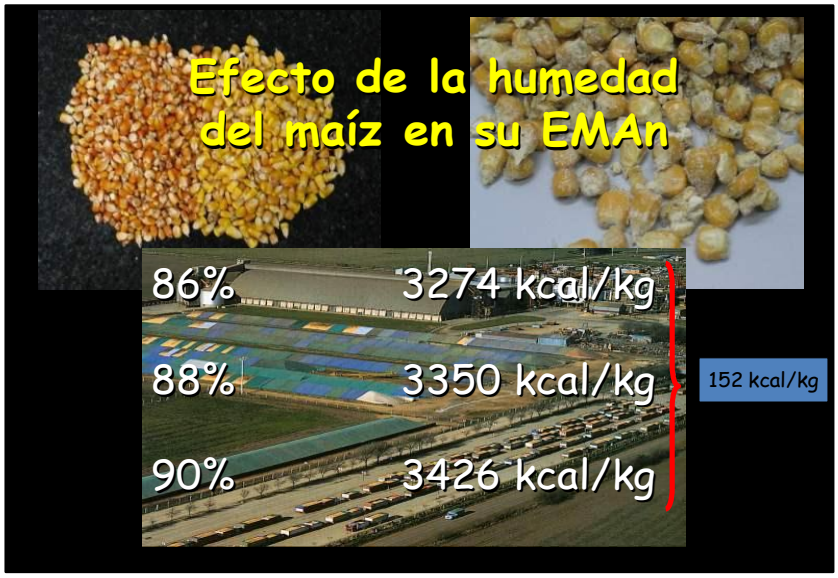
Parâmetros:	Valor	Variação analítica aceitável
Umidade (máx)	13%	5%
Gordura (máx)	4,0%	7,5%
Proteína	7,5 a 8,5%	6%
Amido	65,50%	5%
Classificação		
Impurezas (máx)	2%	-
Ardidos e brotados (máx)	2%	-
Quebrados (máx)	9%	-
Mofados (máx)	0%	-
Chochos e carunchados (máx)	1%	-
Densidade (min)	705 g/l	-
Características Microbiológicas		
Coliformes totais (máx)	10^2 nmp/g	-
Coliformes fecais (máx)	10 nmp/g	-
Salmonella	Ausente em 25 g	-
Aflatoxina	N detectado ou ≤ 15 ppb	-
Zearalenona	N detectado ou ≤ 100 ppb	-
Granulometria		
#12	2%	10%
#60	35%	7,5%
Fundo	65%	5%

Observações Recebimento/ Expedição:
(aspecto físico / manuseio / armazenagem / conservação / validade)

As análises de aflatoxina, umidade e densidade, assim como a classificação em uma amostra de 250 g, devem ser realizadas antes do descarregamento, decidindo-se sobre a aceitação ou retorno da carga.

Observações ao C. Qualidade.:

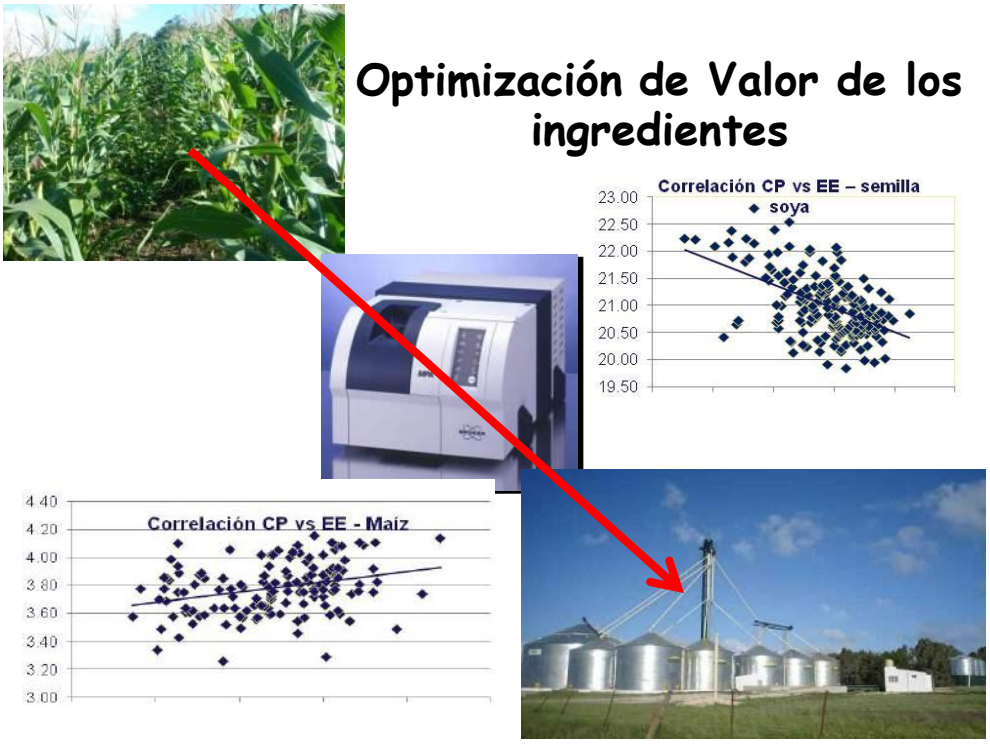
A amostragem para as análises realizadas no recebimento deve ser realizada em todas as cargas.



- ¿Cual es la mejor manera de monitorear la calidad de las materias primas?
- ¿Cuál es la frecuencia de análisis?
- ¿Cuáles los análisis que se deben hacer?

En el futuro, la mayoría de los ingredientes será analizada antes de que sean incluidos en las formulaciones.

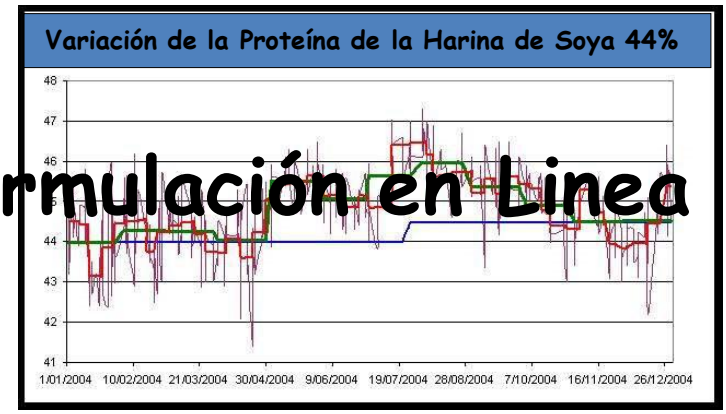
Para que esto pueda ocurrir deberá ser empleada la técnica de análisis por NIR (Dorr, 1992 y Fawcett et al., 1992)



Optimización de Valor de los ingredientes

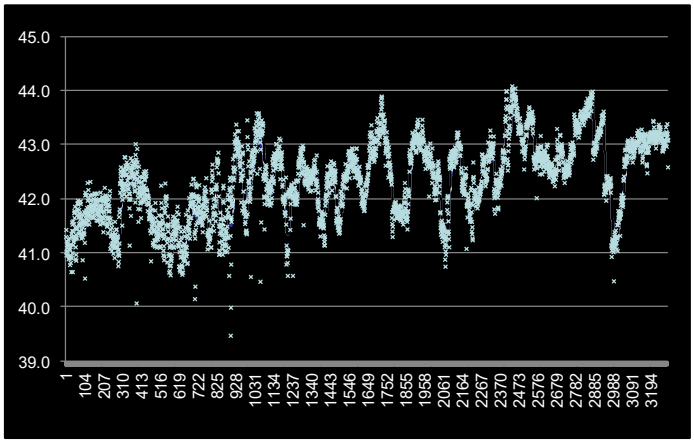
Tecnología que reduce costo

Prot		Formula /año)
Sepa produ		0,000
Sepa		000
Sepa unida		000
Sepa clase		000
Gana		0,000



Formulación en Linea

Media de PC de soya desactivada semiintegral analizada en línea



Procedimientos que anteceden la compra de ingredientes

- Conocer los proveedores
- Conocer los niveles nutricionales de la materia prima antes de emplearla.
- Tener volumen de materia prima para poder recusar una carga.

¿Será que el animal estará comiendo o que lo nutricionista formuló?

- ¿Como almacenar los ingredientes?
- ¿Como está la molienda?
- ¿Como está la contaminación?
- ¿Cual es la rutina de limpieza del sistema?

Esto solo tenemos con mantenimiento programado

Locales	Procedimientos
Silos	Frecuencia
Área de recepción	
Mezclador	
Transportadores	
Tanques de aceites	
Balanças	Metodología
Equipos de transportes internos	
Silos de expedición	Material empleado
Molinos y tamices	
Sala de operación	Responsable
Baños y vestuarios	
Oficinas	Monitoreo

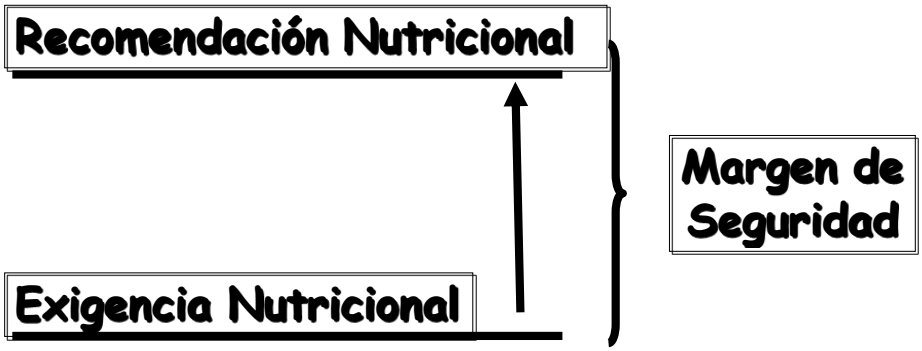
Comentarios

- En una cesta de naranjas, una que está podrida nunca será recuperada por aquellas que están buenas. Lo que ocurre es lo reverso. La podrida transforma las buenas en podridas.
- Comida 5 estrellas solo sale de cocina 5 estrellas.
- ¡Todavía, los más importantes mejoradores del desempeño son los macroingredientes!
- ¡Los dichos aditivos mejoradores de desempeño son importantes para ajustar la "respuesta fina"!

Mejoradores de desempeño no antibióticos

- Enzimas
- Antioxidantes
- Atrapantes
- Probióticos
- Prebióticos
- Óleos Esenciales
- Ácidos Orgánicos
- Osmoreguladores

¡No hay nutrición de precisión sin monitoreo eficiente de la calidad de las materias primas!



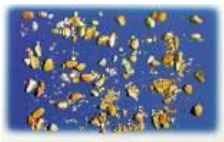
Maíz

Participación del maíz como proveedor de nutrientes en dietas de crecimiento de pollos de engorde

Nutrientes	Exigencias	Nutrientes provenientes del maíz	Porcentaje de nutrientes provenientes del maíz
EMA, kcal/kg	3150	2047	65
PC,%	19,8	4,68	24
Ca,%	0,90	0,018	2
P dispon,%	0,41	0,036	9
Lisina,%	1,04	0,144	14
Metionina + Cisteína	0,83	0,203	24

Clasificación del Maíz

Inmaturos



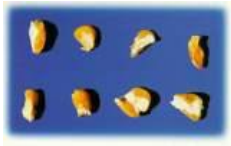
Fragmientos

Matérias estrañas

Germinados

Afectados por insectos

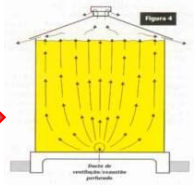
Afectados por hongos



Quebrados

Prelimpeza

Secado


Aireación

Mesas densimétricas

Análisis del Maíz - Mesa Densimétrica

		Maíz Malo	Maíz Normal	Maíz Bueno
Humedad	%	11.6	11.6	10.7
Proteína Cruda	%	9.1	8.0	8.4
Granos com hongos	%	6.1	5.4	1.0
Grãos germinados	%	0.3	0	0
Grãos sin desarollar	%	19.2	10.8	0.2
Grãos Quebrados	%	31.8	32.7	2.5
Inpurezas y Fragmientos	%	32.1	6.6	0.5
Densidad	%	612	705	783
Energia Cruta	kcal/kg	3924	3887	3907
EMAn	**kcal/kg**	**2135**	**3092**	**3483**

Efecto de la densidad en la AMEn (kcal/kg) del maíz

Densidad	AMEn	
(kg/m³)	Ensayo 1	Ensayo 2
	15 a 19 días	33 a 37 días
805	3308	3413
737	3121	3362
593	2937	3174

Adaptado de Silva et al., 2008.

Limpieza

Nutriente	Granos Enteros	Granos Quebrados
Proteína, %	8.1	8.1
Extracto Etéreo %	3.7 [a]	3.3 [b]
Fibras, %	1.7 [c]	2.3 [b]
Cinzas, %	1.3	1.2
EMVn (kcal/kg)	3439 [a]	3353 [b]

P<0,05 Adaptado de Dale, 1994

Análisis de micotoxinas

Densidad	Aflatoxinas (ppb)	Tricotecenos (ppb)
805	0	26
737	79	62
593	116	98

Análisis hechos en maíz quebrado de diferentes muestras
Adaptado de Silva et al., 2008

Clasificación Padrón Deseable

%	Deseable	Aceptable	Aceptable con restricciones
Humedad	13	14	14
% total de perdidas	7	12	16
Germinados	1	2	3
Quebrados	5	7	10
Con hongos	cero	cero	cero
Con insectos	<1	1	1
Fragmentos Impurezas y Materias Estranas	1	2	2
Densidad	>750	730 a 749	<730
Granos buenos	93	88	84

Efecto cumulativo y inmediato de la humedad del maíz en la EMAn de la dieta de pollos después de 21 días de edad

Humedad	EMAn (kcal/kg)	
%	Cumulativa	Inmediata
12	3605 a	3525 a
15	3217 ab	3484 a
18	2824 b	2788 b

Adaptado de Krabbe et al., 1995 EMA en la materia seca P<0.05

Efecto de los hongos en la EMAn de la dieta

Hongos	EMAn kcal/kg
Si	2599

Adaptado de Kraabe et al., 1997

Relación entre el humedad de los granos y porcentaje de grasa

	1 día		30 días		60 días	
	EE	Dens	EE	Dens	EE	Dens
	%	kg/m³		kg/m³		kg/m³
14%	5.6 a	810 a	5.2 a	804a	5.3a	810a
18%	5.6 a	810 a	4.5 b	723 b	4.0 b	715 b

Adaptado de Kraabe et al., 1995

No hay correlación entre mala calidad del maíz y el nivel de micotoxina.

¿Pero, como nutricionista.....

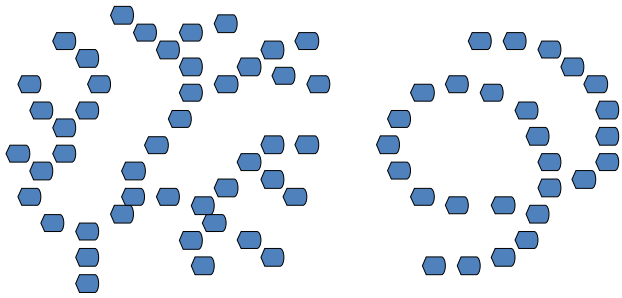
.....de que maíz estamos hablando?

¿De que maíz estamos hablando?

- Maíz con:
  - Almidón inmediatamente digerido
  - Almidón lentamente digerido

- Almidón
  - No es homogéneo. Su composición puede variar considerablemente.
  - La digestibilidad del almidón puede ser tan baja cuanto 75%.
  - Esta diferencia está por cuenta del tipo del almidón (resistencias).

- Maíz lentamente digerido (almidón resistente)
  - RS1 - No disponible físicamente - Xilanasa
  - RS2 - No disponible debido su estructura química - amilasa
  - RS3 - Almidón retrogrado – xilanasa, amilasa y proteasa



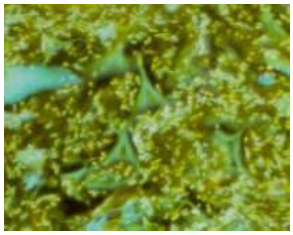
Amilopectina
Más prontamente digerido

Amilosa
Lentamente digerido

Nutrientes no digeridos contribuyen para el desarrollo microbiano

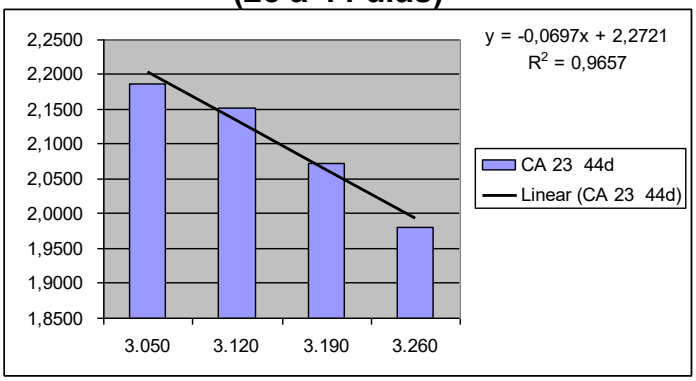
Nutrientes no digeridos (prieto/almidón)

Población microbiana (amarillo)



Adaptado de Bedford y Apajalahti, 2000

Conversión Alimenticia (23 a 44 días)



Nutron Alimentos, 2006

¿Como estimar la energía?

EMV (kcal/kg) = 3,205 + 53 EE

(Krabbe, 1996)

Harina de Soya

Polisacaridos No Amiláceos en la Harina de Soya

		Harina de Soya		
PNA		44%	46%	48%
FB	%	8.1	6.4	4.7
FDA	%	11.2	8.8	6.4
FDN	%	15.5	12.3	9.1

Adaptado de Fontanilla, 2007

Efecto de la calidad de la harina de soya en el desempeño de pollos de 1 a 21 días de edad

Trat	Cons (g)	GPeso (g)	CA (g/g)
Soya 44	1101	746 b	1.48 b
Soya 46	1104	756 b	1.46 ab
Soya 48	1135	794 a	1.43 a
Prob	0.05	0.005	0.003

Adaptado de Gerber, Penz y Ribeiro, 2004

Efecto de la calidad de la harina de soya en la digestibilidad de la energía y de la materia seca de la dieta

Trat	Energia		Matéria Seca	
	3 a 7 dias	28 a 35 dias	3 a 7 dias	28 a 35 dias
Soya 44	76,4 b	79,5 b	70,6 b	71,7 b
Soya 46	76,7 ab	81,0 a	72,1 a	73,8 a
Soya 48	77,9 a	80,8 a	73,0 a	73,3 a
P<	0,04	0,01	0,003	0,02
Reg	Não	Não	Não	Não

Adaptado de Gerber, Penz y Ribeiro, 2004

PNA aumentan la viscosidad cerca de los enterocitos perjudicando la difusión de substrato y de enzimas. También posibilitan un aumento en la multiplicación de microorganismos en el intestino delgado, a través de la disminución de la taja de pasaje (Schutte, 1997)

Control de calidad (subtostaje)

NÍVEL DE UREASA	
Ind. Americana	máximo 0.2 Δ pH
Europa	até 0.5 Δ pH
AOCS	de 0.02 a 0.2 Δ pH
Brasil	de 0.05 a 0.3 Δ pH

Nuestra recomendación - 0.01 y 0.05

Control de calidad (supertostaje)

SOLUBILIDAD PROTÉICA (solución 0.2% de KOH)	
ANFAR (1985)	80%
Araba e Dale (1990)	70% to 85%
Parsons et al. (1991)	menor 65% disminuye el desempeño pollos
Neto (1992)	75% a 80%

Nuestra recomendación – 75% a 80%

Valor nutricional de la harina de soya para pollos con diferentes concentraciones de galactósidos

	Energia metabolizable verdadera (kcal/kg)	Digestibilidad Lisina (%)
4,5% galactosidos	2.622	88,5
< 1% galactosidos	2.855	91,5

Adaptado de Korin, 1999

Soya Desactivada

Efecto de la soya desactivada en el desempeño de pollos

Tratamientos	1 a 21 días		1 a 35 días	
	GP (g)	CA (g/g)	GP (g)	CA (g/g)
Harina Soya	588	1.46	1404	1.86
Soya Desactivada	591	1.49	1441	1.84
Prob	NS	NS	NS	NS

Adaptado de Gauer y Penz, 1986

Efecto de la soya desactivada en el desempeño de pollos

Tratamientos	1 a 22 dias		1 a 49 dias	
	GP (g)	CA (g/g)	GP (g)	CA (g/g)
Harina Soya BE	591	1.57 a	2022 a	2.09 a
Harina Soya AE	628	1.47 c	2085 b	2.00 b
Soya Desactivada AE	620	1.53 b	2065 ab	2.00 b
Probab	NS	0.05	0.05	0.05

Adaptado de Gauer y Penz, 1986

Harina de Carne

Granulometría de la Harina de Carne x Energía Metabolizable

Granulometria (micra)	Nivel de Substituición		
	20%	40%	Média
590	2.370	1880	2.130 B
510	2.800	2490	2.650 A
420	2.620	2440	2.530 A
Média	2.600 a	2.270 b	

Adaptado de Brugalli, 1996. P<0,05

Nivel de peróxido x conversión alimentar (g/g)

días	Nível Peróxido (meq/kg)			
	0	2	4	7
21	1.86 a	1.90 ab	1.93 ab	2.10 b
42	1.97	1.99	1.99	2.08
49	2.10	2.11	2.11	2.19

Adaptado de Cabel et al., 1988 P<0,05

Formulación con AAT y AAD (dos tipos de harinas de carne)

Tratamientos	Ef. Alimentar (g/g)	
	AAT	AAD
Maíz/Soya	0.69	
10% FC mala	0.64	0.67
20% FC mala	0.60	0.64
10% FC buena	0.66	0.69
20% FC buena	0.65	0.68

Adaptado de Parsons, 1999

DDGS

Coloración

Planta Moderna

Alta calidad
Mayor digestibilidad

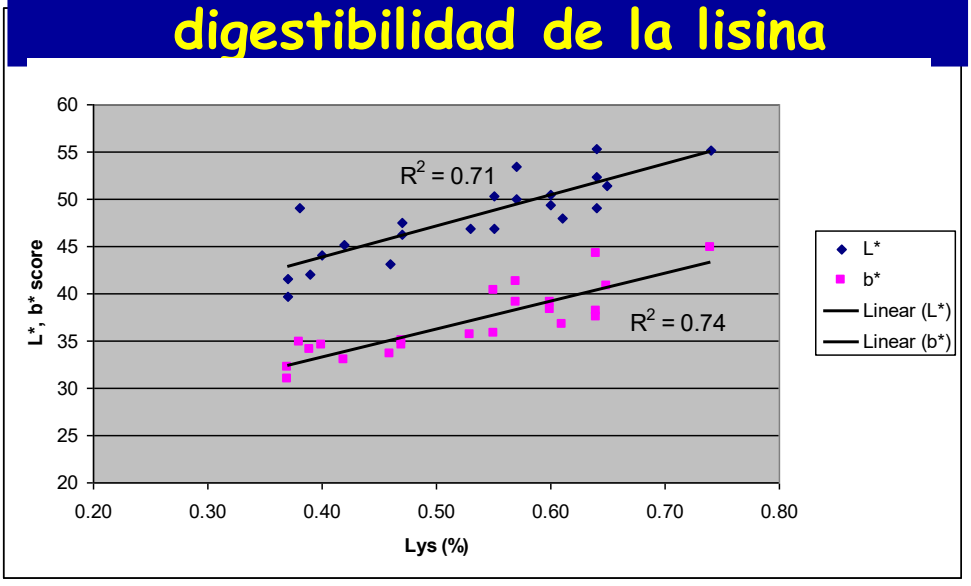
Planta Antigua

Baja calidad
Menor digestibilidad

EMA de DDGS (golden corn)

NRC, 1994	2480 kcal/kg
Noll y Parsons, 2003	2260 kcal/kg
	(2090 a 2418)
	16%

Efecto de la color en la digestibilidad de la lisina



La tecnología NIR puede ser importante para la evaluación inmediata de la calidad del DDGS para energía y amino ácidos. Claro que la calidad de la análisis dependerá de la calidad de la ecuación de predicción (Shurson, 2002)

Ocurrencia de micotoxinas en DDGS

	Afla B1	Zeara	DON	Fumo	T-2
No muestras	103	103	103	103	103
% Positivo	8	92	64	87	26
Media (ppb)	24	336	2130	1125	113
Máximo (ppb)	89	8107	12000	9042	218

Adaptado de Hofstetter et al., 2008

Glicerol

Resultados de Análisis Glicerol

Análisis		Mínimo	Máximo
Humedad	%	6.0	46.8
Cenizas	%	5.7	8.3
Fósforo	%	0.135	1.25
Índice de acidez	mgKOH/g	18.2	124.0
pH		7.3	11.0
Sodio	%	1.71	3.6

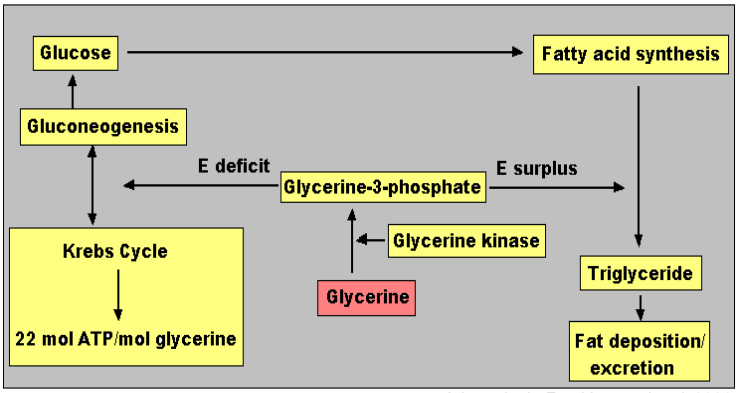
Efecto del glicerol en el desempeño de pollos de 1 á 42 días de edad

	0 %	5 %	10 %
Peso Corporal (g)	2871 a	2879 a	2706 b
Conversión	1.73	1.71	1.78

Efecto de la inclusión del glicerol en la excreción de agua

El alto porcentual de glicerol influye en la calidad del pelete, aumenta la humedad de las excretas y puede aumentar el contenido de potasio en la dieta (Cerrate *et al.,* 2006)

Metabolismo del Glicerol



Adaptado de Feed International, 2006

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

EVALUATION OF BACILLUS-VECTORED FLAGELLIN EPITOPES IMMUNOGENIC PROPERTIES IN BROILER CHICKS

A.D. Wolfenden, C. Kremer, N.R. Pumford, L.R. Berghman, G. Tellez, B.M. Hargis*
University of Arkansas, Fayetteville, AR USA 72701

Toll-like Receptors

- Play an important role in innate immunity
- Pattern recognition receptor that can distinguish between self molecules and possible pathogen
- PAMPs
- DAMPs
- Highly conserved and recognize highly conserved sequences on the pathogen

Toll-like Receptor 5 and Flagellin

- TLR 5
- Highly conserved
- Recognizes flagellin monomers from bacteria
- Flagellin
- Protein monomer comprising the filament of bacterial flagella
- Found on most motile bacteria
- Highly conserved regions among all bacteria

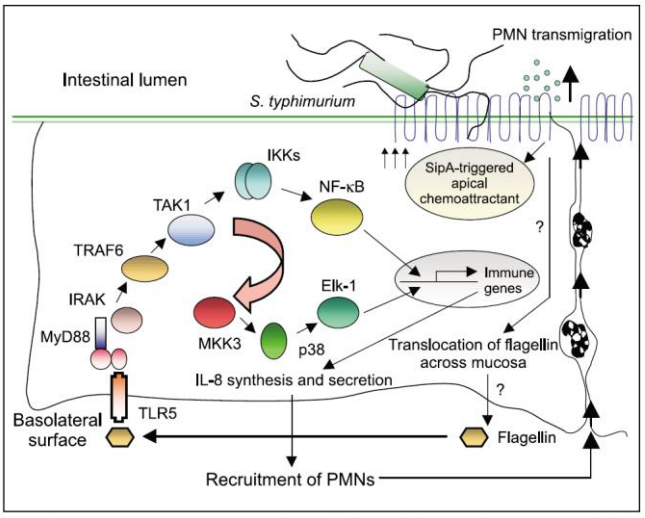


Fig. 1. A diagrammatic representation of some of the putative cellular signal transduction mechanisms of the action of flagellin in intestinal epithelial cells. The translocation of flagellin in the intestinal cells is poorly understood. The consensus is that flagellin binds TLR5 to activate IKK-dependent and -independent pathways to activate nuclear factor-κB and p38 kinase required for induction of inflammatory genes that include interleukin-8 (IL-8). IL-8 mediates a number of important processes that includes PMN (polymorphonuclear cell) transmigration.

Liaudet, *et. al,* 2002

Conserved Epitopes

- Smith, et. al.
  - Elucidated the bioactive domain of flagellin
- Highly conserved regions from predicted bioactive binding domain of flagellin from ST, SE, and CS were inserted into Bacillus subtillus vector

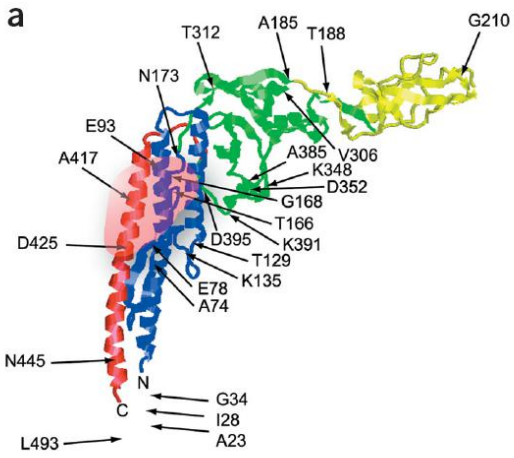


Figure 2 TLR5 recognizes discrete site in the D1 domain. (**a**) Position on the flagellin structure of the insertions tested; red shading indicates the cluster of insertions that abrogate TLR5 recognition. (**b**) Immunoblot for flagellin demonstrates similar amounts of *S. typhimurium* FliC flagellin for the control (wild-type; WT) and insertion mutants. (**c**) Insertion mutants were tested as described in **Figure 1** with CHO cells expressing human TLR5; data are representative of at least three independent experiments. Key indicates the amount of sonicated bacterial cells used to stimulate approximately 1×10^5 CHO cells in a volume of 200 μl.

Smith, et. al., 2003

Vector Construction

Objective and Hypothesis

- To use a Bacillus subtilis vaccine vector to create a vaccine against flagellin by inserting selected conserved flagellin epitopes from Salmonella Enteritidis (SE), Salmonella Typhimurium (ST), and Clostridium septicum (CS)
- These Bacillus vectored vaccine will induce a robust acquired immune responses against these selected epitopes in broiler chicks

Experimental Groups

- Group 1- Negative Control
- Group 2- SE/ST/CS HMGB1 @ 106 (live)
- Group 3- SE/ST/CS @ 106 (live)
- Group 4- ST MMCS @ 106 (live)
- Group 5- SE/ST/CS HMGB1 @ 106 inactivated by formalin (killed)
- Group 6- SE/ST/CS HMGB1 @ 106 inactivated by formalin (killed) + chitosan (0.5%)

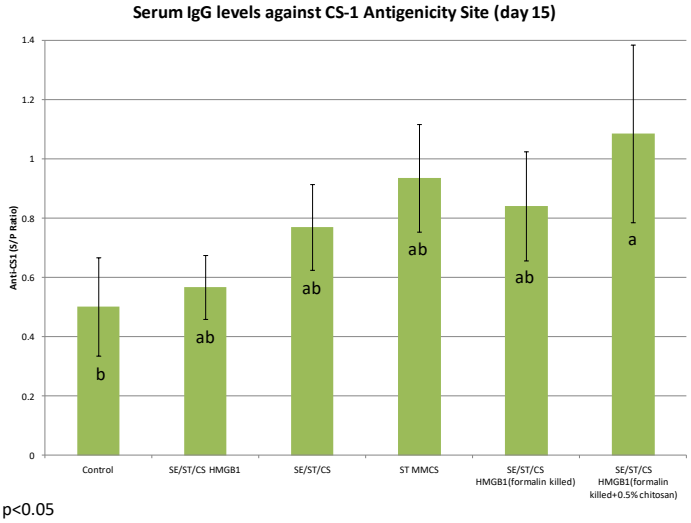
Bacillus-vectored Vaccine

- Cell surface expression of epitopes and immunostimulatory molecules.
    - Group 1: Control
    - Group 2, 5, 6: Predicted sequences of antigenicity from the ST, SE and CS sequences plus HMGB1 (immunostimulitory epitope)
    - Group 3: Full predicted TLR5 binding domain sequences from ST, SE and CS
    - Group 4: Full predicted TLR5 binding domain of ST with serine metalloprotease cleavage site (RGKR)

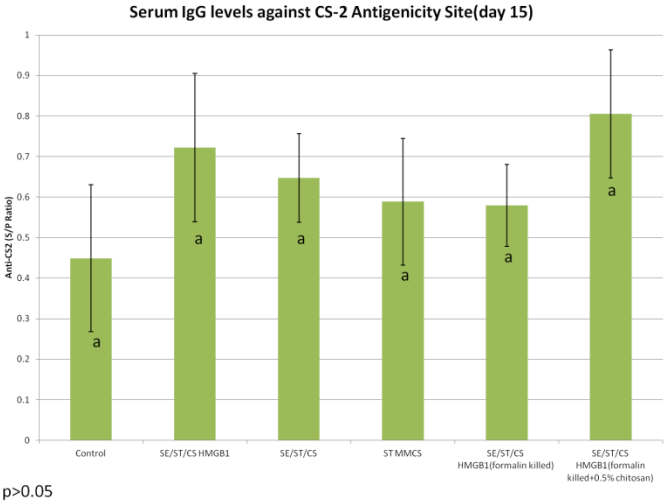
Experimental Design

- Vaccinated at day-of-hatch
- Sampled ileum/ceca at 18 and 24hr post-vaccination
- Blood samples were obtained at 15 days

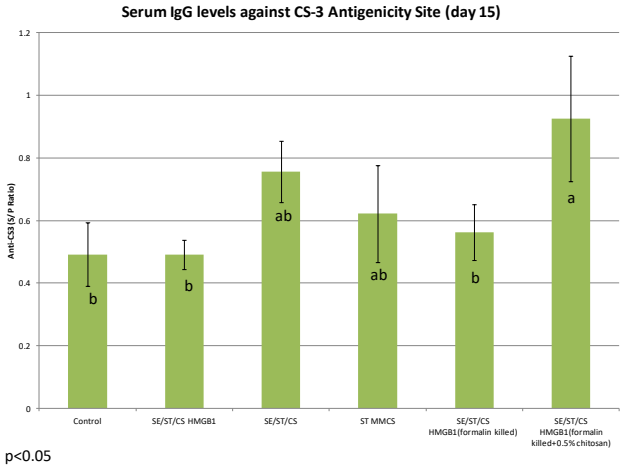
- ELISA antibody response to selected epitopes



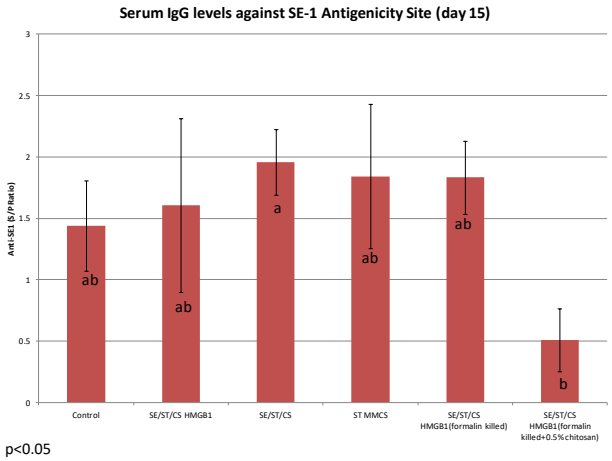
p<0.05



p>0.05

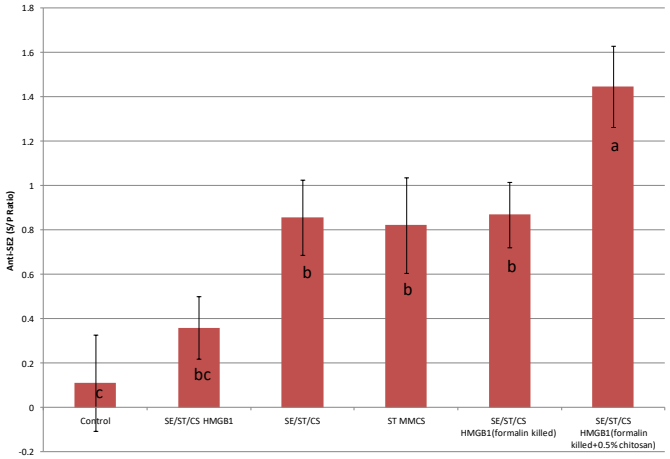


p<0.05



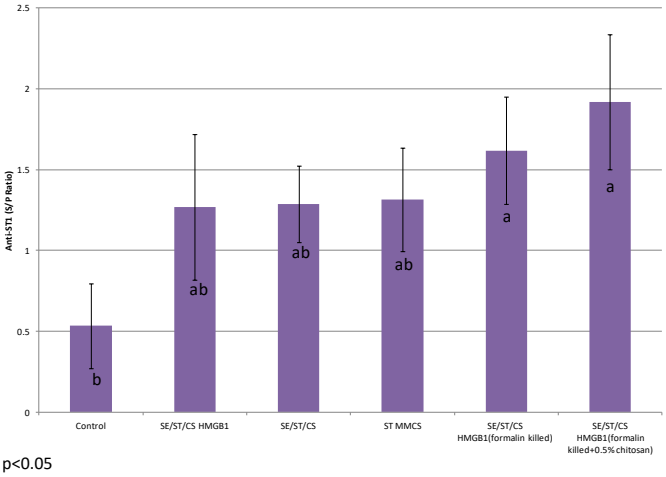
p<0.05

Serum IgG levels against SE-2 Antigenicity Site (day 15)



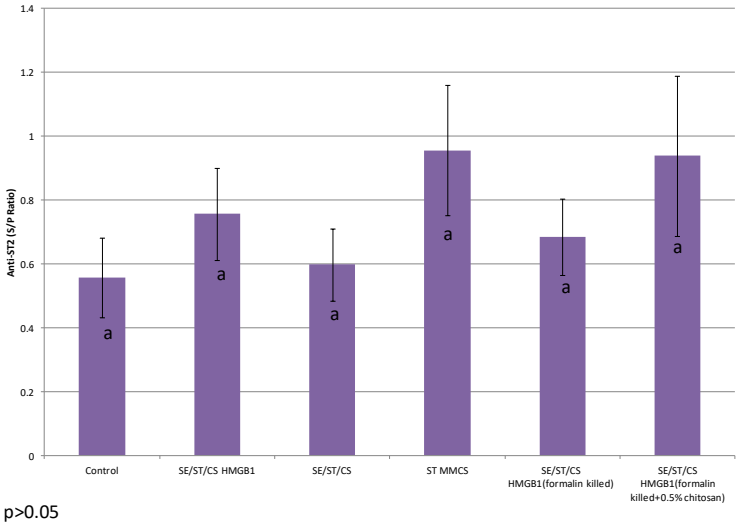
p<0.05

Serum IgG levels against ST-1 Antigenicity Site (day 15)

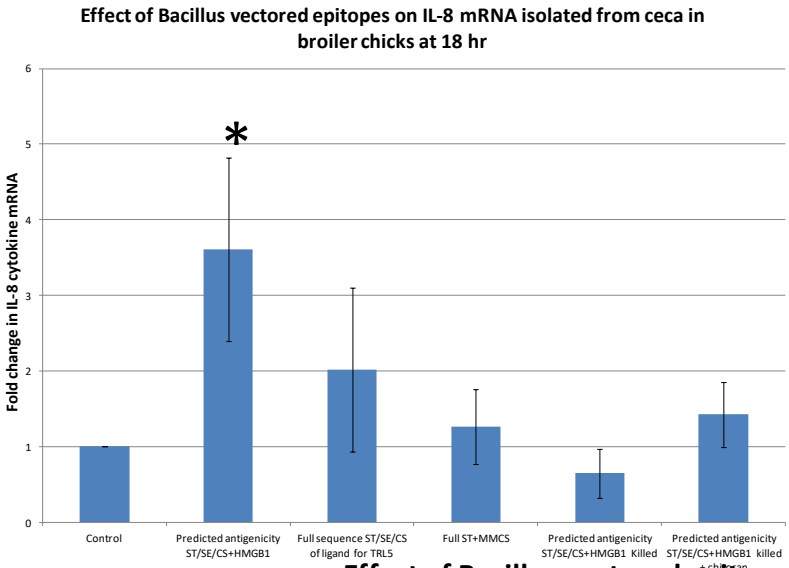


p<0.05

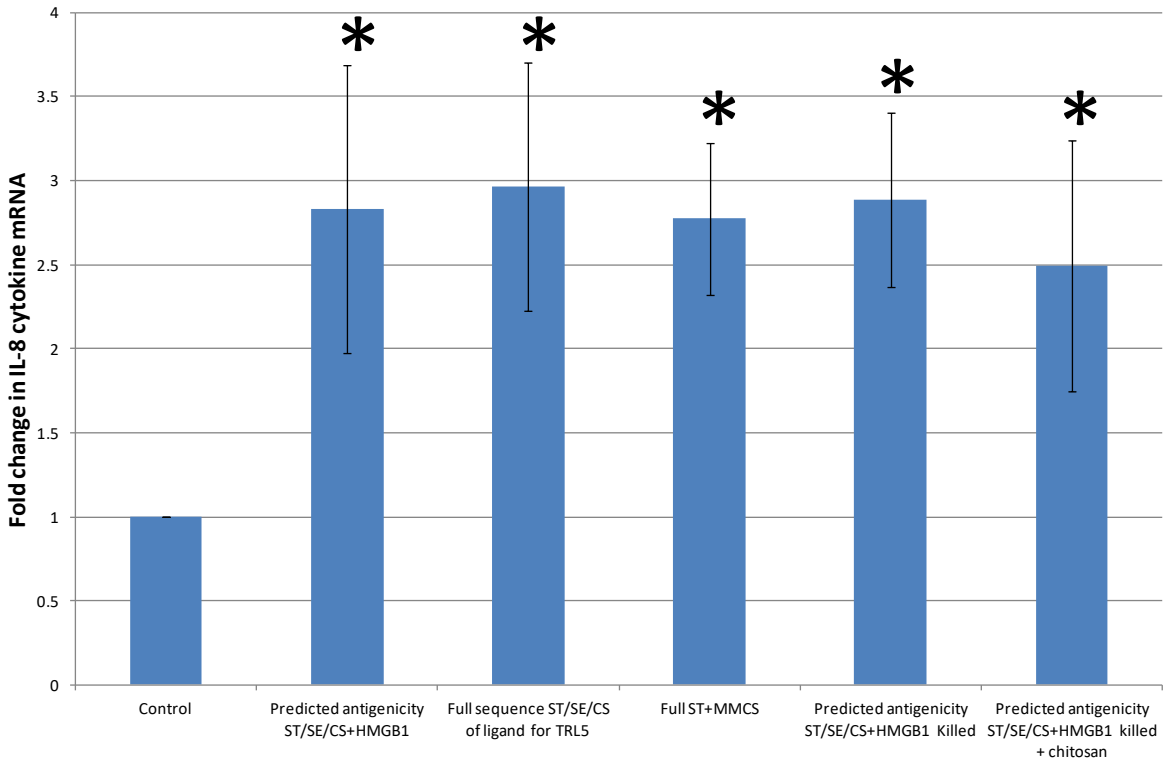
Serum IgG levels against ST-2 Antigenicity Site (day 15)



p>0.05


Effect of Bacillus vectored epitopes on IL-8 mRNA isolated from ceca in broiler chicks at 18 hr
Fold change in IL-8 cytokine mRNA
0
1
2
3
4
5
6
*
Control
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1
Full sequence ST/SE/CS of ligand for TRL5
Full ST+MMCS
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1 Killed
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1 killed + chitosan

p<0.05


Effect of Bacillus vectored epitopes on IL-8 mRNA isolated from ceca in broiler chicks at 72 hr
Fold change in IL-8 cytokine mRNA
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
*
*
*
*
*
Control
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1
Full sequence ST/SE/CS of ligand for TRL5
Full ST+MMCS
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1 Killed
Predicted antigenicity ST/SE/CS+HMGB1 killed + chitosan

p<0.05

Conclusions and Future Research

- These Bacillus vectored vaccine candidates can elicit simultaneous immune responses to multiple vectored epitopes
- Use of chitosan as an adjuvant can improve immune response to these killed Bacillus vectored vaccines
- These data show an increase in IL8 expression in the ceca suggesting TLR5 was activated by at least on of the constructs at 18hr post-vaccination and all constructs by the 72hr time point.
- Further work
- Characterize both the innate and acquired immune response to these vectors
- Salmonella challenge studies
- Further optimization of selected epitopes

Regresar a lista de contenidos

SALMONELOSE AVIÁRIA

Raphael Lucio Andreatti Filho
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ
Universidade Estadual Paulista – UNESP. São Paulo – Brasil
andreatti@fmvz.unesp.br

INTRODUÇÃO

O termo salmonelose aviária designa os vários grupos de doenças das aves determinados por qualquer membro do gênero Salmonella. Porém, somente a *Salmonella pullorum* – responsável pela pulorose e, a *Salmonella gallinarum* – responsável pelo tifo aviário, determinam doenças clínicas características que podem acarretar enormes prejuízos à avicultura mundial, estando classificados como sorovares hospedeiro-específicos das aves e com peculiaridade comum de ausência de motilidade. Os demais sorovares de Salmonella com potencial para determinar problemas às aves ou mesmo apenas colonizá-las estão agrupados como paratifo aviário ou também, infecção paratifóide, cuja característica comum é a motilidade destes sorovares. Pulorose e tifo aviário são doenças já erradicadas em muitos países. Na América Latina, principalmente nas três últimas décadas e, sob controle aparente, ocorreram alguns surtos ou isolamentos em reprodutoras e principalmente em poedeiras comerciais vermelhas. Diferentemente dos sorovares Pullorum e Gallinarum que se encontram erradicados ou sob estrito controle na maioria dos países de avicultura desenvolvida, os demais estão presentes e ocorrem em todo o tipo de criação de aves em todo o mundo. Entre os diversos sorovares isolados de aves, apresentando ou não sinais da doença, o Enteritidis, principalmente nas duas

últimas décadas, seguido pelo Typhimurium, assim como Agona, Anatum, Cubana, Hadar, Heidelberg, Mbandaka, Montevideo e Senftenberg, entre outros, foram identificados.

Quadros entéricos determinados por sorovares do grupo paratifóide são relativamente comuns, enquanto formas agudas tendem a se manifestar somente em aves jovens ou adultas sob condições estressantes como a presença de outra doença e dieta e/ou manejo inadequados. Em geral, os sorovares pertencentes ao grupo paratifóide colonizam o trato intestinal, sem determinar qualquer sintomatologia, uma vez que não são específicos de aves, mas com adaptação suficiente para persistir no intestino destas, possibilitando a eventual contaminação das carcaças e ovos.

Os produtos de origem avícola, juntamente com os lácteos, são comumente implicados com surtos de salmonelose em humanos. E é este aspecto que vem maximizando a importância dos sorovares paratifóides, especialmente Enteritidis, no contexto amplo da avicultura industrial, pois enquanto Pullorum e Gallinarum determinam sérios prejuízos à produção avícola e não se relacionam com a doença em humanos, os paratifóides contrapõem estas características, sendo responsáveis por graves doenças gastrointestinais em humanos. Alguns destes sorovares, intrinsecamente adaptados as aves, podem, a partir do trato gastrointestinal, invadir a corrente sangüínea e atingir órgãos como fígado, coração e ovário, proporcionando a transmissão transovariana e possibilitando amplas condições para a contaminação das carcaças, facilitada durante o processamento industrial destas, bem como a contaminação dos ovos, impulsionada pelo manuseio inadequado destes e condições não apropriadas de armazenamento.

O gênero Salmonella apresenta esta denominação em homenagem ao veterinário e bacteriologista Daniel E. Salmon. São conhecidos mais de 2.500 sorovares, capazes de infectar além do homem, uma extensa lista de animais de sangue quente e frio. A sorotipagem de Salmonella spp. baseia-se na identificação dos antígenos somáticos (O), capsular (Vi) e flagelares (H). Os antígenos somáticos são representados através de números arábicos, enquanto os flagelares são designados através de letras minúsculas do alfabeto e por números arábicos, sendo estes últimos portadores de duas fases, denominadas 1 e 2. Este esquema de classificação, desenvolvido por Kauffmann-White, permite praticidade na identificação dos milhares de sorovares diferentes de Salmonella conhecidos atualmente. O sistema de classificação e nomenclatura do gênero Salmonella vem, ao longo do tempo, sendo modificado para melhor atender e corresponder ao ecossistema destas bactérias. Recentemente, o Centro de Referência e Pesquisa de Salmonella, sugeriu que o gênero Salmonella seja classificado em apenas duas espécies, ou seja, Salmonella enterica, isolada mais comumente do homem e de animais de sangue quente e S. bongori, isolada usualmente de animais de sangue frio. A espécie enterica ficou dividida em seis subespécies: enterica, salamae, arizonae, diarizonae,

houtenae e indica. Na subespécie enterica, estariam enquadrados os principais sorovares paratifóides, em especial, Enteritidis e Typhimurium. Assim sendo, os sorovares receberiam a grafia de Salmonella enterica subsp. enterica sorovar Enteritidis ou Typhimurium. A denominação dos sorovares foi, no princípio, baseada nas espécies de animais afetados, como exemplo a S. Abortus-ovis no aborto de ovinos ou S. Typhimurium de epidemia em ratos. Entretanto, atualmente, denominam-se os novos sorovares baseando-se na origem geográfica de onde estes foram primariamente isolados, como exemplo S. California, S. Nigeria ou S. Miami ou relacionados com alguma peculiaridade envolvendo o isolamento. Algumas subespécies são designadas também pela sua fórmula antigênica.

A salmonelose aviária ganhou nova roupagem nos últimos anos, pois enquanto no passado atuava-se basicamente no controle das perdas determinadas pela pulorose e tifo aviário nos plantéis avícolas, hoje o enfoque maior está voltado à saúde pública, posicionando a salmonelose como a doença bacteriana de maior impacto econômico na avicultura brasileira e mundial. A responsabilidade por esta nova faceta da doença é devido ao paratifo aviário, uma vez que os sorovares envolvidos com característica de ubiqüitariedade, associada às inúmeras possibilidades de contaminação e transmissão dentro dos plantéis avícolas, proporcionadas pelo próprio sistema de produção, facilitaram a sucessão de fatos envolvendo esta doença que ora ocorre.

PULOROSE.

A Pulorose é uma enfermidade que pode acometer as aves em qualquer idade, provoca alta mortalidade e a transmissão vertical é a sua principal via de disseminação. Inicialmente, a enfermidade causada por Salmonella Pullorum foi chamada de septicemia fatal dos pintos, depois diarréia branca e posteriormente diarréia branca bacilar, para distinguí-la de outras enfermidades denotadas como diarréia branca. Essas denominações expressavam o quadro apresentado pela enfermidade. O termo Pulorose foi usado no final dos anos 20, para diferenciá-la do Tifo Aviário. A sua história se confunde com o desenvolvimento da avicultura industrial. O início da incubação artificial foi atrapalhado pela ocorrência desta enfermidade, que prejudicava a incubação, provocava alta mortalidade entre os pintainhos e muita refugagem. Através do processo de incubação artificial de ovos de aves diferentes, o agente da Pulorose foi sendo transferido para outras aves de interesse econômico. Para viabilizar a incubação artificial, em escala industrial, foi preciso buscar métodos de controle da Pulorose. No começo dos anos 30, a enfermidade estava espalhada por todo o Estados Unidos e outros países. A mortalidade era expressiva entre as aves. Já na primeira década do século 20, constatou-se a importância da transmissão vertical do seu agente. A seguir, constatou-se a persistência da bactéria em aves sobreviventes. O desenvolvimento do teste de aglutinação em tubos para detectar portadores deu início ao sucesso na prevenção da Pulorose.

Nos anos 30, o contato de galinhas infectadas com perus, a incubação conjunta de ovos e a criação mista destas aves, provocaram o surgimento da Pulorose em perus. A enfermidade mostrou-se severa, acarretando perdas enormes.

Entre várias medidas de prevenção, baseadas em higiene e limpeza, a mais importante foi o desenvolvimento, na década de 20, de uma prova sorológica, de aglutinação, que permitia identificar aves portadoras. Com a melhoria deste teste de aglutinação, o qual foi adaptado em 1932, para ser realizado em placa e com sangue total, foi possível aplicá-lo em larga escala. Desse modo, o teste tornou-se prático, podendo ser aplicado na granja e possibilitando estabelecer um plano de controle da Pulorose. Este teste é realizado até hoje com bastante sucesso em granjas de aves reprodutoras. Quando realizado em 100% do plantel, no início da vida reprodutiva, atinge sucesso praticamente total. De um modo geral, é preciso estar atento a esta patologia em criações de aves em que se utiliza a incubação artificial, como galinhas, perus e codornas.

DISTRIBUIÇÃO E OCORRÊNCIA.

Os conhecimentos a respeito da Pulorose começaram a surgir nos Estados Unidos da América. Posteriormente, relatos de sua ocorrência apareceram em muitos outros países, incluindo o Brasil. Apesar da doença estar sob controle em vários países *S. pullorum* ainda encontra-se presente em aviários nos países que exportam aves avós, como por exemplo os Estados Unidos, sugerindo que a via vertical tenha favorecido a disseminação de *Salmonella pullorum.*

ETIOLOGIA.

O gênero Salmonella pertence à família Enterobacteriaceae. São bacilos não esporulados, que possuem flagelos na sua maioria, Gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, fermentam a glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos. Estas reações bioquímicas são importantes para a caracterização do gênero e diferenciação de alguns biotipos. A *Salmonella pullorum* e a *S. Gallinarum* estão entre os poucos que não possuem flagelos, sendo imóveis.

As seguintes substâncias são fermentadas com ou sem a produção de gás: arabinose, glicose, galactose, levulose, manitol, manose, ramnose e xilose. Não são fermentadas: adonitol, dextrina, dulcitol, eritrol, glicerol, inositol, inulina, lactose, rafinose, sacarose, salicina, sorbitol e amido. Poderá ocorrer variação de comportamento entre os sorotipos. Lisina e ornitina são descarboxiladas. As salmonelas produzem H2S, mas os biotipos Pullorum e Gallinarum o fazem lentamente e reduzem nitratos.

São microrganismos com variável resistência a substâncias químicas e são mortos pelo calor a 55°C por 1 hora ou a 60°C durante 15 a 20 minutos. Crescem em caldo nutriente simples e nos

meios seletivos, caldo ou ágar para enterobactérias. Entre estes meios, estão o caldo selenito e o caldo tetrationato e suas modificações. Para plaqueamento, têm-se os meios em ágar: verde brilhante, MacConkey, Salmonella-Shiguella (SS), Sulfito de bismuto e outros. O crescimento de *S. pullorum* é lento e as colônias são pequenas em relação às salmonelas paratíficas, apresentado diâmetro entre 1 a 4mm.

A diferenciação entre *S. pullorum* e *S. gallinarum* pode ser feita através de reações bioquímicas. Ambos os microrganismos fermentam arabinose, glicose, galactose, manitol, ramnose, manitol e xilose, produzindo ácido com ou sem gás. Não assimilam lactose, sacarose e salicina. A *S. gallinarum* fermenta dulcitol enquanto a *S. pullorum* não. Outra prova importante, seria a descarboxilação da ornitina por *S. pullorum* e não por *S. gallinarum*. Contudo, recentemente, uma cepa atípica de *S. gallinarum* apresentou descarboxilação da ornitina.

Salmonella pullorum pertence ao grupo D, contendo os antígenos somáticos 1, 9 e 12 e não contém antígenos flagelares. O antígeno 12 apresenta variações (121, 122, 123). As cepas padrões contêm grande quantidade de antígeno 123 e muito pouca do 122 e são as melhores para o preparo de antígenos para o teste de Pulorose em placa.

PATOGENICIDADE.

Durante a infecção sistêmica a maioria das Salmonella estão associadas a macrófagos e fagócitos polimorfonucleares e a habilidade para crescer dentro destas células é um pré-requisito para manifestação de sua virulência.

A relação entre *S. pullorum* e o hospedeiro não esta completamente entendida, uma das particularidades da infecção por S. Pullorum é que a bactéria persiste por longos períodos em aves convalescentes na ausência de doença clínica, podendo levar à colonização do trato reprodutor das aves, que na maturidade sexual resultará na infecção da progênie por meio da transmissão transovariana. *S. pullorum* é capaz de persistir no sistema retículo endotelial da ave por semanas e até meses e, apresentar alta taxa de mortalidade entre aves jovens.

HOSPEDEIROS.

Galinhas são os hospedeiros naturais de *S. pullorum*. No entanto, outras aves já foram citadas como sendo acometidas pela Pulorose. Entre elas estão perus, pássaros como pardal e canário, faisão, codornas e papagaios. A susceptibilidade de palmípedes e pombos é variável, mas estes animais parecem resistentes a este patógeno.

IDADE DE OCORRÊNCIA.

As aves são mais susceptíveis no início da vida. A doença geralmente ocorre entre a segunda e terceira semana de vida. Neste período a mortalidade pode ser alta. Não é comum observar

a doença em aves adultas, mas ela ocorre. Aves jovens que sobrevivem à doença podem se tornar portadoras, crescerem dentro dos parâmetros zootécnicos esperados e produzir ovos contaminados.

TRANSMISSÃO.

A transmissão pode ocorrer por várias vias. A mais importante é a transovariana, proveniente do sistema reprodutor. Experimentalmente, observou-se que aves portadoras de *S. pullorum* disseminam a bactéria através de ovos durante todo o período de vida útil. As aves podem se contaminar pelo contato com aves infectadas, ainda durante o nascimento. O programa de desinfecção utilizado no incubatório não consegue deter a transmissão transovariana. O agente da Pulorose pode ser eliminado pelas fezes de aves doentes. A disseminação pode ocorrer através de alimentos, água e cama contaminados. De forma mecânica, as pessoas que visitam ou que trabalham em granja, aves silvestres, animais de estimação e silvestres e moscas podem ser considerados disseminadores de Salmonella. O uso de antimicrobianos, nos primeiros dias de vida, pode mascarar o quadro da doença neste período e favorecer o estado de portador.

SINAIS CLÍNICOS.

A Pulorose é considerada uma doença de animais jovens, nos primeiros dias de vida e resulta de transmissão transovariana. Mesmo quando a doença é sub-clínica, ela se origina de transmissão através dos ovos. Aves mortas ou moribundas podem ser observadas no incubatório ou logo após o nascimento. As aves apresentam depressão, asas caídas, sonolência, fraqueza, perda de apetite, retardo no crescimento, amontoamento, penugens ao redor da cloaca suja de fezes de coloração branca, conseqüência de diarréia branca a branco-amarelada e a morte vêm a seguir.

Em alguns casos, não se observa mortalidade antes dos cinco a dez dias após o nascimento. O pico de mortalidade acontece durante a segunda e terceira semanas de vida. Nestas circunstâncias, as aves mostram cansaço, amontoam-se ao redor da fonte de aquecimento, ficam com as penas arrepiadas, asas caídas e aspecto ruim. O acometimento dos pulmões torna difícil a respiração. As aves sobreviventes podem apresentar empenamento ruim e retardo de crescimento. Os animais que passaram pela enfermidade podem apresentar desenvolvimento abaixo dos padrões considerados normais. Muitas das aves sobreviventes conseguem se recuperar. Parte das aves que se recuperam serão portadoras e eliminarão a bactéria em seus ovos durante o período de postura. Cegueira e claudicação, devido inflamação das articulações tíbio-társica e húmero-radial e sinovites são sintomas menos freqüentes já observados.

Os sintomas em aves adultas nem sempre são evidentes, tornando difícil a suspeita desta doença. As aves acometidas podem apresentar postura abaixo da curva para a linhagem. Quando são poucas as aves acometidas torna-se difícil a suspeita clínica. Surtos em aves adultas iniciam-se com queda no consumo de ração, penas arrepiadas, crista pálida e retraída. A infecção por *S. pullorum* provoca queda de postura, diminuição na fertilidade e na eclodibilidade. Os animais poderão apresentar diarréia branco-amarelada a amarelo-esverdeada, depressão e desidratação.

A mortalidade e a morbidade são muito variáveis, dependem do número de animais acometidos, podendo ser elevadas. A doença é mais severa entre aves recém nascidas e é nesta fase que a mortalidade seria acentuada.

ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS.

Aves jovens - Nos casos superagudos não se consegue notar alterações nas aves que sucumbem. Nos casos agudos, nota-se aumento de volume e congestão de fígado, baço e rins. O fígado apresenta pontos brancos. O saco da gema, nem sempre está alterado. Quando está, nota-se falta de absorção, estando o seu conteúdo de consistência cremosa ou caseosa. Aves com dificuldade respiratória podem apresentar nódulos branco-amarelados no pulmão. Estes nódulos também podem ser encontrados no trato digestivo, no músculo cardíaco e no pâncreas. No coração, notam-se pontos brancos no início, podendo crescer de modo a alterar a forma do coração. O pericárdio pode estar espessado e conter exsudato amarelado ou fibrinoso. Nódulos similares podem aparecer na musculatura da moela e, ocasionalmente, na parede do duodeno e cecos. Os cecos poderão conter material caseoso no seu interior. Aves com problemas articulares contêm fluido amarelo viscoso na articulação. Outras alterações seriam congestão dos órgãos internos, a presença de líquido viscoso no peritôneo, espessamento da parede intestinal e exsudato na câmara anterior do olho.

Aves adultas - Embora as aves apresentem sorologia positiva, as lesões podem ser mínimas, sendo encontradas nos folículos ovarianos que variam de pequena regressão a folículos císticos, hemorrágicos, atrofiados, contorno irregular com material caseoso, hemorrágico ou necrosado no seu interior. Poderá ocorrer atrofia de ovário, presença de massas encapsuladas dentro da cavidade abdominal em conseqüência de postura intra-abdominal. Peritonite fibrinosa e peri-hepatite pode ocorrer sem o envolvimento do trato reprodutivo. Pericardite é um achado muito comum. O pericárdio poderá estar levemente opaco e o fluido pericárdico aumentado e turvo. O progresso destas alterações leva ao espessamento do pericárdio e aumento do fluido, que conterá material exsudativo. Nódulos branco-amarelados, similarmente ao que acontece com os pintainhos, surgirão no músculo cardíaco. Pequenos cistos contendo material caseoso, de cor âmbar, podem aparecer na gordura abdominal, moela, intestinos e pâncreas.

Ocasionalmente, pulmões e sacos aéreos apresentam granulomas com conteúdo caseoso. A Pulorose em lotes de aves adultas pode ser confundida com o Tifo Aviário.

DIAGNÓSTICO.

O diagnóstico baseia-se na associação da anamnese, dos achados clínicos, anatomopatológicos e exames laboratoriais.

A principal suspeita do quadro de Pulorose seria pintainhos doentes na segunda e terceira semanas de vida. O lote apresentaria, desde a chegada na granja, animais encorujados, arrepiados, com as asas caídas, procurando amontoarem-se próximos à fonte de calor, diarréia branca a branco-amarelada, morbidade e mortalidade. À necropsia, pode-se notar pequenos pontos brancos no coração e no fígado. Na ave adulta, as alterações poderão ser visualizadas no ovário e também no fígado, baço e coração.

Aves reagentes em testes sorológicos (p.ex. ELISA e soroaglutinação rápida em placa com antígeno colorido para Pulorose), devem ser submetidas a exame bacteriológico.

O material para análise bacteriológica pode ser colhido do baço, fígado, coração, ovário, do conteúdo intestinal e saco da gema. É importante o exame de baço, fígado e ovário. A amostra (suabe ou fragmentos) pode ser cultivada diretamente em placa contendo ágar, ou ser inoculada em caldo. Os mais comuns são os caldos selenito e tetrationato e suas modificações, acrescidos de novobiocina. Após incubação a 37 ou 42oC por 24horas, o caldo será plaqueado. Os meios mais comuns para plaqueamento são ágar verde brilhante, ágar de MacConkey, SS, etc, incubados a 37 ou 42oC por 24 horas. Geralmente as colônias são pequenas. A seguir procede-se a testes bioquímicos, em meios presuntivos como ágar TSI (tríplice açúcar e ferro) e LIA (ágar lisina ferro). Os testes bioquímicos de rotina, geralmente são executados a 37oC por 24horas. A confirmação do gênero é assegurada por testes complementares com soros polivalentes antiantígenos somáticos (O) e antiantígenos flagelares (H). A definição dos sorotipos e biotipos são obtidas com a realização de provas sorológicas com soros antiantígenos O e H individuais e provas bioquímicas complementares.

SOROLOGIA.

O teste sorológico mais utilizado é a soroaglutinação rápida em placa, realizada com antígeno colorido e sangue total. Este teste é bastante prático e pode ser realizado no galpão. Também podem ser adotados os testes de soroaglutinação lenta em tubos e de microaglutinação. O ensaio imunoenzimático (ELISA) detecta portadores de resposta sorológica ao agente da Pulorose e Tifo Aviário. Estes testes podem apresentar respostas falso positivas ou respostas positivas a outros sorotipos, especialmente os do grupo D, que são do mesmo grupo de

S. pullorum e *S. gallinarum*. A resposta sorológica aos agentes da pulorose e do tifo aviário é indistinguível.

TRATAMENTO.
O tratamento pode reduzir a mortalidade, mas não elimina o portador. Sulfonamidas e nitrofuranos são drogas que atuam sobre Salmonella. As sulfas incluem sulfadiazina, sulfamerazina, sulfatiazol, sulfamerazina e sulfaquinoxalina. A utilização de sulfas nos primeiros cinco a dez dias de vida reduz a mortalidade. Entretanto, a mortalidade volta a ocorrer após a retirada do medicamento. Nitrofuranos, assim como as sulfas, reduzem a mortalidade, mas não impedem a sobrevivência de aves infectadas. Vários antibióticos como cloranfenicol, clortetraciclina e apramicina podem reduzir a mortalidade.

PREVENÇÃO E CONTROLE.
Os conceitos de adoção de medidas gerais de manejo e profilaxia em avicultura são instrumentos indispensáveis para a prevenção de enfermidades infecciosas em avicultura industrial. Eles são muito importantes também para o controle da Pulorose. Além de cuidados direcionados a todas as etapas das operações avícolas, para prevenir a Pulorose, é preciso atenção com as granjas reprodutoras e incubatórios. Nestes locais, limpeza, higiene, desinfecção, controle de moscas, roedores, pássaros, destino adequado de resíduos e dejetos, etc., são fundamentais. Todavia, o exame das aves, no início do período de postura, através do "teste de Pulorose", tem se mostrado importantíssimo como instrumento de prevenção da transmissão vertical e tem sido considerado o principal responsável pelo sucesso no controle da Pulorose. Este teste é recomendado em 100% de reprodutoras.

TIFO AVIÁRIO.
A primeira descrição do Tifo Aviário foi feita por Kleim em 1889 na Inglaterra. Na ocasião, a enfermidade acometeu 400 aves, matando 200 em dois meses e foi confundida com a Cólera Aviária. Contudo, ao se isolar o agente da doença, ficou demonstrado que se tratava de outro microrganismo. Durante a necropsia, foi observado uma enterite de caráter infeccioso, com inflamação das mucosas e serosas intestinais e diarréia amarelo-esverdeada. O baço e o fígado estavam aumentados. Os bacilos isolados do sangue de aves doentes eram Gram-negativos, imóveis e facilmente cultiváveis. Aves inoculadas por via subcutânea, adoeciam em 5-6 dias e morriam 2-3 dias depois.

A enfermidade foi observada em vários países da Europa, nos Estados Unidos da América, Ásia e África. A denominação de Tifo Aviário deveu-se à sua similaridade com a Febre Tifóide humana, como também para diferenciá-la da Cólera Aviária. Nos Estados Unidos da América, tem sido considerada sob controle e este resultado deve-se a um plano nacional de prevenção

de enfermidades avícolas, com destaque para o controle de salmoneloses. Na Europa o Tifo Aviário voltou a ser notificado no início dos anos 90.

No México, aonde se adota também programas de vacinação para prevenir o Tifo Aviário e na América do Sul, a enfermidade ainda persiste. No Brasil, os primeiros registros do Tifo Aviário datam de 1919 em Minas Gerais e de 1939 em São Paulo. A enfermidade tem sido diagnosticada em áreas de exploração de aves de postura comercial, mas também pode ocorrer em aves reprodutoras (para corte e postura). No Brasil, surtos da doença chamaram atenção nas décadas de 80 e 90, mas o conhecimento sobre a situação real fica prejudicado pela falta de informações, tendo-se em vista que o diagnóstico, às vezes, é realizado com base nos sinais clínicos e alterações anatomopatológicas, sem a confirmação laboratorial do agente etiológico.

ETIOLOGIA.

Salmonella enterica subspécie enterica sorotipo Gallinarum é o agente do Tifo Aviário. Trata-se de uma Salmonella imóvel, com características muito semelhantes à *S. pullorum*. Na sorologia básica, para identificação do sorotipo, ambas são indistinguíveis. Bioquimicamente, apresentam algumas diferenças e estas provas são consideradas importantes na diferenciação destes biotipos. Contudo, cepas com comportamento fora desses padrões já foram isoladas. São aeróbios e anaeróbios facultativos, catalase positiva, oxidase negativa, fermentam açúcares com produção de gás e são produtores de H2S.

A configuração antigênica de *S. gallinarum* é semelhante a configuração da *S. pullorum,* apresentando os antígenos somáticos 1, 9 e 12. Neste caso, não se conhece variação de antígenos como acontece com o antígeno O12 de S. Pullorum.
É passível de confusão o diagnóstico bacteriológico do Tifo Aviário e da Pulorose, em virtude da similaridade quanto ao comportamento bioquímico e na estrutura antigênica destas duas salmonelas.

A virulência da *S. gallinarum* está relacionada com a composição do LPS (antígenos somáticos) e com presença de plasmídeos, sendo que, cepas com o LPS alterado diminuem a virulência mesmo na presença destes plasmideos (85-kb). Outros fatores de virulência como a produção de toxinas e a presença de fímbrias, parecem não ter importância na patogenicidade da *S. gallinarum* para as aves.

TRANSMISSÃO.

A transmissão de *S. gallinarum* pode ocorrer pela via horizontal. Relatos mais antigos consideram que o agente do Tifo Aviário possa ser veiculado através da transmissão vertical.
A bactéria pode se espalhar por todo o corpo do animal, durante a fase da doença, principalmente, na fase final, quando a ave está indo a óbito. O contato entre ave doente e ave

sadia, presença de aves mortas na granja, canibalismo, são fatores importantes na transmissão do Tifo Aviário. Falta de higiene, falta de limpeza, a presença de moscas, pássaros, urubus, roedores, etc., podem contribuir para disseminar o agente da doença em propriedades avícolas. Veículos que transportam aves, esterco e ovos, são meios eficientes de disseminação da bactéria, especialmente, aqueles que entram em várias granjas sem lavagem e desinfecção prévia. Pessoas que trabalham em granjas ou que transitam em propriedades avícolas podem atuar como elementos de disseminação do agente do Tifo Aviário.

MORBIDADE E MORTALIDADE.

A mortalidade provocada pelo Tifo Aviário pode chegar a 40-80% do plantel. Observa-se que algumas aves adoecem e acabam morrendo em 7-14 dias. Este processo é contínuo e aos poucos, vai acometendo mais aves do plantel, tendo-se no final, mortalidade dentro dos parâmetros acima mencionados. Muitas vezes, a morte é decorrente da enfermidade e de intoxicação pelos medicamentos usados para combatê-la. Salmonella Gallinarum produz perdas econômicas através da mortalidade, morbidade e redução na produção de ovos.

DISTRIBUIÇÃO E OCORRÊNCIA.

É uma enfermidade de distribuição mundial, que tem estado sob controle em países da Europa e da América do Norte. O Tifo Aviário tem sido descrito em países cuja avicultura industrial está em desenvolvimento e naqueles onde se encontram aves criadas livremente. Mesmo assim, esta doença tem ocorrido em países da Europa como Alemanha e Dinamarca. Na América Latina, ocorre em vários países, entre os quais México. No Brasil, tem ocorrido em alguns períodos com maior intensidade, como aconteceu nos anos 80 e início dos anos 90, representando 65% a 67% dos isolados totais de Salmonella, sendo de 11% em Santa Catarina e de 50% a 69% em Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná. Os relatos são mais comuns em granjas de postura comercial, embora, o Tifo Aviário possa ocorrer entre aves reprodutoras (para corte e postura comercial).

O Brasil adotou em 1995, o qual entrou em vigor em 01/01/1996, um conjunto de medidas consolidadas sob o chamado Programa Nacional de Sanidade Avícola. O plano visa controlar a ocorrência de Doenças de Newcastle, Micoplasmoses e Salmoneloses.

PATOGENICIDADE.

A patogenicidade da Salmonella depende de uma série de fatores associados à bactéria, à ave e às condições de criação. Alguns sorotipos são mais restritos ao trato intestinal, enquanto outros são capazes de invadir a corrente circulatória, podendo desencadear septicemia. A associação e penetração da bactéria na mucosa digestiva é um pré-requisito para a infecção sistêmica, onde outros tipos de células são invadidas.

A invasão ocorre especificamente via superfície apical onde a Salmonella induz ruptura e afastamento das microvilosidades que procede a endocitose. A Salmonella migra através da célula. Acredita-se que a invasão ocorra por um receptor mediador de endocitose, embora receptores não tenham sido identificados. A complexidade do mecanismo de invasão da Salmonella mostra sua alta capacidade de invadir diferentes tipos de células. Durante a infecção sistêmica a maioria dos sorotipos estão associadas com macrófagos e fagócitos polimorfonucleares, e a habilidade para multiplicar dentro destas células é um pré-requisito para virulência.

HOSPEDEIROS.

As galinhas são os hospedeiros naturais do agente do Tifo Aviário. Mas outros galináceos também são considerados susceptíveis, bem como outras espécies de aves. Palmípedes e pombos parecem ser resistentes.

SINAIS CLÍNICOS.

A enfermidade tem sido mais observada em aves adultas. As aves ficam quietas, prostradas, deitam-se, não se alimentam, apresentam diarréia amarelo-esverdeada a esverdeada, observa-se queda de postura, dispnéia e severa anemia até à morte. Algumas aves se recuperam. O curso da doença é de 5-7 dias, mas pode ser mais longo. Em lotes acometidos pelo Tifo Aviário, a mortalidade não ocorre de uma só vez. No início, algumas aves ficam doentes e entre essas, algumas morrem. Posteriormente, este quadro se repete várias vezes, de modo que, grande parte do lote pode ser acometido e a mortalidade final torna-se significativa. Quando a enfermidade acomete aves jovens, o quadro pode ser confundido com a Pulorose, sendo diferenciado somente após o isolamento e identificação do agente.

ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGIAS.

O Tifo Aviário é uma enfermidade com características de septicemia e toxemia. Haverá congestão dos órgãos internos e anemia provocada pela destruição de hemácias pelo sistema retículo-endotelial. Nos quadros agudos, as alterações não são muito proeminentes. O fígado e o baço aumentam de tamanho, 3-4 vezes. O fígado torna-se friável, esverdeado, amarelo-esverdeado a bronzeado e cheio de pontos necróticos (esbranquiçados) e hemorrágicos. A vesícula biliar estará distendida em função do aumento de volume de bile. Os pontos necróticos também aparecem no baço e no coração. No baço, nota-se ainda pontos de hemorragia. Nos casos em que o curso da enfermidade é mais longo pode-se observar processos inflamatórios formando nódulos esbranquiçados no coração, no baço, nos pulmões, nos rins, na moela, no pâncreas, no duodeno e nos cecos. O processo inflamatório no coração poderá atingir o pericárdio que se tornará opaco, assim como o líquido do saco pericárdio. Os rins poderão estar amarelados e o ovário, ou atrofiado ou com os folículos ovarianos hemorrágicos, murchos,

congestos, císticos, disformes, contendo material caseoso ou hemorrágico no seu interior. Em pintos novos as lesões são semelhantes às notadas na pulorose.

DIAGNÓSTICO.

O diagnóstico do Tifo Aviário é feito com base nos achados clínico, anatomopatológico e exames laboratoriais. Provas sorológicas como os testes de Pulorose e Soroaglutinação lenta detectam anticorpos anti *S. gallinarum*. Os resultados são passíveis de confusão com aves infectadas por *S. pullorum* ou por outros sorotipos que possuam antígenos em comum, como aquelas do grupo D. O teste imunoenzimático, ELISA, pode apresentar resultados mais específicos, mas sem diferenciar a resposta entre aves infectadas por *S. gallinarum* ou *S. pullorum*; porém, diferencia-os de *S. enteritidis*. Entretanto, para a definição do diagnóstico deve-se realizar o isolamento e identificação da Salmonella, que produz colônias pequenas em meios seletivos em ágar e produzem pouco ou nenhum H2S em ágar TSI. Uma análise bioquímica mais completa e a sorologia complementam as etapas necessárias para a definição correta do sorotipo.

TRATAMENTO.

O tratamento é semelhante ao da pulorose. Mesmo na presença de um surto de Tifo Aviário, o maior aliado do tratamento é a adoção de medidas de limpeza e higiene e a eliminação rápida e correta de aves mortas.

PREVENÇÃO E CONTROLE.

O controle da Salmonella foi conseguido em muitos países pela adoção de medidas coordenadas de vigilância sanitária, associada com exames sorológicos e sacrifício compulsório para as aves infectadas por *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum*.

A manutenção do ambiente livre de microrganismos, ou pelo menos a sua manutenção em um nível mínimo de contaminação, reduz o aparecimento de doenças. Para se obter uma eficaz redução, necessita-se basicamente de granjas isoladas, limpas e desinfectadas (aviário e equipamentos), controles de insetos, roedores, pássaros, manejo de cama correto, idade única de criação, equipamentos bem dimensionados e modernos, controle de visitas e de animais domésticos, além dos registros dos dados de produção, etc. A limpeza e desinfecção exercem importante papel na minimização de fontes ambientais de Salmonella para a ave. Assim, o melhor programa de prevenção baseia-se na limpeza, higiene e desinfecção da granja. Cuidados com dejetos, evitar água parada, destino correto e rápido de animais mortos, cuidado com veículos que transportam aves, ração e suas matérias primas, fezes (cama) e ovos, entre outros.

Além das medidas de ordem geral, que são imprescindíveis para o controle do Tifo Aviário, estão disponíveis vacinas vivas e inativadas (bacterinas) contra o Tifo Aviário. As bacterinas não conseguem apresentar resultados satisfatórios, embora promovam resposta intensa de anticorpos. As vacinas vivas constituem-se de cepas de S. Gallinarum que tiveram atenuada a sua patogenicidade. A mais conhecida é a 9R. Esta vacina foi elaborada com uma cepa rugosa de *S. gallinarum*, caracterizando-se pela indução de uma resposta imune sem causar danos severos à economia animal.

PARATIFO AVIÁRIO E SAÚDE PÚBLICA.

Entre todas as espécies animais a presença de Salmonella spp. é mais freqüentemente descrita em aves e produtos de origem aviária, devido a alta população de risco e os intensos controles pelas agroindústrias e instituições no isolamento e identificação desta bactéria. Diante deste quadro, não há surpresa em relacionarmos a ingestão de alimentos de origem avícola contaminados e/ou indevidamente preparados, com surtos de toxinfecção humana. A carne de aves pode ser contaminada com Salmonella spp., quando a bactéria é transferida do conteúdo intestinal à carcaça durante o processamento. Em geral a carne é ingerida após processos térmicos que eliminam a bactéria, fato que ocorre apenas em parte com os ovos, pois quando estes são consumidos crus, semi-cozidos ou como ingredientes de alimentos mal preparados, podem ser responsabilizados por surtos em humanos.

Uma grande incidência de surtos humanos por *S. enteritidis* nos Estados Unidos e Reino Unido a partir de 1980, chamou a atenção para fontes comuns da infecção, ou seja, o consumo de alimentos com ovos contaminados, tornando clara a relação salmonelose humana com o consumo de ovos semi-cozidos ou em alimentos indevidamente preparados. Desde então, surtos de salmonelose humana são freqüentemente relatados em diversos países, como Alemanha, Argentina, Austrália, Canadá, Holanda, Itália, México e Polônia, entre outros. Também no Brasil, a partir da década de 90, foram descritos surtos de infecção alimentar por *Salmonella* spp., especialmente *S. enteritidis*, em diversos estados brasileiros. Em todos os locais, alimentos como maionese caseira, salpicão, molho tártaro, mousse, cobertura de bolo, salgadinhos e assados foram responsabilizados pela veiculação dos surtos.

A ocorrência de surtos de salmonelose humana relacionada com produtos avícolas e determinados por outros sorovares que não S. Enteritidis, tem diminuído drasticamente na última década. Já o isolamento de *S. enteritidis*, seja em humanos ou aves, aumentou sensivelmente, atingindo índices superiores a 50% das ocorrências em muitos países. Aparentemente há correlação entre o aumento de surtos humanos a partir do consumo de

alimentos contendo ovos, com locais onde estes não são comercializados sob refrigeração e o consumo de alimentos contendo ovos crus ou semi-cozidos.

No Brasil, o primeiro relato da ocorrência de *S. enteritidis* em aves foi em 1990, proveniente de um surto em reprodutoras pesadas. Até então, a identificação de S. Enteritidis no país era esporádica. Levantamento realizado entre 1970 e 1990 no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, demonstrou que S. Enteritidis foi caracterizado em apenas 0,37% das amostras de origem humana e 0,85% das amostras não humanas.

Neste período, o sorovar mais prevalente, especialmente em infecção humana, foi *S. typhimurium*. Levantamento realizado entre 1976 e 1991 no Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, em amostras provenientes de matéria prima e ração para aves, demonstrou a presença de apenas 0,8% de *S. enteritidis*.

Entretanto, desde a primeira metade da década de 90, a incidência de *S. enteritidis* aumentou sensivelmente, atingindo 64,9% entre amostras humanas e 40,7% entre as não humanas, em levantamento realizado pelo Instituto Adolfo Lutz.

O nível de contaminação interna dos ovos produzidos por lotes naturalmente infectados é, geralmente, baixo. A verificação da contaminação por *Salmonella* spp. em granjas européias e americanas de postura comercial positivas, demonstrou que apenas 1% das cascas dos ovos comerciais estavam contaminadas, o que torna a contaminação interna dos ovos um evento relativamente raro. No Brasil, demonstrou-se maior contaminação - 9,6% - nas cascas de ovos provenientes do comércio varejista. A refrigeração é extremamente importante no processamento dos ovos. Um único ovo contaminado pode prejudicar toda uma partida se as condições de armazenamento não forem adequadas. A manutenção dos ovos em temperatura variando entre 2 a 8oC é uma das maneiras de prevenir a multiplicação de S. Enteritidis, tornando inclusive, mais efetiva a destruição da bactéria através do cozimento em ovos previamente refrigerados. Atualmente, em vários países onde a avicultura é desenvolvida, o problema com salmonelose está sendo seriamente discutido e, após a implementação de programas de controle complexos e de custo elevado, a situação vem dando sinais de melhora, seja na saúde avícola quanto na saúde pública.

INCIDÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO.

Salmonella spp. serão encontradas possivelmente em todos os países onde haja avicultura industrial. A relação entre a condição de infectados ou carreadores, entre humanos, animais domésticos e silvestres, está diretamente relacionada com a cadeia de transmissão da bactéria, favorecendo portanto a uma ampla distribuição. Com a grande expansão da indústria avícola, a salmonelose aviária tornou-se fator limitante à criação de aves, quando criadas sem programa

específico de controle, adquirindo importância relevante entre as demais doenças aviárias, pois as perdas econômicas determinadas por esta doença estão presentes em todas as fases da produção avícola, ou seja, da produção ao consumo dos produtos de origem aviária.

A detecção dos diferentes sorovares de Salmonella em aves, é geralmente, acompanhada pela descrição também em alimentos e/ou humanos. Vários são os países onde já foram descritos quadros de salmonelose aviária ou humana determinados por sorovares paratíficos, confirmando a presença destes em quase todos os continentes. Também no Brasil, há relatos em diversos estados, seja em surtos de toxinfecção alimentar por Salmonella spp., seja em material avícola.
Em diferentes materiais avícolas observa-se freqüentemente o isolamento de *Salmonella* spp. O exame de caixa de entrega de pintos revelou positividade de até 83% e 50% para amostras de matrizes pesadas e poedeiras, respectivamente.

Em laboratório de diagnóstico, a análise de diferentes materiais, onde incluem-se matriz pesada, poedeira e frango de corte, além de ração, cama e farinha de origem animal, entre outros, revelou alta incidência de *Salmonella* spp. nestes materiais, além de posicionar o sorovar Enteritidis como o mais prevalente.

ETIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO DE *Salmonella* spp.
O gênero Salmonella compreende um vasto grupo da família Enterobacteriaceae, que alberga cerca de 2500 sorovares bioquimica e sorologicamente relacionados. Atualmente o gênero Salmonella está classificado em apenas duas espécies: enterica e bongori. A espécie enterica está dividida em seis subespécies, entre as quais a subespécie enterica, onde estão agrupados os principais sorovares paratifóides. Embora qualquer sorovar possa estar relacionado com o paratifo aviário, apenas cerca de 5% dos sorovares descritos estão envolvidos com aves, seja na propagação da doença ou apenas como portador.

Como membro da família Enterobacteriaceae, a Salmonella é gram negativa, apresentando características de motilidade em quase todos os sorovares descritos, devido exatamente a presença de flagelos. Crescem à temperatura de 5 a 45oC, embora a zona de conforto esteja entre 37 a 40oC. Meios indicados para enterobactérias, geralmente suprem as necessidades de carbono e nitrogênio do seu crescimento. Costumeiramente as colônias alcançam cerca de 2 a 4mm de diâmetro em meio sólido, arredondadas, com bordas lisas e levemente brilhantes. A motilidade, o crescimento mais rápido em ágar, o tamanho maior das colônias e a exuberância na produção de sulfeto de hidrogênio, auxiliam na diferenciação entre os paratifóides e os sorovares Pullorum e Gallinarum.

Na caracterização bioquímica os paratifóides fermentam a glicose, usualmente com produção de gás, além de dulcitol, manitol e maltose. Não fermentam a lactose, sacarose e salicina. Em geral, produzem H2S a partir de vários meios de cultura, não hidrolisam a uréia e não produzem indol. A maior parte dos sorovares descarboxilizam a lisina.

A sorotipagem de Salmonella spp. baseia-se na identificação dos antígenos somáticos ou antígenos "O" e antígenos flagelares "H". Os antígenos "O" são representados através de números arábicos, enquanto os antígenos flagelares "H" são designados através de letras minúsculas do alfabeto e por números arábicos, podendo estes últimos ocorrerem em duas fases, denominadas 1 e 2. Este esquema de classificação, desenvolvido por Kauffmann-White, permite praticidade na identificação dos milhares de sorovares diferentes de Salmonella, uma vez que agrupa os sorovares com antígenos "O" e "H" semelhantes. Os sorovares paratifóides isolados de aves são em geral, membros dos grupos B, C ou D. Como exemplo o sorovar Typhimurium pertence ao grupo B, enquanto o Enteritidis está posicionado no grupo D1. Provas de aglutinação em placa são utilizadas na rotina laboratorial, para determinar os antígenos somáticos e flagelares, possibilitando assim a definição dos sorovares.

RESISTÊNCIA BACTERIANA.

A persistência da Salmonella spp. no ambiente é imprescindível à transmissão horizontal, assim como ampliam-se as possibilidades de contato com hospedeiros transmissores, como os roedores, bem como a contaminação da ração, matéria-prima ou cama do aviário. A presença de S. Typhimurium já foi detectada em períodos superiores a um ano, seja em ração ou na cama de chão, embora a fermentação desta última, proveniente da população bacteriana presente e sob condições propícias de temperatura e umidade, possa proporcionar efeito inibitório sobre Salmonella spp. Bactérias do gênero Salmonella tendem a ser sensíveis a maioria dos desinfetantes conhecidos. Entretanto, a eficácia destes produtos pode ser severamente comprometida quando em presença de matéria orgânica, sendo necessária, portanto, limpeza mecânica eficiente, previamente ao uso de desinfetantes. A desinfecção de ovos com amônia quaternária ou hipoclorito de sódio apresenta-se como boa alternativa na redução da multiplicação e penetração de *S. enteritidis* na casca.

Os sorovares paratifóides são sensíveis a altas temperaturas. O processo convencional de pasteurização (60oC durante 3,5 minutos) destrói S. Enteritidis em ovos líquidos. Quando o processo de cozimento permite que parte da gema permaneça líquida, algumas amostras de *S. enteritidis* podem permanecer viáveis. A destruição pelo cozimento é mais efetiva quando os ovos são previamente refrigerados, pois a manutenção dos ovos entre 2-8oC previne a multiplicação de *S. enteritidis.*

PATOGENIA, HOSPEDEIROS E SUSCEPTIBILIDADE A *Salmonella* spp.

Salmonella spp podem ser isoladas a partir de uma grande variedade de hospedeiros, ou seja, aves, répteis, insetos e mamíferos, incluindo o homem. As aves estão associadas frequentemente como fonte de infecção aos humanos, posicionando-se como importante reservatório de Salmonella. É interessante assinalar que, por ser a avicultura segmento da produção animal altamente tecnificado, os programas de controle em aves prevêem monitoria bacteriológica com altíssima freqüência, fazendo com que o segmento avícola esteja sempre como maior reservatório, enquanto outros segmentos do agronegócio não mantêm o mesmo nível de monitoramento.

Os sorovares paratifóides acometem principalmente aves jovens, enquanto as mais velhas tornam-se portadoras intestinais por longos períodos. As galinhas e perus são altamente susceptíveis, enquanto outras espécies de aves, como gansos, patos, pombos, papagaios e pássaros em geral, possam frequentemente ser acometidos. A frequência e a diversidade de espécies de aves contaminadas, indicam inespecificidade, sujeitas apenas a exposição à bactéria. Bovinos, suínos, ovinos, equinos, cães, gatos e diversos répteis podem ser infectados, podendo manifestar ou não a doença, embora a ocorrência apenas como portadores, não minimize o problema, uma vez que podem obviamente servir como fonte de contaminação entre as diferentes espécies, incluindo-se as aves. Os roedores são, classicamente, uma das maiores fontes de contaminação às aves, visto serem portadores intestinais de sorovares importantes às aves. Insetos como moscas, baratas e besouros, entre outros, uma vez contaminados, proporcionam a possibilidade de perpetuação da contaminação em lotes seqüenciais.

A alta densidade, variação de temperatura, má ventilação ou aquecimento e o manuseio excessivo das aves, propiciam condições favoráveis à presença da bactéria. Doenças que induzam a quadro imunossupressivo, como Marek, leucose, gumboro, reticuloendoteliose ou micotoxicose, bem como as que afetem a integridade intestinal, como coccidiose e clostridiose, também são fatores facilitadores à colonização intestinal por parte de *Salmonella* spp.

Os sorovares paratifóides mais adaptados às aves, como o Enteritidis, possuem capacidade de aderir aos enterócitos, multiplicar-se, penetrar através da mucosa intestinal, provocar bacteremia e disseminar-se até atingir diversos órgãos internos, podendo contaminar os ovos e levar ou não a ave à morte. A colonização intestinal e posterior bacteremia ocorrem mais costumeiramente em aves recém-nascidas ou jovens do que em adultas, o que também explicaria a presença de sinais clínicos e mortalidade quase que exclusivamente em aves mais jovens.

TRANSMISSÃO.

A transmissão dos sorovares de Salmonella envolvidos no paratifo aviário mereceria, pela importância e pelas múltiplas possibilidades de contaminação, um capítulo a parte dentre

aqueles que tratam de patologia aviária. As aves submetidas a criação industrial, assim como os seus produtos, estão expostos a Salmonella spp. em praticamente todas as fases de produção, pois mesmo antes de nascerem, através da transmissão transovariana, até o preparo e manuseio de alimentos envolvendo produtos avícolas, há possibilidade de contaminação. Devido a ocorrência disseminada de Salmonella spp., muitos hospedeiros, atuando como portadores, contribuem na ampliação das possibilidades de contaminação dos plantéis avícolas. Também a contaminação através da ração ou matéria-prima utilizada na sua fabricação, ocupa importante papel na transmissão de Salmonella spp. às aves. Pelas características da transmissão dos sorovares paratifóides, seja da forma vertical através da contaminação do ovo ou, seja da forma horizontal através da contaminação entre as aves, o controle desta enfermidade torna-se extremamente difícil e oneroso.

A transmissão vertical ou transovariana ocorre quando da contaminação do ovo no trato reprodutivo da ave, seja no ovário, oviduto ou na passagem através da cloaca, em contato com as fezes. Em geral, apenas os sorovares mais adaptados às aves, como o Enteritidis, apresentam a capacidade de atingir outros órgãos, além do trato intestinal, permitindo a contaminação dos folículos ovarianos (ovário) ou durante a formação dos ovos (oviduto). Entretanto, os sorovares com menor adaptação às aves, poderão estar presentes nas fezes, possibilitando a transmissão durante a postura ou em contato com ninhos ou camas contaminados. A Salmonella presente nas fezes, em contato com a casca dos ovos, poderá além de contaminar a superfície externa, penetrar através dos poros e multiplicar-se no seu interior, principalmente na gema. O processo de penetração através dos poros é favorecido pela umidade e temperatura ambiental, tempo de exposição e qualidade da casca, entre outros fatores.

Uma vez que os ovos cheguem contaminados ao incubatório, seja na casca ou no interior, abrem-se novas oportunidades para ampliar-se as possibilidades de transmissão. Qualquer fragmento dos ovos, como casca ou gema, os próprios pintos, suas penugens e mecônio, são fontes prolíferas de contaminação. A partir de incubadoras ou nascedouros contaminados, a Salmonella poderá se espalhar através do ar, contaminando vários compartimentos do incubatório. Desta maneira, as aves contaminadas estarão sendo encaminhadas às granjas, aumentando novamente as possibilidades de transmissão, pois através da forma horizontal, novas aves serão contaminadas. O contato entre as aves propiciará condições para que a bactéria penetre pela cavidade oral ou cloaca, além da possibilidade de serem inaladas ou ainda, contaminadas através da conjuntiva ocular. A ingestão de fezes contaminadas, a contaminação fecal da água de bebida ou da ração, assim como qualquer fômite ou similar, como comedouros, bebedouros, aquecedores, caixas de pintos, calçados e veículos, entre outros, poderão servir como disseminadores da bactéria.

Há diversos vetores biológicos com significativa importância na transmissão de Salmonella spp. às aves. Animais domésticos e silvestres, incluindo-se aves, roedores, insetos e o próprio homem, podem além de disseminar, também manter a bactéria durante longo tempo no ambiente criatório. Os roedores, sejam ratos ou camundongos, ocupam hoje importante segmento dentro do ciclo de transmissão de Salmonella. Através das suas secreções e fezes em contato com a ração ou matéria-prima, há a contaminação pelos diferentes sorovares de Salmonella. A incidência de ratos contaminados em lotes positivos para S. Enteritidis é alta, o que não ocorre em granjas negativas, demonstrando claramente a correlação de positividade.

Como as aves podem se infectar através da via oral, é natural que o alimento atue como importante veículo de contaminação. As rações e suas matérias-primas, principalmente as de origem animal, apresentam, em geral, elevados índices de contaminação por Salmonella spp. Farinhas de carne, ossos, pena e vísceras, peixe, entre outras, devem ser constantemente monitoradas, a fim de reduzir a possível propagação da bactéria através destes produtos. Matérias-primas de origem vegetal, como produtos derivados de feijão e algodão, embora esporadicamente, também podem estar contaminadas. Os processos realizados com o intuito de eliminar ou reduzir Salmonella spp. na ração, são de suma importância também, devido a correlação existente entre sorovares isolados da matéria-prima e ração com isolamentos nas aves e carcaças. Entretanto, não é comum a ocorrência dos sorovares específicos – Pullorum e Gallinarum – ou sorovares adaptados às aves – Enteritidis – na matéria-prima ou ração.

SINAIS CLÍNICOS.

A presença de sinais clínicos é comum em aves jovens e ocasional em aves adultas. Em aves jovens, a sintomatologia poderá ser semelhante a determinada por outras doenças, como a própria pulorose, o tifo, colibacilose, entre outras. Os sinais serão mais evidentes durante as duas primeiras semanas de vida, podendo ser exacerbados pelo grau de exposição e da virulência da amostra, interferência de fatores ambientais, infecções concomitantes e o estresse provocado por diferentes práticas de manejo. A intensidade dos sinais clínicos está diretamente relacionada com a virulência da amostra, dependente do fagotipo, especialmente em *S. enteritidis*, bem como da presença de plasmídeos. As aves apresentam-se apáticas, com as penas arrepiadas, asas caídas, anoréxicas, tendência a se amontoarem junto a fonte de calor e com diarréia profusa seguida de empastamento da cloaca. Cegueira, conjuntivite e claudicação também podem ser observadas. Em condições normais, são raros os sinais clínicos determinados por sorovares paratifóides em aves adultas. Quando facilitadas por situações estressantes, como a muda forçada em poedeiras comerciais, estas podem apresentar-se anoréxicas, diarreicas e com redução na produção de ovos. A mortalidade é rara em aves com mais de quatro semanas de vida.

LESÕES.

As lesões não são patognomônicas, sugerindo, mas não caracterizando a doença. Em aves jovens acometidas por amostras muito virulentas, estas tendem a desenvolver bacteremia aguda, advindo rapidamente a morte, sem alteração macroscópica. Em quadro subagudo podem ser observados focos necróticos na mucosa intestinal e enterite. Tiflite caracterizada por espessamento da mucosa cecal com conteúdo caseoso de coloração branco-amarelada, também pode ser encontrada, especialmente quando da infecção por *S. enteritidis* ou *S. typhimurium*. Espleno e hepatomegalia, acompanhadas por petéquias ou sufusões e focos necróticos principalmente no fígado, seguindo-se perihepatite e pericardite com aderência, podem ser observados. Gema não absorvida, coagulada e caseosa pode ser encontrada em pintos mortos, além de onfalite, artrite e aerosaculite. Já em aves adultas, a presença de Salmonella spp. em equilíbrio no trato digestivo, sem a presença de sinais clínicos, constitui situação usual e, nesta condição, na maioria das vezes não determina nenhum efeito negativo à produtividade dos lotes. Mas quando o sorovar envolvido ocorre na forma septicêmica e não somente intestinal em aves adultas, esta pode ser confundida com outras bacteremias causadas por colibacilose ou pasteurelose. A degeneração ovariana, constatada através do achado de folículos ovarianos hemorrágicos e/ou murchos, é lesão passível de ser encontrada em aves adultas, assim como pericardite, perihepatite, aerosaculite e peritonite.

DIAGNÓSTICO.

A detecção rápida e eficaz de lotes de aves infectados por *Salmonella* spp. se tornou fundamental no esforço em reduzir a freqüência da transmissão entre os lotes de aves e aos consumidores de produtos avícolas. O histórico do lote, associado com os possíveis sinais clínicos e lesões, são apenas indicativos de paratifo aviário. O diagnóstico conclusivo e definitivo é baseado no isolamento e identificação da bactéria. O isolamento ocorre a partir do cultivo de alguns órgãos das aves e de materiais do ambiente criatório. A quantidade e a freqüência da realização de testes, com o intuito de monitorar ou diagnosticar a infecção, estão baseadas no histórico de desafio da granja e na presença ou não do agente. Como diversos sorovares possuem a capacidade de provocar bacteremia, várias vísceras são utilizadas rotineiramente na tentativa de isolamento, além do conteúdo cecal. Fígado, vesícula biliar, baço, coração, ovário e saco da gema são os órgãos de eleição para isolamento. O conteúdo cecal e a gema devem ser processados isoladamente, uma vez que podem ser portadores de agentes inibidores de *Salmonella* spp. Em geral, a monitoria constando de fígado/vesícula biliar, ovário e conteúdo cecal, proporciona excelentes resultados quanto ao isolamento da bactéria. É óbvia a indicação do uso de outros órgãos, especialmente quando estes apresentam-se lesionados ou com qualquer alteração perceptível, como oviduto, testículos, rins, pâncreas, pulmão, sacos aéreos, articulações e medula óssea. Tanto os ovos embrionados quanto os ovos de consumo são utilizados para detecção de Salmonella spp. No primeiro caso, o objetivo principal é verificar a saúde avícola, por meio da checagem da contaminação das reprodutoras, evidenciada pela presença da bactéria no embrião. Já no caso de ovos de consumo, visa-se a saúde pública,

uma vez que, mesmo em pequenas quantidades, o conteúdo dos ovos poderá estar contaminado com sorovares ubiquitários, como o Enteritidis. Entretanto, como a maioria dos sorovares estarão presentes no intestino, o seu conteúdo, especialmente o cecal, bem como o próprio ceco, tonsilas cecais e as fezes, são materiais propícios ao isolamento de *Salmonella* spp. Outros materiais, vinculados ao ambiente de criação, como a cama de chão, cama de ninho, suabe de arrasto, água de bebida, penugem (nascedouro), poeira de superfícies e ração, também podem ser utilizados na monitoria de *Salmonella* spp.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO.

Embora haja diversas proposições para isolamento e identificação de *Salmonella* spp., todas devem necessariamente passar por uma ou mais etapas que compreendem metodologia padrão, ou seja, pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento em ágar seletivo, testes bioquímicos e sorológicos, sorotipagem e finalmente, fagotipagem. O pré-enriquecimento é necessário quando do cultivo de material com pequena quantidade de Salmonella ou que propiciem condições estressantes à bactéria, como ração, matéria-prima e cama do aviário. O enriquecimento seletivo é necessário principalmente para inibir o crescimento de outros microrganismos. O plaqueamento em ágar propiciará o isolamento de colônias com características típicas de Salmonella, conforme o meio utilizado. As colônias selecionadas na etapa anterior, serão submetidas a bateria bioquímica e a testes sorológicos com anti-soros somáticos – polivalente ou de grupo específico – e flagelar. As demais etapas, sorotipagem e fagotipagem, são realizadas em laboratórios de referência.

As culturas são incubadas durante 24 a 48 horas, sendo este último período indicado no isolamento de produto contendo pequena quantidade de Salmonella spp. A temperatura de eleição é 37oC, entretanto, temperaturas variando de 40oC a 42oC também podem ser utilizadas com sucesso, uma vez que propiciam boas condições de competição à Salmonella spp. em relação a outros microrganismos da microbiota intestinal. Água peptonada tamponada e caldo lactosado são os mais indicados para pré-enriquecimento não seletivo. Não só para o pré-enriquecimento, mas também para as outras etapas de cultivo, existem inúmeras opções de meios com maior ou menor especificidade, dependendo do material a ser analisado. Para o enriquecimento seletivo os meios freqüentemente utilizados são os caldos tetrationato, selenito-cistina e Rappaport-Vassiliadis. Já para o plaqueamento seletivo podem ser utilizados os ágares verde brilhante (AVB), xilose lisina desoxicolato (XLD), entérico de Hectoen (HE), bismuto sulfito (BS), MacConkey (MC) e Salmonella-Shigella (SS), entre outros. Recomenda-se tanto no enriquecimento em caldo, quanto no plaqueamento em ágar seletivo, que sejam utilizados dois meios diferentes concomitantemente, devido a possibilidade de variação entre as amostras de Salmonella e os ingredientes seletivos de cada meio. A adição de novobiocina aos meios para plaqueamento seletivo proporciona maior chance de isolamento de *Salmonella* spp devido a inibição do crescimento de outros microrganismos, especialmente Proteus spp. Duas ou três

colônias isoladas com características típicas de Salmonella spp. em cada um dos meios utilizados devem ser semeadas nos ágares tríplice açúcar ferro (TSI) e lisina ferro (LIA). Resultados compatíveis com Salmonella spp. nestes meios (ressalte-se a produção de H2¬S), suportam a necessidade de sua confirmação em bateria bioquímica composta por alguns carboidratos e aminoácidos, entre outros. A fermentação de dulcitol, manitol e maltose, a não fermentação de lactose e sacarose, a descarboxilação da lisina, a não produção de indol, a não hidrólise da uréia, teste de malonato e Voges-Proskauer negativos, teste de citrato e vermelho de metila positivos, além de motilidade positiva, permitem afirmar tratar-se de Salmonella spp. Paralelamente a bateria bioquímica, testes sorológicos devem ser realizados com o intuito de confirmação do gênero ou mesmo do sorogrupo ao qual pertence a amostra isolada. Utilizam-se anti-soro somático polivalente (Poli O) e anti-soro flagelar polivalente (Poli H), podendo ser acrescentados anti-soros somático e flagelar específicos para sorovares de maior relevância, como o Enteritidis.

SOROLOGIA.

Testes sorológicos podem ser utilizados na pesquisa de anticorpos em aves infectadas. Aves infectadas desenvolvem anticorpos que podem ser detectados no soro e na gema de seus ovos. Quando os testes sorológicos apresentam-se positivos, estes devem ser confirmados através do isolamento e da identificação do sorovar de Salmonella envolvido. Testes sorológicos para sorovares paratifóides são menos utilizados quando comparados aos realizados para pulorose e tifo aviário. Entretanto, com os problemas advindos da contaminação cada vez maior por S. Enteritidis, alguns testes sorológicos vem sendo empregados mais assiduamente. O teste de pulorose (soroaglutinação rápida em placa com sangue total ou soro sangüíneo, utilizando antígeno colorido de S. Pullorum) detecta galinhas infectadas com S. Enteritidis porque ambos pertencem ao sorogrupo D1. Entretanto, antígenos específicos produzidos com S. Enteritidis detectam maior quantidade de aves infectadas. Os testes de microaglutinação e soroaglutinação macroscópica em tubos (prova lenta) também detectam anticorpos contra S. Enteritidis, embora com variação de sensibilidade entre elas. O teste de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) entretanto, reduziu esta variação de sensibilidade devido a utilização de anticorpos monoclonais específicos para epitopos de S. Enteritidis sem reação cruzada com outros sorovares. Mais recentemente, o desenvolvimento de técnicas envolvendo a biologia molecular, especialmente a reação em cadeia de polimerase (PCR), permitindo a amplificação específica de segmentos de DNA, tem possibilitado novos rumos na identificação de Salmonella spp., reduzindo o tempo em relação ao método bacteriológico padrão e ampliando a confiabilidade das provas diagnósticas.

PREVENÇÃO E CONTROLE.

Devido as inúmeras formas possíveis de contaminação das aves e seus produtos, corroborados pela transmissão vertical e horizontal de Salmonella spp., os programas de prevenção e controle

são extremamente difíceis e dispendiosos, embora no contexto atual da avicultura sejam também imprescindíveis. Como a bactéria pode adentrar nos plantéis e se perpetuar verticalmente, ou ser constantemente suprida através da contaminação ambiental, a erradicação dos sorovares paratifóides nas criações avícolas ainda é impossível, constatada através das técnicas atualmente disponíveis. Por outro lado, o uso criterioso e contínuo das medidas de prevenção, conseguem dificultar sobremaneira a contaminação por Salmonella spp., obtendo-se assim situação favorável no controle da doença. Nos programas de prevenção a serem implementados, deve ser explorado ao máximo o controle das principais formas de contaminação conhecidas e já detectadas como responsáveis pela entrada e manutenção da bactéria.

PREVENÇÃO E CONTROLE – MANEJO.

Como estamos tentando controlar uma doença com transmissão vertical, é imprescindível que ovos embrionados ou pintos sejam livres, uma vez que grande parte dos procedimentos será ineficaz ao iniciarmos a criação com aves já contaminadas. Com o objetivo de evitar-se esta situação, as principais medidas de controle devem ser direcionadas às aves reprodutoras, ou seja, inicialmente avós e sequencialmente matrizes, através de medidas drásticas de biosseguridade, incluindo-se monitoramento sorológico e bacteriológico.

Objetivando reduzir a possibilidade de contaminação, os ovos devem ser coletados em intervalos freqüentes (seis ou mais vezes ao dia), com todo o material e pessoal envolvidos na tarefa, devidamente higienizados. Os ovos sujos (fezes) nos ninhos ou encontrados fora deles, não devem ser utilizados à incubação. As camas dos ninhos devem ser trocadas pelo menos uma vez a cada mês, recebendo paraformaldeído e sanitização com desinfetante comprovadamente eficiente. Os ovos coletados devem ser fumigados e/ou sanitizados e mantidos sob temperatura inferior a 21oC até o momento de incubação. Para melhores resultados recomendam-se duas fumigações dos ovos, sendo a primeira ainda na granja e a segunda na chegada ao incubatório. A fumigação na granja, quando realizada em até duas horas após a postura, assegura maior eficiência em debelar os microrganismos presentes nas cascas dos ovos.

A monitoria microbiológica do incubatório deve ser rigorosa e constante. A exposição de placas nos diversos ambientes do incubatório, o índice de contaminação das penugens e a análise dos ovos não eclodidos, são exames rotineiros que não devem ser negligenciados. Cursos periódicos aos funcionários tanto das granjas de reprodutores, quanto dos incubatórios, abrangendo noções básicas de biosseguridade e biossegurança, garantem a manutenção e a sustentação de um bom programa de controle. É evidente que, todas as medidas fundamentais de biosseguridade, envolvendo limpeza e desinfecção, seja dos aviários, incubatórios, fômites, veículos e funcionários, devem seguir programa rígido de controle. Além dos exames

bacteriológicos rotineiros, monitoria sorológica através de soroaglutinação rápida em placa é condição indispensável, encaminhando-se aves positivas ao laboratório para diagnóstico. A utilização de suabe de arrasto também é indicada para averiguar a presença de Salmonella spp. no ambiente, especialmente na cama de chão. O exame da caixa de transporte de pintos, suabe cloacal, exame de fezes, ovos bicados e mecônio, também são materiais indicados na monitoria da salmonelose nas granjas avícolas.

Devido a importante participação dos roedores no ciclo de transmissão da Salmonella spp., medidas de controle visando a redução da população de roedores, como o uso de rodenticidas e a manutenção de áreas roçadas e limpas, principalmente ao redor dos núcleos, são necessárias, visto que os roedores por serem potenciais portadores de Salmonella spp., eliminam-nas através das fezes e secreções, contaminando o ambiente criatório e, em especial, a ração das aves. O controle de endo e ectoparasitas também merece atenção nas criações de reprodutores, uma vez que vermes e insetos em geral, podem albergar e servir como fonte de contaminação. Deve ser eliminada a possibilidade de contato entre aves silvestres e/ou de fundo de quintal com as aves de produção, pelas razões anteriormente descritas. O descarte rápido e seguro das aves mortas propicia menor chance de disseminação da Salmonella spp., caso esta esteja presente nas aves mortas.

PREVENÇÃO E CONTROLE – RAÇÃO E MATÉRIA-PRIMA

Como as aves podem ser contaminadas por meio da ração, o controle desta e das matérias-primas utilizadas na sua composição, deve ser rigoroso e eficiente. As matérias-primas de origem animal, principalmente, apresentam-se frequentemente contaminadas por Salmonella spp. Por esta razão, as matérias-primas de origem animal têm sido retiradas das formulações de rações como forma de controle de salmonelose, especialmente em plantéis reprodutores. Outro processo de controle é a peletização da ração, pois a elevação de temperatura tende a reduzir a quantidade de microrganismos viáveis. Alguns programas de controle de rações para reprodutores, além de abolir o uso de proteína de origem animal, indica temperaturas acima de 80oC durante o processo de peletização. O grande inconveniente destes processos é não impedir uma possível recontaminação. O tratamento químico, assim como os anteriores, vem sendo muito utilizado. Produtos comerciais a base de ácidos orgânicos (fórmico, propiônico, acético e lático) podem reduzir a contaminação das rações. As moléculas destes ácidos penetram passivamente nas células bacterianas, promovendo acidificação do citoplasma. Determinam inicialmente a inibição da multiplicação bacteriana, podendo evoluir até a morte celular. O uso do tratamento químico e/ou peletização na fábrica, juntamente com medidas de biosseguridade e melhor fluxograma de produção, corroboram em muito na redução da contaminação da ração.

PREVENÇÃO E CONTROLE – QUIMIOTERAPIA

A medicação preventiva ou terapêutica de aves tem sido um dos processos mais utilizados no controle dos sorovares paratifóides, principalmente Enteritidis. O uso das drogas reduz a mortalidade em quadros agudos e a quantidade de microrganismos, embora não elimine a infecção das aves. Em geral, aves recuperadas da doença por meio do uso de drogas, poderão permanecer portadoras, excretando a bactéria por meio das fezes. Devido a este fato, o uso de drogas deve ser criteriosamente analisado, pois em algumas situações poderá ser agravado o problema. A medicação, quando bem planejada, pode promover grande auxílio na redução da infecção por *S. enteritidis*. Diferentemente da pulorose ou tifo aviário, em que os lotes positivos são descartados, nas infecções paratifóides o uso de drogas é comum. O tratamento é realizado por meio da ração, água de bebida ou injetável. Um dos tratamentos mais difundidos atualmente é o uso de quinolonas durante dez dias consecutivos por meio da ração, seguido ou não do uso de probióticos ou produtos de exclusão competitiva. Esta forma de tratamento tem negativado lotes sorologicamente positivos no teste de pulorose e reduzido a transmissão vertical de *S. enteritidis.*

Além do grave problema de infecção alimentar, sorovares de Salmonella, especialmente Enteritidis, podem apresentar resistência as drogas utilizadas no tratamento. Diversos países já consideram que o uso indiscriminado de antibióticos na produção animal é uma das possíveis causas do aumento da resistência antimicrobiana. Patógenos humanos e genes de resistência podem passar entre humanos, animais e outros ecossistemas, via contato com animais ou através do consumo de alimento ou água contaminados. A Organização Mundial de Saúde recomenda o controle e a restrição do uso de antimicrobianos na produção animal. No Brasil, as tetraciclinas, penicilinas, cloranfenicol, sulfonamidas, furazolidona, nitrofurazona e avoparcina foram banidas em 1998 como aditivos alimentares em rações animais. Entretanto, outras drogas seguem sendo permitidas.

PREVENÇÃO E CONTROLE – EXCLUSÃO COMPETITIVA.

As aves possuem um mecanismo natural de proteção do trato digestivo contra as infecções paratifóides, constituído pela microbiota intestinal normal, responsável pela produção de fatores antimicrobianos como as bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos, que estabelece um sistema de exclusão competitiva. O efeito protetor da microbiota intestinal contra a colonização por patógenos é conhecido há muitos anos e tem sido amplamente aceito. A microbiota intestinal é composta de inúmeras espécies bacterianas, formando um sistema complexo e dinâmico, responsável por influenciar decisivamente fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos no hospedeiro. A administração de microrganismos da microbiota intestinal de aves, por meio dos probióticos ou produtos de exclusão competitiva, pode determinar proteção às aves contra a colonização por alguns patógenos, como Salmonella spp., pois microrganismos benéficos da microbiota intestinal apresentam-se eficientes na ocupação dos sítios de ligação localizados nos enterócitos, realizando portanto uma ocupação

física ou ainda, por meio da produção de algum metabólito que seja tóxico a outros microrganismos.

PREVENÇÃO E CONTROLE – VACINAÇÃO.

A vacinação com cepas homólogas de Salmonella, proporciona redução na colonização intestinal e excreção fecal. Devido a isto, diversas vacinas inativadas oleosas de *S. enteritidis* têm sido licenciadas em alguns países. Estas vacinas reduzem a transmissão transovariana, a contaminação das cascas dos ovos e o isolamento de *S. enteritidis* em aves vacinadas. Entretanto, em galinhas desafiadas, não há eliminação total da bactéria nos órgãos internos, fezes e ovos. A vacina 9R de *S. gallinarum* também confere alguma proteção às poedeiras contra *S. enteritidis*. Outras vacinas vivas produzidas com cepas mutantes de *S. enteritidis* ou mesmo de *S. typhimurium* induzem proteção de longa duração às aves vacinadas. Nunca é demais salientar que o uso de vacinas específicas em poedeiras e reprodutoras é uma das ferramentas possíveis no auxílio ao controle de infecções determinadas por *S. enteritidis*, não substituindo porém, nenhuma das estratégias previstas nos programas de controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andreatti Filho, R.L. Paratifo aviário. In: Andreatti Filho, R.L. Saúde aviária e doenças. São Paulo, SP, Editora Roca Ltda, p.96-111, 2007.
- Berchieri Júnior, A.; Oliveira, G.H. Pulorose. In: Andreatti Filho, R.L. Saúde aviária e doenças. São Paulo, SP, Editora Roca Ltda, p.84-90, 2007.
- Berchieri Júnior, A.; Oliveira, G.H. Tifo aviário. In: Andreatti Filho, R.L. Saúde aviária e doenças. São Paulo, SP, Editora Roca Ltda, p.90-96, 2007.

Regresar a lista de contenidos

BACTERIOPHAGE THERAPY IN BROILERS*

L.R. Bielke, G. Tellez, and B.M. Hargis
Department of Poultry Science, Division of Agriculture
University of Arkansas Fayetteville, Arkansas USA
lbielke@uark.edu

Introduction

Bacteriophages are numerous in the ecosystem and play a central role in bacterial ecology (Ashelford et al., 2000; Brabban et al., 2005; Breitbart et al., 2003; Danovaro et al., 2001; Fuhrman, 1999). Bacteriophages have frequently been isolated from various environmental sources and the gastrointestinal tract of animals (Adams et al., 1966; Bielke et al., 2007a; Breitbart et al., 2003; Callaway et al., 2003, 2006; Dhillon et al., 1976; Filho et al., 2007; Higgins et al., 2008; Klieve & Bauchop, 1988; Klieve & Swain, 1993; Kudva et al., 1999; Orpin & Munn, 1973; Raya et al., 2006; Smith & Huggins, 1982). Breitbart and co-workers (2003) found bacteriopahges to be the second most abundant uncultured biological group in their analysis of human feces and Furhman (1999) suggests that bacteriophages could be responsible for as much as 50% of bacterial death in surface waters. It has been suggested that bacteriophage in cattle help maintain microbial diversity and balance, allowing the ecology of the gut, particularly the rumen, to adapt to changes in feed and water intake (Klieve and Swain 1993; Swain et al., 1996). Bacteriophages lytic for *E. coli* and *Salmonella* were isolated from cattle feedlots with no correlation between presence of *E. coli* O157:H7 or *Salmonella* and bacteriophages against the specific pathogen (Callaway et al., 2006). *Salmonella* targeted bacteriophages were isolated from *Salmonella*-positive poultry farms, with bacteriophages found at only one *Salmonella*-negative farm. A total of seven bacteriophages were isolated from farms that were *Salmonella*-positive, and two bacteriophages from the single *Salmonella*-negative chicken house (Higgins et al., 2008). This might suggest that as environmental *Salmonella* increased, a near-simultaneous increase in bacteriophages may have also occurred. The hypothesis corresponds with other reports where it was found that bacteriophages within treated animals remained in the animal for the duration of the infection, but once the bacterial host was no longer present, the presence of bacteriophages also rapidly dropped (Barrow et al., 1998; Calloway et al., 2003; Hurley et al., 2008; Smith and Huggins, 1987).

---

* Previously published: Bielke, L. R., Tellez, G. I., & Hargis, B. M. (2011). Successes and failures of bacteriophage treatment of Enterobacteriaceae infections in the gastrointestinal tract. In I. Kurtboke (Ed.), *Bacteriophages.* Intech.

Bacteriophages can be regarded as natural enemies of bacteria, and therefore are logical candidates to evaluate as agents for the control of bacterial pathogens. Bacteriophages can be selected to kill bacterial pathogen target cells, and not affect desired bacteria such as starter cultures, commensals in the gastrointestinal tract or on skin, or accompanying bacterial flora in the environment. Bacteriophages harbor the potential for precise targeting of bacterial contamination, without compromising the viability of beneficial microorganisms in the habitat. Additionally, since bacteriophages are generally composed entirely of proteins and nucleic acids, the eventual breakdown products consist exclusively of amino acids and nucleotides, and, unlike antibiotics and antiseptic agents, their introduction into and distribution within a given environment may be seen as a natural process. With respect to their potential application for the biocontrol of pathogens, it should be considered that bacteriophages are the most abundant self-replicating units in our environment, and are present in significant numbers in water and foods of various origins, and most surfaces in our environment (Sulakvelidze and Barrow, 2005). A test of the safety of bacteriophages when administered orally to human volunteers revealed no adverse side effects (Bruttin and Brüssow, 2005). Very low levels of bacteriophage were found in the serum, suggesting low passage from the intestinal lumen to the blood flow, liver enzymes were not affected by bacteriophage ingestion, and no antibodies to the bacteriophages were detected. Mai and co-workers (2010) noted that treatment of mice with anti-*Listeria* bacteriophages did not significantly affect gastrointestinal microflora diversity. Additionally, Carlton et al. (2005) reported no adverse effects in rats after five continuous days of oral bacteriophage administration, suggesting that bacteriophages can in fact be regarded as safe.

Prior to the discovery of antibiotics, bacteriophages were researched as bacterial control agents (For a review, see Alisky et al., 1998). However, a lack of understanding of mechanisms resulted in therapeutic difficulties and resulted in poor experimental results. With an increase in bacterial pathogens that are resistant to traditional antibiotics, the scientific community has developed a renewed interest in using bacteriophages and they are currently being investigated in numerous laboratories and companies as alternative treatments for a variety of problems. Indeed, for some specific applications, bacteriophage therapy holds significant promise, and there is growing evidence that bacteriophage may be effective for some applications, with the caveat that these viruses are incredibly specific by definition, and selection of product for specific applications may be of critical importance.

Successes

The bacteriocidal effects of bacteriophages have long been studied for their usefulness in treating gastrointestinal infections. Early studies originating from the former Soviet Union, Eastern Europe, and Eastern Asia suggested bacteriophages could prevent and treat *Vibrio cholera* infections (Dubos et al., 1943; Dutta, 1963; Marčuk et al., 1971; Sayamov, 1963). In the 1980s, Slopek and co-workers (1983a-b, 1984, 1985a-c, 1987) published numerous papers

showing the promising results of treating septic patients with bacteriophages. While the validity of these studies has been questioned, in part due to relaxed scientific rigor in these regions during the time when these studies were completed (Alisky et al, 1998; Merril et al., 2003) and are not often cited by bacteriophage researchers in recent years, they have served as an inspiration for continued research into the possibility that bacteriophages can cure gastrointestinal diseases in humans and animals.

Some bacteriophage research has also focused on the treatment of animals to cure a variety of diseases. In relatively recent years, Smith and Huggins (1982) compared the efficacy of bacteriophages with that of antibiotics in treating both generalized and cerebral infections in mice. They isolated anti-K1 bacteriophages that were able to lyse K1+ *E. coli*. When administered by intramuscular injection at the same time as, or eight hours after, infection with *E. coli*. These bacteriophages were able to cure infection, even when used at a low titer. The same effects were seen with intracerebrally infected mice treated with bacteriophages 16 hours after infection. The bacteriophages were more effective than numerous types of antibiotics at curing mice. Smith and Huggins (1983) also successfully used bacteriophage therapy to treat calves, pigs, and lambs that had been infected with *E. coli*. They selected a bacteriophage that would lyse *E. coli* and also selected a second bacteriophage that would lyse *E. coli* cultures that had become resistant to the first bacteriophage. Key to the success of this selection method was the idea that, by selecting a bacteriophage that affected the K antigens of *E. coli*, resistance would require a modification to an important component of virulence for the cell. Resistant *E. coli* strains had different colony morphology on agar plates and were K-negative. Treatment consisted of two bacteriophages, one that resulted in a K-negative strain as resistance was developed, and a second to lyse the K-negative cells. The combination of bacteriophages to combat resistance was better able to prevent death in calves with diarrhea than a single bacteriophage or no bacteriophage treatment. Sheng et al. (2006) followed a similar method to select bacteriophages against *E. coli* O157:H7. They selected bacteriophage that attached to LPS on the cell surface so that resistant cells had to change LPS expression with the idea that it would decrease the pathogenicity of the bacteria. Resistant cultures had rough colony morphology instead of the usual smooth mucoid texture of many typical pathogenic Enterobacteriaceae. When bacteriophage KH1, selected to attach to LPS, was administered alone it did not reduce *E. coli* O157:H7 recovery in sheep. However, when combined with another bacteriophage, recovery of *E. coli* O157:H7 was reduced. In 1987, Smith and Huggins used bacteriophages to treat calves with *E. coli*-caused diarrhea. They selected their bacteriophages by administering *E. coli* to a calf followed by a bacteriophage cocktail. Bacteriophages able to survive the gastrointestinal tract were collected in the feces 24 hours post-administration. These bacteriophages were used to treat subsequent calves. Calves given bacteriophages within 24 hours of the onset of diarrhea recovered within 20 hours. Also, sick calves placed on bedding that had been sprayed with bacteriophages recovered from diarrhea.

Smith and Huggins noted that during the period of disease, bacteriophages continued to persist in the feces, but after recovery, bacteriophage numbers dropped dramatically.

Biswas et al. (2002) successfully cured vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*-infected mice with bacteriophage therapy. Mice were treated with bacteriophages just 45 minutes after infection with bacteria. Treatment at a multiplicity of infection (MOI) level of 0.3 to 3.0 was able to cure all of the infected mice. However, lower multiplicity of infection ratios (MOI) of 0.03 to 0.003 resulted in just 60% and 40% survival of mice, respectively. They also noted that bacteriophage treatment could be delayed for up to five hours after infection. However, if treatment was delayed for 18 or 24 hours, only 50% recovery was seen. In other studies, preparations of the appropriate bacteriophage have been able to protect mice and guinea pigs against systemic infections with strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumanii* and have been able to inhibit the rejection of skin grafts caused by *P. aeruginosa* infections (Soothill 1992, 1994). Interestingly, a very low MOI of 10^{-6}, one bacteriophage to one million bacteria, was able to protect mice against infection with *P. aeruginosa* (Soothill, 1992).

While each of these studies was successful at curing the infected animals, treatment was given simultaneously with the bacteria, or just a few hours after infection. These would not be practical conditions for treating disease under real world conditions because it is often not known that an animal is sick until clinical signs are noticed several days after the infection begins. Furthermore, key to the success of these experiements, is knowledge that the selected host is susceptible to the bacteriophage (or combination of bacteriophages) which was administered. As discussed below, multiple researchers have focused on improving food safety by treating animals pre-harvest with bacteriophages targeted against foodborne pathogens.

One such pathogen has been *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants. Much research has investigated the ability of bacteriophages to treat *E. coli* O157:H7 infections in sheep and cattle. Enterohemorrhagic *E. coli*, such as *E. coli* O157:H7, cause severe enterohemorrhagic enteritis, renal uremic syndrome, and are capable of causing death, especially among young children, immune-suppressed individuals, and the elderly (Gyles, 2007; Rangel et al., 2005). Cattle and sheep are the primary sources of waterborne and foodborne cases, and with an infectious dose of approximately 100 cells, control of this pathogen is of utmost importance to meat processors (Besser et al., 1999; Chapman et al., 2001; Grauke et al., 2002; Wells et al., 1991; Zhao et al., 1995). Like other *E. coli*, the primary site of infection for cattle and sheep is the hindgut. Grauke et al. (2002) noted a correlation between positive fecal samples and isolation from the rumen and duodenum while Naylor et al. (2003) found the primary site of infection in the recto-anal junction. Other reports have confirmed the rectum and cecum as primary sites of infection in cattle (Buchko et al., 2000; Dean-Nystrom et al., 1999). These findings suggest that oral bacteriophage treatment, with bacteriophages selected for anaerobic activity, may affect *E. coli*

O157:H7 colonization in sheep and cattle. In fact, multiple studies have focused on the application of anaerobically active bacteriophages to ruminants for the control of *E. coli* O157:H7, as described below.

Bacteriophage CEV1, isolated from sheep with short and transient *E. coli* O157:H7 infections, was found to be lytic against 20 pathogenic strains of *E. coli* and had both aerobic and anaerobic *in vitro* activity. Oral administration of CEV1 to infected sheep, three days post-infection, showed reduced levels of *E. coli* O157:H7 in the ruminal, cecal, and rectal contents two days after bacteriophage treatment (Raya et al., 2006). Similarly, rectal administration of bacteriophage KH1 and SH1 to cattle infected with *E. coli* O157:H7 was able to reduce the levels of recovered pathogen. The same bacteriophages eliminated detectable levels of *E. coli* O157:H7 in mice (Sheng et al., 2006). In 2008 Calloway et al. isolated bacteriophages from cattle feces and noted an effectiveness of these bacteriophages at reducing *E. coli* O157:H7 levels throughout the intestine of sheep. Bacteriophages were selected *in vitro* for their ability to lyse *E. coli* O157:H7, and eight different bacteriophages were included in the culture to combat resistance by the bacteria. While each of these studies effectively reduced the levels of *E. coli* O157:H7 in sheep and cattle, the researchers noted that bacteriophages may not prove a long-term treatment and application should be considered immediately prior to processing for maximum effectiveness. The principle reason for this is that as with antimicrobial chemicals, serial applications have often led to selection of bacteriophage-resistant bacteria.

Like *E. coli* O157:H7, researchers have attempted to reduce multiple serovars of *Salmonella* in poultry, a frequent source of cases of *Salmonella* in humans. *Salmonella enterica* serovars continue to be among the most important foodborne pathogens worldwide due to the considerable human rates of illness reported and the wide range of hosts that are colonized by members of this genus, which serve as vectors and reservoirs for spreading these agents to animal and human populations (CDC 2005, 2006a, b, 2007, 2008a,b). Furthermore, public concern for the appearance of resistant strains to many antibiotics, particularly among zoonotic pathogens such as common *Salmonella* isolates, is also challenging several sectors of agriculture to find alternative means of control (Boyle et al., 2007). In the United States, it is estimated that 1.4 million humans contract salmonellosis and that the annual cost of this illness, including lost productivity, is $3 billion annually (WHO, 2006). In the year 2004, surveillance data indicated that the greatest number of foodborne illnesses was caused by *Salmonella*, comprising 42% of all laboratory diagnoses (FoodNet, 2005). Because many of these illnesses are associated with poultry and poultry products (Bean & Griffin, 1990; Persson & Jendteg, 1992), the reduction of microbial contamination during the production of poultry is important. Further considerations for bacteriophage treatment to control Salmonella in poultry are issues associated with antiobiotic treatment. Poultry harboring *Salmonella* infection can be treated with antibiotics with some success (Goodnough & Johnson, 1991; Muirhead, 1994). However,

Manning and co-workers (1994, 1992) reported increased *Salmonella* colonization when chickens were treated with selected antibiotics, possibly due to reduction of normal bacterial flora in the gastrointestinal tract that serve as a natural barrier to *Salmonella* infection. Additionally, Kobland et al. (1987) and Gast et al. (1988) have recovered antibiotic resistant *Salmonella* from experimentally challenged birds treated with antibiotics. Recently, the United States Food and Drug Administration (FDA) has banned the use of enrofloxacin in poultry production because of concerns regarding an increase in resistant *Campylobacter* infections in humans (FDA, 2005). Recently, a ban on antibiotics and coccidiostats was put in place by European Parliament Council Directive 1831/2003. The regulation stated that antibiotics, other than coccidiostats and histomonostats, had to be removed from feed by the end of 2005, and that anticoccidial substances would be prohibited by 2013. After these dates, medical substances in animal feeds will supposedly be limited to therapeutic use by veterinary prescription (European Parliamant and of the Council, 2003). Thus, it is increasingly important that effective and inexpensive methods or products to treat bacterial infections in food production animals be developed.

Recently, Toro et al. (2005) reported using a combination of bacteriophages and competitive exclusion to treat *Salmonella*-infected chickens. They were able to reduce recovery of *Salmonella* Typhimurium (ST) from the ceca of chickens. In the successful experiments, chickens were challenged with ST during the course of treatment with bacteriophages. However, treatment with bacteriophages was not better than treatment with a competitive exclusion product. And, combination of competitive exclusion and bacteriophages did not further reduce ST recovery. Similarly, Filho and co-workers (2007) reported that administration of bacteriophage cocktails could temporarily reduce the incidence of *Salmonella* recovery in broiler chickens, but by 48 hours post-treatment there was no difference between treated and non-treated controls. Additionally, combining the bacteriophage cocktail with a probiotic culture had no effect on *Salmonella* recovery when compared to bacteriophages alone. The pattern was also noted by Higgins et al. (2007) when *Salmonella* was reduced to zero recovery, but 48 hours after administration recovery from bacteriophage-treated birds increased to higher than non-treated control groups.

In addition to control of paratyphoid *Salmonella*, much research has been completed on the study of bacteriophages in poultry for other diseases. The first reports of bacteriophage therapeutics in poultry were made by d'Herelle in 1922 when he reported successful treatment of at least 19 barnyards affected by fowl typhoid. Bacteriophages administered were selected specifically to target the pathogens involved. The pathogens causing the typhoid were either one or a combination of five different bacterial species. The data reported in these studies is anecdotal, with the statement "The sick recovered and the epizootic stopped at once" comprising all the results for those studies. However, treatment of a highly pathogenic and systemic host-

adapted *Salmonella*, in this case, might be more effective as even a temporary reduction in pathogen levels could buy a critical amount of time for acquired immunity and eventual recovery of infected birds from the disease. This could be distinctly different than the case with the essentially non-pathogenic (for poultry) common paratyphoid isolates that are commonly implicated in food borne disease of humans. Supporting this hypothesis, other attempts to alleviate bacterial disease in poultry have focused on non-paratyphoid *Salmonella*. In 1926, Pyle isolated bacteriophages specific for *Salmonella pullorum* from the feces of birds affected with the disease. He demonstrated that even after 120 passages, strains of bacteriophage that were not initially lytic did not become lytic. Additionally he observed that two bacteriophage strains which were initially lytic became more lytic over 60 serial passages. Two experiments employing the lytic bacteriophages ensued. *Salmonella pullorum* and bacteriophages were injected simultaneously into the pectoral muscle of chickens in one treatment group, with the treated group receiving bacteriophage eight hours post-challenge. When compared to controls that received no bacteriophage treatment, mortality was delayed in both treatment groups. In the second experiment, the bacteriophages and *S. pullorum* were administered or the bacteriophages were administered eight hours post-challenge in the drinking water. Again, when compared to controls which did not receive bacteriophage treatment, the onset of mortality was delayed.

Berchieri et al. (1991) treated birds infected with ST with bacteriophages and found that the levels of ST could be reduced by several logs, and mortality associated with this unusually pathogenic ST was reduced significantly. However, ST was not eliminated, and returned to original levels within six hours of treatment. Also, the bacteriophages did not persist in the gastrointestinal tract for as long as the *Salmonella* was present. In fact, bacteriophages persisted only as long as they were added to the feed. In order to be effective, bacteriophages had to be administered in large numbers, and soon after infection with ST. Similar to reports below (Hurley et al., 2008; reference), the bacteriophages may have been killing the bacteria via lysis from without and, instead of infecting and replicating within the cell, the bacteriophages may have been killing the ST by an excess of penetration from the bacteriophages. This may explain the decline in bacteriophage numbers despite the presence of a host for replication.

Multiple researchers have investigated the possibility of curing *E. coli* infections in poultry. In 1998 Barrow et al. prevented morbidity and mortality in chickens using bacteriophages lytic for *E. coli*. When chickens were challenged intramuscularly with *E. coli* and simultaneously treated with 10^6 – 10^8 pfu of bacteriophages, mortality was reduced by 100%. This study also demonstrated that bacteriophages can cross the blood brain barrier, and furthermore can amplify in both the brain and the blood.

Huff et al. (2003) used bacteriophages to treat airsacculitis caused by *E. coli* in chickens. Marked efficacy was achieved when administering bacteriophage with the bacterial challenge inoculum, by injection in the thoracic air sac. However, drinking water administration of the same bacteriophages was ineffective at preventing the manifestation of the disease syndrome. This indicated that it is important to deliver bacteriophages directly to the site of infection. It was also shown that an aerosol treatment of bacteriophages, followed by an *E. coli* challenge on the same day, the next day, or three days later reduced morbidity and mortality associated with respiratory infection (Huff et al., 2002a). Thus, the study demonstrated a prophylactic ability of bacteriophages in the respiratory tract. However, given the evidence that bacteriophages do not typically remain in an environment without an appropriate host (Ashelford et al., 2000; Fiorentin et al., 2005; Hurley et al., 2008; Oot et al., 2005), prophylaxis could be difficult without continued administration or by knowing an animal had been exposed.

In summary, there are few current reports of efficacy of bacteriophage treatment in chickens other than when treatment was administered at the same time as bacterial challenge or via injection. Outside of experimentally controlled situations, it is not usually possible to treat a disease at the same time as the challenge. Also, it is not practical to treat commercial poultry flocks by individual injection, though highly valuable breeder flocks might warrant the time and money involved. However, such of these limited successes do not necessarily translate into effective enteric treatments. Host-associated pressure against pathogen infections may predispose systemic bacteriophage therapy toward success. In these cases, where bacteriophages are used to treat systemic or tissue-associated infections, an acute efficacy of merely reducing the infection load by 90% or more, could greatly reduce mortality and reduce the duration and magnitude of disease by allowing time for acquired immunity in the animal host. In the intestinal lumen, host pressures against the infection may not be as severe and many Enterobacteriaceae are capable of free living status within the gut without eliciting robust acquired immune responses from the infected animal. In these cases, a temporary reduction in enteric colonization may not be as likely to be curative, as discussed below.

Failures

As the history of published successful bacteriophage treatments of enteric disease is reviewed, it is readily evident that such reports, while often dramatic in effect, are relatively sporadic during the last approximately 60 years. Given that experimental failures frequently are not published, as the cause of failure can often not be ascertained, the authors suspect that history is replete with unpublished examples of failures to treat enteric Enterobacteriaceae infections. Still, some reports of failures, or incomplete successes, have been documented and are described below.

Bacteriophage KH1, shown to lyse 12 of 16 *E. coli* O157 strains tested, originally showed promise as results of *in vitro* tests demonstrated an ability to lyse bacterial cultures, by plaque formation, at both 37 °C and 4 °C (Kudva et al., 1999). However, when administered to *E. coli*

O157:H7 infected sheep, bacteriophage KH1 did not effectively reduce levels of recovered pathogen, despite continued recovery of bacteriophages from the feces for eight days post-treatment (Sheng et al., 2006). Aerobic, instead of anaerobic, selection may have played a key role in the ability of this bacteriophage to effectively eliminate intestinal carriage of *E. coli* O157:H7. Multiple researchers have suggested anaerobic environments can affect bacteriophage activity (Bach et al., 2003; Kudva et al., 1999; Raya et al., 2006; Tanji et al., 2005). When Bach and co-workers (2003) tested the effects of bacteriophage DC22 on *E. coli* O157:H7 in an *in vitro* fermentation system prior to treating infected sheep, bacteriophage DC22 only decreased microbial levels in the artificial ruminant set up at high multiplicities of infection (MOI), and failure of the bacteriophage to replicate and increase PFU over the course of 120 hours suggests that the bacteriophages may have reduced *E. coli* by lysis from without rather than by infecting, replicating within, and lysing the cells. Subsequent *in vivo* studies in sheep did not result in decreased shedding of *E. coli* O157:H7, and bacteriophages were found in the feces for only two days post-treatment. Similarly, Tanji et al., (2005) administered a bacteriophage with promising *in vitro* test results to *E. coli* O157:H7 mice with little success. These studies reinforce the need to understand how *in vitro* conditions relate to the *in vivo* infection parameters and show the need for an appreciation for the ecosystem where the bacteriophage will be used.

In silico modeling was used by Hurley et al. (2008) to predict parameters for treating *Salmonella*-infected chickens with bacteriophage SP6 in an attempt to better comprehend the biological factors of the luminal ecosystem, *Salmonella*, and bacteriophages, and how they interact within the gastrointestinal tract. Among the factors considered were varying growth rates, feed and water intake, and *Salmonella* resistance to the bacteriophages. The results of these *in silico* test results were considered when an *in vivo* challenge was designed. However, after bacteriophage treatment *Salmonella* was detected at levels that did not differ from control groups not treated with bacteriophages. In fact, bacteriophage infection may have selected for resistant bacteria because half of the *Salmonella* isolates from a treated group were resistant to bacteriophage SP6 on day 29, one day after the second dose of bacteriophage treatment. Moreover, many of the *Salmonella* cultured from other samples of bacteriophage-treated birds showed at least a partial resistance to bacteriophages, with only partially clear plaques forming on soft agar overlays when, prior to bacteriophage treatment, the *Salmonella* isolate was susceptible and clear plaques routinely formed on soft agar overlays. The authors also noted a steady decrease in bacteriophage excretion, despite continued high levels of *Salmonella* recovery within the cecum. This data is similar to the results of Fiorentin et al. (2005), where *Salmonella* continued to be detected 21 days after inoculation, but bacteriophage levels had declined to undetectable levels. In another related study, bacteriophage treatment resulted in higher levels of *Salmonella* recovery in turkeys 48 hours post-treatment after an initial decrease in *Salmonella* at 6, 12, and 24 hour post-treatment time points (Higgins et al., 2007). These bacteriophages were selected for ability to survive low pH, to simulate passage through the ventriculus of poultry, and were

administered with $Mg(OH)_2$ to aid adhesion of bacteriophages to the cell walls of bacteria (Eisenstark, 1967). The authors also noted that bacteriophage resistance was common in all cultures.

Our laboratory and others have demonstrated that resistance to bacteriophages selected against *Salmonella* isolates quickly occurs, often in a single passage (Bastias et al., 2010; Hurley et al., 2008; Fiorentin et al., 2005). When bacteriophage cocktails of 71 different bacteriophages selected for treatment of experimental *Salmonella enteritidis* infections in chickens, a brief reduction in enteric colonization was noted during the first 24 hours, but rebound levels were similar to controls within 48 hours, even with repeated or continuous dosage of the bacteriophage cocktail (Higgins et al., 2007). Because of the demonstrated temporary reduction in enteric colonization in these studies, effective bacteriophages were demonstrably able to pass to the lower gastrointestinal tract. As continued treatments failed to maintain this reduction, development of resistance by the enteric *Salmonella enteritidis* is the most likely explanation.

In order to potentially deliver higher levels of bacteriophage, several attempts to protect the bacteriophage cocktail through the upper gastrointestinal tract were made in our laboratory. Pre-treatment of infected poultry with antacid preparations designed to reduce the acidity of the proventriculus (the true stomach of birds) were successful in increasing the number of administered bacteriophage that successfully passed into the intestinal tract, but this treatment did not improve the outcome of bacteriophage treatment of *Salmonella enteritidis* infection (Higgins et al., 2007).

An alternative approach is to select for alternative non-pathogenic bacteriophage hosts which could potentially "carry" bacteriophage through the gastrointestinal tract and, with continuous dietary administration of the non-infected alternative host bacterium, provide a means of amplification within the gut of the host (Bielke et al., 2007a). Bielke and co-workers (2007b) demonstrated that non-pathogenic alternative hosts can be selected for some bacteriophages that were originally isolated using a *Salmonella enteritidis* target. This approach, which has potential utility for amplification of large numbers of phage without the necessity to thoroughly separate bacteriophage from a pathogenic target host, was also used to create a potential "Trojan Horse" model for protecting the bacteriophages through the upper gastrointestinal tract, thus potentially providing a vehicle for enteric amplification of those surviving bacteriophages. In these studies, neither the Trojan Horse approach, nor the continuous feeding of the alternative host bacteria as a source of enteric amplification, were effective in producing even more than a transient reduction in enteric *Salmonella* infections.

Through these failures, many investigators have concluded that the escape of even a minority of target bacteria within the enteric ecosystem allows for almost immediate selection of resistant

target bacteria and rebound to pre-treatment levels of infection may even exceed the levels of non-treated controls in some cases.

Potential Strategies to Overcome Failures

Bacteriophage resistance is an important component of therapy to overcome before bacteriophages can really be a viable antimicrobial for infection. The generation time for bacteria is typically short enough that mutants with bacteriophage resistance can emerge within hours (Higgins et al., 2007; Lowbury and Hood, 1953). One possibly strategy to overcome this problem is administration of multiple bacteriophage isolates for treatment. Smith and Huggins (1983) selected a bacteriophage against *E. coli* K^+, and then subsequently selected a bacteriophage against a resistant strain of *E. coli* K^+. The combination of these two bacteriophages reportedly cured calves, pigs, and lambs of intestinal colibacillosis. Despite this success, resistance is difficult, if not impossible, to predict and combining the correct cocktail of bacteriophages to overcome resistance would be a blind guess in most cases. This, combined with the highly selective nature of individual bacteriophage isolates and even cocktails, as described above, is discouraging from the perspective of enteric therapeutic development, especially for very low level or opportunistic pathogens.

The most success is likely to come from treating points in the system that are continually bombarded with bacteria that have not been previously subjected to the bacteriophages being used for treatment. Also important for this system is keeping exposure of the bacteria to bacteriophages to a minimal amount of time. If the bacteriophages interact with the bacteria for long periods of time, the bacteria will become resistant as repeatedly demonstrated in the above discussion. Food and meat processing facilities are an excellent example. As live animals enter a slaughter/processing facility, the bacteria have not likely been exposed to the bacteriophages used to treat the infection, thus greatly increases the chances of success. Similar potential exists for hatchery applications, and applications to food products, as discussed below.

Higgins and co-workers (2005) successfully treated turkey carcasses at a processing facility with bacteriophages specific to the *Salmonella* to which they were infected. This process was effective when either an autogenous bacteriophage treatment targeted to the specific *Salmonella* strain infecting the turkeys was used, or a cocktail of nine wide host-range *Salmonella*-targeting bacteriophage were used. Similarly, a bacteriophage treatment for cattle carcass contamination has been effective at reducing the *E. coli* 0157:H7 load at processing has been developed and commercially licensed in the United States. These successes avoid development of bacteriophage resistance by applying treatment at a single point during production, in an environment where proliferation of the target organism is extremely limited. In this way, since the target organism is never intentionally exposed twice to the same treatment,

resistance is unlikely to ever increase beyond the naturally-occurring resistance to the bacteriophage (or cocktail) used.

One of the most well documented successes of published treatment of enteric Enterobacteriaceae infections with bacteriophages was the study of Smith and Huggins (1983) as described above. It is notable that in this successful study, the bacteriophage cocktail used was a combination of two bacteriophages, but the second was isolated using the target organism which was resistant to the first bacteriophage. This approach of selecting for bacteriophage isolates using target bacteria that are resistant to sequential bacteriophage treatments was not used in the work of Higgins et al. (2007), or in several other published studies. Higgins and co-workers (2007) used a collection bacteriophages, independently isolated from different sources and with several different plaque morphologies, suggesting that a number of different bacteriophages were employed – and failed to persistently reduce enteric colonization. Similarly, application of a bacteriophage combination failed to reduce *S.* Enteritidis PT4 infections in broilers (Fiorentin et al., 2005). However, some cocktails have been successful. A combination of three bacteriophages isolated from feces of patients infected with *E. coli* O157:H7 were applied to contaminated processed beef for reduction of the pathogen (O'Flynn et al., 2004). In 2006, Sheng et al. reported that a combination of two bacteriophages worked better at reducing *E. coli* O157:H7 in ruminants than each bacteriophage administered solely. Perhaps, with a defined method to select for bacteriophages that have become resistant to bacteriophages, a combination can overcome the resistance issue. However, the resistance acquired by the pathogen would have to be predictable and consistent. Smith and Huggins (1983) method to first apply a bacteriophage specific for an antigen on the cell surface was successful, and may prove to be a procedure that could consistently overcome the issue of resistance in bacteriophage therapy. However, the ability to simultaneously target a broad range of wild-type isolates under field conditions has not been explored.

It is possible that one of the most notable exceptions to the many failures to treat enteric Enterobacteraceae infections during recent years, that of Smith and Huggins (1983), provides a singular clue as to the potential for enhancing the likelihood of enteric Enterobacteriaceae efficacy. It is possible that selection of multiple bacteriophages for the same target cell phenotype results in selection of bacteriophages that are effective through identical mechanisms of adhesion, penetration, replication, and release. When new bacteriophages are isolated for efficacy against sequentially resistant isolates of the target bacteria, and these are combined for administration as a cocktail, the ability of the target cell to shift phenotype may be severely limited, resulting in a much larger proportion of target cell reduction, thereby increasing the probability of elimination or cure. Multiple researchers have noticed a change in colony morphologies of *E. coli* that had become resistant to bacteriophages selected to adhere to key-components of pathogenicity of the organism, such as lipopolysaccharides (O'Flynn et al., 2004;

Sheng et al., 2006). This change in morphology may relate to a decreased ability to cause infection because the bacteria may be inhibited as a result of the bacteriophage resistance.

Another consideration for bacteriophage treatment could be the application of bacteriophages to foods post-processing. Multiple researchers have noticed a successful reduction of foodborne pathogens on meats, and fruits (Bielke et al., 2007c; Higgins et al., 2005; Leverentz et al., 2001, 2003; O'Flynn et al., 2004). Treating processed poultry carcasses with different bacteriophages was able to eliminate *Salmonella enteritidis* (Bielke et al., 2007c) or field isolates of *Salmonella* to below detection limits (Higgins et al., 2005). A mixture of three different bacteriophages reduced the levels of *E. coli* O157:H7 detected on processed beef, though the bacteriophage treatment was not as effective at temperatures below 30 °C, making them ineffective at refrigeration temperatures (O'Flynn et al., 2004). Leverentz et al. (2001, 2003) successfully reduced the levels of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* on selected fruits with bacteriophage application. A loss of effectiveness was seen on cut fruits, possibly due to low pH of the fruit flesh. While this research appears promising, the studies do not report the long-term susceptibility of the contaminating bacteria to the bacteriophages. Perhaps, selection of a cocktail of bacteriophages to combat resistance, and for the ability to lyse bacteria at refrigeration temperatures could result in successful reduction of these foodborne pathogens.

Conclusions

While bacteriophage treatment of enteric infections has had some success, failures do occur and the system has not yet been perfected. Chemical antibiotics are often effective against multiple species of bacteria and do not require specific selection to treat infections. Unlike bacteriophages, which tend to be at least somewhat host specific and may not even kill bacterial isolates within the same species. Still, with the rise of antibiotic resistance, bacteriophages may be able to offer a line of defense in situations for which antibiotics are not available, or are not effective. For example, with the restriction or elimination of antibiotics usage in food animals, researchers have been investigating the possibility of bacteriophages to control foodborne pathogens. With the realization that resistance of pathogenic isolates of bacteria to bacteriophages can, and do, emerge, perhaps the best application would be to apply the bacteriophages immediately prior to slaughter. Thus, the pathogen could be effectively reduced in the gastrointestinal tract, and subsequently reduce the risk of contamination during processing. With the frequency of reported failures, and the assumption that many are not reported, bacteriophage therapeutics has not been perfected well enough for widespread application. In addition to resistance, safety, specificity, and long-term effectiveness must be demonstrated, and although several products have been licensed in the United States and elsewhere, procedures for demonstration of these characteristics are not well established, providing an additional regulatory burden for commercialization.

Clearly, widespread bacteriophage treatments with Enterobacteriaceae within the gastrointestinal tract have not been adopted for any animal species during the last 60 years and successful research in this area has been modest and sporadic. Nevertheless, the occasional reports by reputable scientists in solid journals must indicate that there is potential for improved therapeutic efficacy of bacteriophages for this purpose. With the diminution of new antimicrobial pharmaceuticals and the widespread resistance among many pathogenic enteric Enterobacteriaceaes, a breakthrough in this area is sorely needed.

References

1. Adams, J.C.; Gazaway, M.D.; Brailsford, M.D.; Hartman, P.A. & Jacobson, N.L. (1966) Isolation of bacteriophages from the bovine rumen. *Experientia* Vol. 22, No. 11, pp. 717-718.
2. Alisky, J.; Iczkowski, K.; Rapoport, A. & Troitsky, N. (1998) Bacteriophage show promise as antimicrobial agents. *Journal of Infection* Vol. 36, pp. 5-15.
3. Ashelford, K.E.; Norris, S.J.; Fry, J.C.; Bailey, M.J. & Day, M.J. (2000) Seasonal population dynamics and interactions of competing bacteriophages and their host in the rhizosphere. *Applied Environmental Microbiology* Vol. 66, pp. 4193–4199.
4. Bach, S.A.; McAllister, T.A.; Veira, D.M.; Gannon, V.P.J. & Holley, R.A. (2003) Effect of bacteriophage DC22 on *Escherichia coli* O157:H7 in an artificial rumen system (Rusitec) and inoculated sheep. *Animal Research* Vol. 52, pp. 89-101.
5. Barrow, P.; Lovell, M. & Berchieri, Jr, A. (1998) Use of Lytic Bacteriophages for Control of Experimental *Escherichia coli* Septicemia and Meningitis in chickens and calves. *Clin Diag Lab Immun* Vol. 5, pp. 294-298.
6. Bastias, R.; Higuera, G.; Sierralta, W. & Espejo, R.T. (2010) A new group of cosmopolitan bacteriophages induce a carrier state in the pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Eniviron Microbiol* Vol. 12, pp. 990-1000.
7. Bean, N.H. and P.M. Griffin, 1990. Food-borne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: Pathogens and trends. J. Food Prot., 53: 804.
8. Berchieri, A, MA Lovell, and PA Barrow, 1991. The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Res Microbiol* 142: 541-549
9. Besser, R.E.; Griffin, P.M. & Slutsker, L. (1999) *Escherichia coli* O157:H7 gastroenteritis and hemolytic uremic syndrome: an emerging infectious disease. *Annu Rev Med* Vol. 50, pp. 355-367.
10. Bielke, L.R.; Higgins, S.E.; Donoghue, A.M.; Kral, T.; Donoghue, D.J.; Hargis, B.M. & Tellez, G.I. (2007a) Evaluation of alternative host bacteria as vehicles for oral administration of bacteriophages. *Int J Poult Sci* Vol. 6, pp. 758-761.
11. Bielke, L.; Higgins, S.; Donoghue, A.; Donoghue, D; & Hargis, B.M. (2007b) *Salmonella* host range of bacteriophages that infect multiple genera. *Poult Sci* Vol. 86, pp. 2536–2540.
12. Bielke, L.R.; Higgins, S.E.; Donoghue, A.M.; Donoghue, D.J.; Hargis, B.M. & Tellez, G. (2007c) Use of wide-host-range bacteriophages to reduce *Salmonella* on poultry products. *International Journal of Poultry Science* Vol. 6, pp. 754-757.
13. Biswas, B.; Adhya, S.; Washart, P.; Paul, B.; Trostel, A.N.; Powell, B.; Carlton, R. & Merril, C.R. (2002) Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immunol* Vol. 70, pp. 204-210.
14. Boyle, E. C.; Bishop, J. L.; Grassl, G. A.; & Finlay, B. B. (2007). *Salmonella*: From pathogenesis to therapeutics. *Journal of Bacteriology* Vol. 189, No. 5, pp. 1489-1495.

15. Brabban, A.D.; Nelson, D.A.; Kutter, E.; Edrington, T.S. & Callaway, T.R. (2004) Approaches to controlling *Escherichia coli* O157:H7, a food-borne pathogen and an emerging environmental hazard. *Environ Pract* Vol. 6, pp. 208–229.
16. Breitbart, M.; Hewson, I.; Felts, B.; Mahaffy, J.M.; Nulton, J.; Salamon, P. & Rohwer, F. (2003) Metagenomic analyses of an uncultured viral community from human feces. *Journal of Bacteriology* Vol. 185, pp. 6220–6223.
17. Bruttin A. & Brüssow, H. (2005) Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Vol. 49, Iss. 7, pp. 2874–2878
18. Buchko, S.J.; Holley, R.A.; Olson, W.O.; Gannon, V.P. & Veira, D.M. (2000) The effect of different grain diets on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by steers. *Journal of Food Protection* Vol. 63, pp. 1467–1474.
19. Callaway, T.R.; Elder, R.O.; Keen, J.E.; Anderson, R.C. & Nisbet, D.J. (2003) Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle: a review. *Journal of Dairy Science* Vol. 86, pp. 852-860.
20. Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Brabban, A.D.; Keen, J.E.; Anderson, R.C.; Rossman, M.L.; Engler, M.J.; Genovese, K.J.; Gwartney, B.L.; Reagan, J.O.; Poole, T.L.; Harvey, R.B.; Kutter, E.M. & Nisbet, D.J. (2006) Fecal prevalence of *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, *Listeria*, and bacteriophage infecting *E. coli* O157:H7 in feedlot cattle in the southern plains region of the United States. *Foodborne Pathogens and Disease* Vol. 3, Iss. 3, pp. 234-244.
21. Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Brabban, A.D.; Anderson, R.C.; Rossman, M.L.; Engler, M.J.; Carr, M.A.; Genovese, K.J.; Keen, J.E.; Looper, M.L.; Kutter, E.M. & Nisbet, D.J. (2008) Bacteriophages isolated from feedlot cattle can reduce *Escherichia coli* O157:H7 populations in ruminant gastrointestinal tracts. *Foodborne Pathogens and Disease* Vol. 5, Iss. 2, pp. 183-191.
22. Carlton, R.M.; Noordman, W.H.; Biswas, B.; deMeester, E.D. & Loessner, M.J. (2005) Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: genome sequence, bioinformatics analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* Vol. 43, Iss. 3, pp. 301-312.
23. CDC (2005) Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium associated with rodents purchased at retail pet stores – United States, December 2003-October 2004. *MMWR* Vol. 57, No. 17, pp. 429-433.
24. CDC, (2007a) Three outbreaks of salmonellosis associated with baby poultry from three hatcheries – United States, 2006. *MMWR* Vol. 56, No. 12, pp. 273-276.
25. CDC (2007b) *Salmonella* Oranienburg infections associated with fruit salad served in health-care facilities – Northeastern United States and Canada, 2006. *MMWR* Vol. 56, No. 39, pp. 1025-1028.
26. CDC (2008a) Multistate outbreak of human *Salmonella* infections associated with exposure to turtles – United States, 2007-2008. *MMWR* Vol. 57, No. 3, pp. 69-72.
27. CDC (2008b) Multistate outbreak of human *Salmonella* infections caused by contaminated dry dog food --- United States, 2006—2007. *MMWR* Vol. 57, No. 19, pp. 521-524
28. Chapman, P.A.; Cerdan Malo, A.T.; Ellin, M.; Ashton, R. & M.A. Harkin (2001) *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int. J. Food Microbiol* Vol. 64, pp. 139–150.
29. Danovaro, R.; Dell'Anno, A.; Trucco, A.; Serresi, M. & Vanucci, S. (2001) Determination of virus abundance in marine sediments. *Appl Environ Microbiol* Vol. 67, pp. 1384–1387.
30. Dean-Nystrom, E.A.; Bosworth, B.T.; & Moon, H.W. (1999) Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 in weaned calves. *Adv. Exp. Med. Biol.* Vol. 473, pp. 173–177.
31. Dhillon, T.S.; Dhillon, E.K.; Chau, H.C.; Li, W.K. & Tsang, A.H. (1976) Studies on bacteriophage distribution: virulent and temperate bacteriophage content of mammalian feces. *Appl Environ Microbiol* Vol. 32, pp. 68–74.
32. Dubos, R.J.; Straus, J.H. & Pierce, C. (1943) The multiplication of bacteriophage *in vivo* and its protective effect against an experimental infection with *Shigella dysenteriae*. *J Exp Med* Vol. 78, pp. 161–168.

33. Dutta, N.K. (1963) An experimental study on the usefulness of bacteriophage in the prophylaxis and treatment of cholera. *Bull Org mond Santé Bull Wld Hlth Org* Vol. 28, pp. 357-360.
34. Eisenstark, A. (1967) Bacteriophage Techniques. In: Methods in Virology, pp: 449-524.
35. European Parliamant and of the Council (2003) http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32003R1831:EN:HTML.
36. Filho, R.L.A.; Higgins, J.P.; Higgins, S.E.; Gaona, G.; Wolfenden, A.D.; Tellez, G. & Hargis, B.M. (2007) Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* serovar Enteritidis *in vitro* and *in vivo*. *Poultry Science* Vol. 86, pp. 1904-1909.
37. Fiorentin, L.; Vieira, N.D. & Barioni, W. (2005) Oral treatment with bacteriophages reduces the concentration of *Salmonella* Enteritidis PT4 in caecal contents of broilers. *Avian Pathology* Vol. 34, pp.258–263.
38. Food and Drug Administration, U.S. (2005) FDA Announces Final Decision About Veterinary Medicine. P05-48, Docket No. 2000N-1571.
39. FoodNet (2005) Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food---10 Sites, United States, 2004. *Morbidity and Mortality Weekly Report* Vol. 54, pp. 352-356.
40. Fuhrman, J.A. (1999) Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* Vol. 399, pp. 541–548.
41. Gast, R.K.; Stephens, J.F. & Foster, D.F. (1988) Effect of kanamycin administration to poultry on the proliferation of drug-resistant *Salmonella*. *Poultry Sciecne* Vol. 67, pp. 699.
42. Goodnough, M.C. & Johnson, E.A. (1991) Control of *Salmonella enteritidis* infections in poultry by polymyxin B and trimethoprim. *Appl. Enviro. Micro* Vol. 57, pp. 785.
43. Grauke, L.J.; Kudva, I.T.; Yoon, J.W.; Hunt, C.W.; Williams, C.J. & Hovde, C.J. (2002) Gastrointestinal tract location of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants. *Appl Environ Microbiol* Vol. 68, pp. 2269-2277.
44. Gyles, C.L. (2007) Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science* Vol. 85E, pp. 45-62.
45. Higgins, J.P.; Higgins, S.E.; Guenther, K.L.; Newberry, L.A.; Huff, W.E. & Hargis, B.M. (2005) Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry. *Poult Sci* Vol. 84, pp. 1141-1145.
46. Higgins, J.P.; Andreatti Filho, R.L.; Higgins, S.E.; Wolfenden, A.D.; Tellez, G. & Hargis, B.M. (2008) Evaluation of *Salmonella*-lytic properties of bacteriophages isolated from commercial broiler houses. *Avian Diseases* Vol. 52, pp. 139-142.
47. Higgins, S.E.; Higgins, J.P.; Bielke, L.R. & Hargis, B.M. (2007) Selection and application of bacteriophages for treating *Salmonella enteritidis* infections in poultry. *Int J Poult Sci* Vol. 6, pp. 163-168.
48. Huff, W.E.; Huff, G.R.; Rath, N.C.; Balog, J.M. & Donoghue, A.M. (2002a) Prevention of *Escherichia coli* infection in broiler chickens with a bacteriophage aerosol spray. *Poult Sci* Vol. 81, pp. 1486-1491.
49. Huff, W.E.; Huff, G.R.; Rath, N.C.; Balog, J.M.; Xie, H.; Moore, Jr, P.A.; & Donoghue, A.M. (2002b) Prevention of *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens with bacteriophage (SPR02). *Poult Sci* Vol. 81, pp. 437-441.
50. Huff, W.E.; Huff, G.R.; Rath, N.C.; Balog, J.M. & Donoghue, A.M. (2003a). Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an *Escherichia coli* respiratory infection. *Poult Sci* 82: 1108-1112
51. Huff, W.E.; Huff, G.R.; Rath, N.C.; Balog, J.M. & Donoghue, A.M. (2003b) Bacteriophage treatment of severe *Escherichia coli* respiratory infection in broiler chickens. *Avian Dis* 47: 1399-1405
52. Hurley, A.; Maurer, J.J. & Lee, M.D. (2008) Using bacteriophages to modulate *Salmonella* colonization of the chicken's gastrointestinal tract: lessons learned from *in silico* and *in vivo* modeling. *Avian Diseases* Vol. 52, pp. 599-607.

53. Klieve, A.V. & Bauchop, T. (1988) Mophological diversity of ruminal bacteriophages from sheep and cattle. *Appl Environ Microbiol* Vol. 54, pp. 1637-1641.
54. Klieve, A.V. & Swain, R.A. (1993) Estimation of ruminal bacteriophage numbers by pulsed-field gel electrophoresis and laser densitometry. *Appl. Environ. Microbiol* Vol. 59, pp. 2299–2303.
55. Kobland, J.D.; Gale, G.O.; Gustafson, R.H. & Simkins, K.L. (1987) Comparison of therapeutic versus subtherapeutic levels of chlortetracycline in the diet for selection of resistant *Salmonella* in experimentally challenged chickens. *Poultry Science* Vol. 66, pp. 1129.
56. Kudva, I.T.; Jelacic, S.; Tarr, P.I.; Youderian, P. & Hovde, C.J. (1999) Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. *Appl Environ Microbiol* Vol. 65, pp. 3767-3773.
57. Leverentz, B.; Conway, W.S.; Alavidze, Z.; Janisiewicz, W.J.; Fuchs, Y.; Camp, M.J.; Chigladze, E. & Sulakvelidze, A. (2001) Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh fruit: a model study. *Journal of Food Protection* Vol. 64, pp. 1116-1121.
58. Leverentz, B.; Conway, W.S.; Camp, M.J.; Janisiewicz, W.J.; Abuladze, T.; Yang, M.; Saftner, R. & Sulakvelidze, A. (2003) Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacterosin. *Appl Enviro Microbiol* Vol. 69, pp. 4519-4526.
59. Lowbury, E.J. & Hood, A.M. (1953) The acquired resistance of *Staphylococcus aureus* to bacteriophage. *J Gen Microbiol* Vol. 9, pp. 524-535.
60. Mai, V.; Ukhanova, M.; Visone, L.; Abuladze, T. & Sulakvelidze,A. (2010) Bacteriophage administration reduces the concentration of *Lisateria monocytogenes* in the gastrointestinal tract and its translocation to spleen and liver in experimentally infected mice. *Int J Microbiol* Article ID 624234 doi:10.1155/2010/624234.
61. Manning, J.G.; Hargis, B.M.; Hinton, A.; Corrier, D.E.; DeLoach, J.R. & Creger, C.R. (1992) Effect of nitrofurazone or novabiocin on *Salmonella enteritidis* cecal colonization and organ invasion in leghorn hens. *Avian Diseases* Vol. 36, pp. 334.
62. Manning, J.G.; Hargis, B.M.; Hinton, A.; Corrier, D.E.; DeLoach, J.R. & Creger, C.R. (1994) Effect of selected antibiotics and anticoccidials on *Salmonella enteritidis* cecal colonization and organ invasion in Leghorn chicks. *Avian Diseases* Vol. 38, pp. 256.
63. Marčuk, L.M.; Nikiforov, V.N.; Ščerbak, Ja.F.; Levitov, T.A.; Kotljanova, R.I.; Nanmŝina, M.S.; Davydov, S.U.; Monsur, K.A.; Rahman, M.A.; Latif, M.A.; Northrup, R.S.; Cash, R.A.; Huq, I.; Dey, C.R. & Phillips, R.A. (1971) Clinical studies in the use of bacteriophage in the treatment of Cholera. *Bull Org mond Santé Bull Wld Hlth Org* Vol. 45, pp. 77-83.
64. Merril, C.R.; Scholl, D. & Adhya, S.L. (2003) The prospect for bacteriophage therapy in Western medicine. *Nat Rev* Vol. 2, pp. 489-497.
65. Muirhead, S. (1994) Feed Additive Compendium. Miller Publishing, Minneapolis, MN.
66. Naylor, S.W.; Low, J.C.; Besser, T.E.; Mahajan, A.; Gunn, G.J.; Pearce, M.C.; McKendrick, I.J.; Smith, D.G.E. & Gally, D.L. (2003) Lymphoid Follicle-Dense Mucosa at the Terminal Rectum Is the Principal Site of Colonization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the Bovine Host. *Infection and Immunity* Vol. 71, Iss. 3, pp. 1505-1512.
67. O'Flynn, G.; Ross, R.P.; Fitzgerald, G.F. & Coffey, A. (2004) Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol* Vol. 70, pp. 3417-3424.
68. Oot, R.A.; Raya, R.R.; Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Kutter, E.M. & Brabban, A.D. (2007) Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7-infecting bacteriophages in feedlot cattle feces. *Letters in Applied Microbiology* Vol. 45, pp. 445-453.
69. Orpin, C.G. & E.A. Munn (1973) The occurrence of bacteriophages in the rumen and their influence on rumen bacterial populations. *Experentia* Vol. 30, pp. 1018-1020.
70. Persson, U. & Jendteg, S.U. (1992) The economic impact of poultry-borne salmonellosis: how much should be spent on prophylaxis? *Int. J. Food Micro.* Vol. 15, pp. 207.

71. Pyle, N.J. (1926) The bacteriophage in relation to *Salmonella Pullora* infection in the domestic fowl. *J Bacteriol* Vol. 12, pp. 245-261.
72. Rangel, J.M.; Sparling, P.H.; Crowe, C.; Griffin, P.M.; & Swerdlow, D.L. (2005) Epidemiology of *Escherichia coli* 0157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerging Infectious Disease* Vol. 11, pp. 603-609.
73. Raya, R.R.; Varey, P.; Cot, R.A.; Dyen, M.R.; Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Kutter, E.M.; and Brabban, A.D. (2006) Isolation and characterization of a new T-even bacteriophage, CEV1, and determination of its potential to reduce *Escherichia coli* O157:H7 levels in sheep. *Appl Environ Microbiol* Vol. 72, No. 9, pp. 6405-6410.
74. Smith, H.W. & Huggins, M.B. (1982) Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infection in mice using phage: its general superiority over antibiotics. *J Gen Microbiol* Vol. 128, pp. 307-318.
75. Smith, H.W. & Huggins, M.B. (1983) Effectiveness of phages in treating experimental *Escherichia coli* diarrhea in calves, piglets, and lambs. *J Gen Microbiol* 129: 2659-2675
76. Smith, H.W.; Huggins, M.B. & Shaw, K.M. (1987) The control of experimental *Escherichia coli* diarrhea in calves by means of bacteriophages. *J Gen Microbiol* Vol. 133, pp. 1111-1126.
77. Sayamov, R.M. (1963) Treatment and prophylaxis of Cholera with bacteriophage. *Bull Org mond Santé Bull Wld Hlth Org* Vol. 28, pp. 361-367.
78. Sheng, H.; Knecht, H.J.; Kudva, I.T. & Hovde, Q. (2006) Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Appl Environ Microbiol* Vol. 72, pp. 5359-5366.
79. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M. & Bisikiewicz, R. (1983a) Results of bacteriophage treatment of supperative bacterial infections. I. General evaluation of the results. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 31, pp. 267-91.
80. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M. & Bisikiewicz, R. (1983b) Results of bacteriophage treatment of supperative bacterial infections. II. Detailed evaluation of the results. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 31, pp. 293-327.
81. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M.; & Bisikiewicz, R. (1984) Results of bacteriophage treatment of supparative bacterial infections. III. Detailed evaluation of the results obtained in further 150 cases. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 32, pp. 317-35.
82. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M. & Bisikiewicz, R. (1985a) Results of bacteriophage treatment of supparative bacterial infections. IV. Evaluation of the results obtained in 370 cases. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 33, pp. 219-40.
83. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M. & Bisikiewicz, R. (1985b) Results of bacteriophage treatment of supparative bacterial infections. V. Evaluation of the results obtained in children. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 33, pp. 241-59.
84. Slopek, S.; Durlakowa, I.; Weber-Dabrowska, B.; Kucharewicz-Krukowska, A.; Dabrowski, M. & Bisikiewicz, R. (1985c) Results of bacteriophage treatment of supparative bacterial infections. VI. Analysis of treatment of suppurative staphylococcal infections. *Arch Immunol Ther Exp* Vol. 33, pp. 261-73.
85. Slopek, S.; Weber-Dabrowska, B.; Dabrowski, M. & Kucharewicz-Krukowska, A. (1987) Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981 – 1986. *Arch Immunol Ther Ex* Vol. 35, pp. 569-583.
86. Soothill, J.S. (1992) Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *J Med Microbiol* Vol. 37, pp. 258-261.
87. Soothill, J.S. (1994) Bacteriophage prevents destruction of skin grafts by *Pseudomonas aeruginosa*. *Burns* Vol. 20, pp. 209-211.
88. Swain, R.A.; Nolan, J.V. Klieve, A.V. (1996) Natural variability and diurnal fluctuations within the bacteriophage population of the rumen. Appl Environ Microbiol 62, 994–997.

89. Tanji, Y.; Shimada, T.; Fukudomi, H.; Miyanaga, K.; Nakai, Y. & Unno, H. (2005) Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *J Biosci Bioeng* Vol. 100, pp. 280-287.
90. Toro, H.; Price, S.B.; McKee, S.; Hoerr, F.J.; Krehling, J.; Perdue, M. & Bauermeister, L. (2005) Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. *Avian Diseases* Vol. 49, No. 1, pp. 118-124.
91. Wells, J.G.; Shipman, L.D.; Greene, K.D.; Sowers, E.G.; Green, J.H.; Cameron, D.N.; Downes, F.P.; Martin, M.L.; Griffin, P.M. & Ostroff, S.M. (1991) Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxinproducing *E. coli* from dairy cattle. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 29, pp. 985–989.
92. World Health Organization (2006) Subject: Drug resistant *Salmonella*. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/
93. Zhao, T.; Doyle, M.P.; Shere, J. & Garber, L. (1995) Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Appl. Environ Microbiol* Vol. 61, pp. 1290–1293.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO DEL QUITOSÁN Y ÁCIDOS ORGÁNICOS CONTRA *SALMONELLA EN* CARNE POLLO, BOVINO Y CERDO

Prado-Rebolledo OF[1*]; Avalos RJMS[1]; Morales BJE[2]., Tellez IG[3]; Hargis B[3]; García MLJ[4]; Macedo BRJ[1].

[1]Universidad de Colima. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Autopista Colima-Manzanillo km. 40 Crucero de Tecomán, Colima. C.P. 28100. Correo electrónico:
[2]Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana, México D .F. 04960.
[3]Department of Poultry Science.University of Arkansas Fayetteville, AR 72701.
[4]Universidad de Colima. CUIDA.
*omarpr@ucol.mx

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efectos de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de *Salmonella typhimurium(ST)* sobre la piel de pollos y carne de bovino y cerdo. La piel y la carne se cortaron en trozos pequeños (aproximadamente dos cm^2) de forma aséptica. Se realizó un diseño completamente al azar de tres tratamientos con cinco repeticiones las cuales se sumergieron en una solución con 10^8 cfu/mL de ST por 30'', y posteriormente se sumergieron por 30'' en solución con: SSF (T1)); 2) 0.5 % quitosán (T2); ó 3) Una solución con 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de ácido propiónico y 0.5 % de ácido cítrico (T3). Cada muestra se sembró por triplicado. Las cajas petris se incubaron a 37º C por 24 h, después de esto cada colonia viable se observó y se contaron las colonias. Se observó que tanto los AO (ácidos orgánicos) al 0.5 %, así como el quitosán al 0.5 %, reducen de forma significativa la carga de ST sobre la piel de pollo, carne de bovino y cerdos en diferentes periodos de tiempo.

Palabras Clave: *Salmonella*, quitosán, ácidos orgánicos, carnes.

Introducción

Las industrias de aves y carne de res y cerdo tienen el desafío de controlar la *Salmonella* y *Escherichia coli* así como otros patógenos en las plantas de fabricación y procesamiento, son consideradas un problema de salud pública mundial, los pollos, cerdos y bovinos pueden contener *Salmonella typhi*; y la ingestión de sus productos contaminados como alimento directa o indirectamente es la causa más común de las infecciones en el humano (Mussaret *et al*, 2006, Laury *et al,* 2009; Barnhart *et al* 1999). Las canales están expuestas a una elevada contaminación en las plantas procesadoras por diversas causas, además, presentan residuos fecales haciendo más vulnerables a los diversos patógenos. Una de las prácticas más comunes para reducir la carga microbiana es el uso de antimicrobianos. El tratamiento antimicrobiano

más utilizado en la industria de aves es el cloro (hipoclorito de sodio) porque es barato, seguro y fácil de usar. Sin embargo, el hecho de optimizar la propiedades desinfectantes de cloro (pH inadecuado, concentración, o la composición del agua de entrada) puede reducir su eficacia antimicrobiana y puede dar lugar a olores desagradables y dañinos como el gas cloro y tricloraminas. (Laury *et al* ,2009). Recientemente se ha utilizado en el lavado de las canales de bovinos y cerdos, diversos ácidos orgánicos; sin embargo, su uso de ácidos orgánicos como el cítrico, propónico y acético no ha sido una práctica común con los cortes de cada músculo en la industria ganadera (Helander *et al* 1997); Durante los últimos años, el quitosán ha recibido mayor atención en sus aplicaciones comerciales en los alimentos, biomedicina y por las industrias el cual es un carbohidrato natural modificado, polímero derivado de la desacetilación de la quitina, componente importante de las conchas de los crustáceos. Hasta la fecha, el quitosán ha despertado interés notable por sus actividades biológicas como antimicrobiano. La actividad antimicrobiana del quitosán frente a una serie de enfermedades transmitidas por los hongos filamentosos, levaduras y bacterias ha llamado la atención como conservante de alimentos potenciales de origen natural (No *et al*, 2007). Por lo antes mencionado el objetivo del presente trabajo es determinar el efectos de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de *Salmonella typhimurium* sobre la piel de pollos y carne de bovino y cerdo.

Materiales y Métodos

Cepa bacteriana, quitosán y ácidos orgánicos.

Un aislado primario de *Salmonella typhimurium* (ST) se usó en el experimento. La ampliación y enumeración del protocolo para el aislamiento fue descrito por (Tellez *et al*., 1993). Quitosán deacetilado 95 % grado consumible (Paragon Specialty Products, LLC Rainsville, AL 35986) se usó a la concentración de 0.5 % diluido en una solución de 0.5 % de ácido acético glacial. Ácido propiónico al 0.5 %. Ácido acético al 0.5 % y ácido cítrico al 0.5 % se mezclaron para ser usados.

Muestras de piel de pollo, carne de bovino y cerdo

Como lo describió Sarlin *et al.*(1998), la piel de pollo cruda, carne de bovino y cerdo. La piel de pollo y la carne de bovino y cerdo se compraron en una carnicería, la piel y la carne se cortaron en trozos pequeños (aproximadamente dos cm^2) de forma aséptica.

Proceso microbiológico

Experimento

Se realizó un diseño completamente al azar de tres tratamientos con cinco repeticiones las cuales consistieron en sumergir en una solución con 10^8 cfu/mL de ST por 30 segundos, las muestras de piel y carne (N = 180) posteriormente se sumergieron por 30 segundos adicionales en una solución que contenía: SSF (control N =60) (tratamiento 1 (T1)); 2) 0.5 % quitosán (N= 60) (T2); o 3) Una solución con 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de ácido propiónico y 0.5 % de

ácido cítrico (N= 60) (T3). Todas las muestras fueron puestas en bolsas individuales y mantenidas en refrigeración a 4º C, a 1, 24, 52 y 144 horas, cinco muestras control y cinco tratadas de cada uno de los tratamientos fueron removidas del refrigerador y se sembraron para recuperar la ST. Las muestras de piel y carne se homogenizaron en las bolsas estériles y se les añadió 5 ml de SSF estéril y se maceraron con un martillo de goma. Se hicieron tres diluciones seriadas en cajas petri las cuales fueron de agar verde brillante con 25 µg/mL novobiocina (NO) y 20 µg/mL ácido nalidixico (NA). Cada muestra se sembró por triplicado. Las cajas petris se incubaron a 37º C por 24 h, después de esto cada colonia viable se observó y se contaron las colonias.

Análisis estadístico

Las unidades formadoras de colonias por mL se analizaron usando un análisis de varianza (Stell y Torrie, 1992), cuando se encontró diferencias mínimas significativas entre tratamientos se usó la prueba de rangos múltiples de Duncan usando el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002). Las diferencias significativas se reportaron a $P < 0.05$.

Resultados

En el cuadro 1, se observa el efecto de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de ST en la piel de pollo, a la primera hora no se observan (P>0,05) efectos, pero conforme pasa el tiempo (24, 3 y 6 días) hay una reducción significativa de ST en los tratamientos de ácidos orgánicos y quitosán en relación al testigo para todos los periodos de tiempo sin embargo después de tres días solo los OA tuvieron efecto sobre ST, donde se reduce 1.91 log en los AO y 0.80 log en quitosán a las 24 hrs; y de 1.68 log en AO y 1.44 log de quitosán a los 3 días; y a los 6 días se redujo 2.58 log en el tratamiento de AO y 0.45 log en el tratamiento de quitosán (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de *Salmonella typhimurium* en la piel de pollo.

Piel de pollo	1 hora	24 horas	72 horas	144 horas
Control	0.97 ^{a} ± 0.08	2.51 ^{a} ± 0.09	4.01 ^{a} ± 0.78	5.10 ^{a} ± 0.96
Ácidos orgánicos	1.17 ^{a} ± 0.13	0.60 ^{c} ± 0.09	2.33 ^{b} ± 0.36	2.52 ^{b} ±0.38
Quitosán	1.39^{a} ± 0.06	1.71 ^{b} ± 0.06	2.57 ^{a} ± 0.53	4.65 ^{a} ±0.29

En cada prueba las muestras de piel; fueron sumergidas a una solución con 10^8 ufc/ml de ST por 30'', posteriormente, las muestras fueron sumergidas en una solución que contenía: 1) SSF (control); 2) 0.5 % quitosán; o 3) Una solución con 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de ácido propiónico y 0.5 % de ácido cítrico.

En el cuadro 2, se puede apreciar que los AO, redujeron el número de ST a la hora del tratamiento, pero a las 24 horas se observa un mayor efecto reductor para el tratamiento de AO de 1.17 log y de 0.58 log para el quitosán, a los 3 días no se observa efecto, pero a los 6 días se reduce de forma significativa en ambos tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de *Salmonella typhimurium* en la carne de bovino.

Tratamiento carne de bovino	1 hora	24 horas	3 días	6 días
Control	1.33 ^{a} ± 0.15	2.13 ^{a} ± 0.11	2.96 ^{a} ± 0.36	6.85 ^{a} ± 0.18
Ácidos orgánicos	1.07 ^{b} ± 0.11	0.96 ^{c} ± 0.11	3.06 ^{a} ± 0.43	2.35 ^{c} ±0.35
Quitosán	1.52 ^{a} ± 0.09	1.55 ^{b} ± 0.08	3.17 ^{a} ± 0.17	4.96 ^{b} ±0.03

En cada prueba las muestras de piel (N = 60); fueron sumergidas a una solución con 10^{8} ufc/ml de ST por 30'', posteriormente, las muestras fueron sumergidas en una solución que contenía: 1) SSF (control); 2) 0.5 % quitosán; o 3) Una solución con 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de ácido propiónico y 0.5 % de ácido cítrico.

Cuadro 3. Efecto de los ácidos orgánicos y quitosán sobre la reducción de *Salmonella typhimurium* en la carne de cerdo.

Tratamiento carne de cerdo	1 hora	24 horas	3 días	6 días
Control	0.94 ^{a,b} ± 0.21	2.36 ^{a} ± 0.18	3.32 ^{b} ± 0.11	8.47 ^{a} ± 0.60
Ácidos orgánicos	0.80 ^{b} ± 0.09	0.49 ^{c} ± 0.11	2.52 ^{b} ± 0.24	2.72 ^{c} ±0.03
Quitosán	1.11 ^{a} ± 0.04	1.32 ^{b} ± 0.07	4.75 ^{a} ± 0.45	4.89 ^{b} ±0.19

En cada prueba las muestras de piel fueron sumergidas a una solución con 10^{8} ufc/ml de ST por 30'', posteriormente, las muestras fueron sumergidas en una solución que contenía: 1) SSF; 2) 0.5 % quitosán; o 3) Una solución con 0.5 % de ácido acético, 0.5 % de ácido propiónico y 0.5 % de ácido cítrico.

Para la carne de cerdo se observó que en la primera hora de tratamiento no hubo efecto de los AO y quitosán, pero con forme aumentó en tiempo de los tratamientos hubo una reducción mayor en el tratamiento de los AO con respecto al quitosán como se puede apreciar en el cuadro 3.

Discusión

Las industrias de aves y carne de res tienen el desafío de controlar la *Salmonella* y *Escherichia coli* en las plantas de fabricación y procesamiento. Un estudio de 2007 reportó 88 % de las

canales de pollo con la presencia de *Salmonella*, con un 80 % de estas cepas de *Salmonella* resistentes a uno o más antibióticos (Laury *et al,* 2009). Como referencia y un buen ejemplo, en los USA, está estimado que 1.4 millones de humanos contraen salmonelosis y el costo anual de esta enfermedad, incluyendo pérdida de productividad, es de 3 billones anuales. En el año de 2004, los datos de inspección indicaron que el mayor número de las enfermedades transmitidas por el alimento fueron causadas por *Salmonella*, de un 42 % de los diagnósticos hechos por laboratorio. (Sarlin *et al,* 1998; Mussaret *et al*, 2006). En este estudio se observó que tanto los AO al 0.5 %, así como el quitosán al 0.5 %, reducen de forma significativa la carga de ST sobre la piel de pollo, carne de bovino y cerdos en diferentes periodos de tiempo, aunque a la hora no se observó una reducción esperada de ST en la piel de pollo y carne de bovino y cerdo (Cuadros1, 2 y 3).

Las actividades antibacteriales de los ácidos orgánicos tienen entre los objetivos generales, el potencial de acción de los compuestos biocidas incluyen la pared celular, membrana citoplasmática y funciones metabólicas especificas en el citoplasma asociadas con la replicación, la síntesis de proteínas y la función (Denyer y Stewart, 1998; Davidson, 2001 Sarlin *et al,* 1998). Dado la naturaleza del ácido débil de la mayoría de estos compuestos, el pH se considera un principal determinante de la eficacia, ya que afecta a la concentración de ácido formado no disociado (Davidson, 2001). Tradicionalmente se asume que las formas de ácidos orgánicos no disociado pueden penetrar fácilmente la membrana de la célula bacteriana en los lípidos y una vez interiorizados en el pH neutro del citoplasma de la célula se disocian en aniones y protones (Eklund, 1983, 1985; Salmond *et al*, 1984; Cherrington *et al*, 1990, 1991; Davidson, 2001; Cherrington *et al,* 1991; Lasko *et al,* 2000). Por otro lado, el mecanismo de la actividad antimicrobiana de quitosán aún no ha sido completamente aclarado, pero varias hipótesis han sido propuestas. La hipótesis más factible es un cambio en la permeabilidad celular debido a las interacciones entre las moléculas con carga positiva del quitosán y las membranas microbianas con carga negativa de la célula.

Las propiedades antimicrobianas del quitosán han sido reportadas ampliamente en la literatura pero se basa principalmente en la de los ensayos in vitro. La mayoría de los alimentos son una mezcla de diferentes compuestos (por ejemplo, hidratos de carbono, proteínas, grasas, minerales, vitaminas, sales y otros) y muchos de ellos pueden interactuar con el quitosán y llevar a la pérdida o aumento de la actividad antibacteriana (No *et al*, 2007). Friedman y Juneja (2010) nos mencionan que los recubrimientos con quitosán han reducido los niveles de *Salmonella* en el envasado de pechugas de pollo fresco. El tratamiento prolonga la vida útil requerida de los productos de 4 hasta 6 días, lo cual coincide con la presente investigación, hace falta investigar como es el efecto de los ácidos orgánicos y quitosán con diferentes temperaturas y tiempos de exposición así como la alteración del color de la canal y características organolépticas de la misma.

Referencias

1. Barnhart E. T., I. L. Sarlin, D. J. Caldwell, J. A. Byrd, D. E. Corrier, y B. M. Hargis. 1999. Evaluation of Potential Disinfectants for Preslaughter Broiler Crop Decontamination. Poultry Science 78: 32–37.
2. Cherrington, C. A., M. Hinton, and I. Chopra. 1990. Effect of short-chain organic acids on macromolecular synthesis in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 68:69–74.
3. Cherrington, C. A., M. Hinton, G. C. Mead, and I. Chopra. 1991. Organic acids: Chemistry, antibacterial activity and practical applications. Adv. Microb. Physiol. 32:87–108.
4. Davidson, P. M. 2001. Chap. 29. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. Pages 593–627 in Food Microbiology—Fundamentals and Frontiers. 2nd ed. M. P. Doyle, L. R. Beuchat, and T. J. Montville, ed. American Society for Microbiology, Washington, DC.
5. Denyer, S. P., and G. S. A. B. Stewart. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. Int. Biodeterior. Biodegradation 41:261–268.
6. Eklund, T. 1983. The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. J. Appl. Bacteriol. 54:383–389.
7. Eklund, T. 1985. Inhibition of microbial growth at different pH levels by benzoic and propionic acids and esters of *p*-hydroxybenzoic acid. Int. J. Food Microbiol. 2:159 167.
8. Friedman M., Juneja VK. 2010. Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food. Journal of Food Protection.73(9): 1737-1761.
9. Helander I.M. , A. von Wright y T-M. Mattila-Sandholm. 1997. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. Trends in Food Science & Technology. 8: 146-150.
10. Lasko, D. R., N. Zamboni, and U. Sauer. 2000. Bacterial response to acetate challenge: A comparison of tolerance among species. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54:243–247.
11. Laury A. M., Alvarado M. V., Nace G., Alvarado C. Z., Brooks J. C., Echeverry A., Brashears M. M. 2009. Validation of a lactic acid- and citric acid-based antimicrobial product for the reduction of *Escherichia coli* O157: H7 and Salmonella on beef tips and whole chicken carcasses. J Food Prot. 72(10): 2208-2211.
12. Mussaret B. Zaidi, Constantino López Macías, Edmundo Calva. 2006. Revista Latinoamericana de Microbiología. 48 (2): 121-125.
13. Mussaret B. Zaidi, Constantino López Macías, Edmundo Calva. 2006. Revista Latinoamericana de Microbiología. 48 (2): 121-125.
14. No H.K., S.P. Meyers, W. Prinyawiwatkul, y Z. Xu. 2007. Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review. Journal of Food Science. 72 (5): R87-R100.
15. Salmond, C. V., R. G. Kroll, and I. R. Booth. 1984. The effect of food preservatives on pH homeostasis in *Escherichia coli*. J. Gen. Microbiol. 130:2845–2850
16. Sarlin L. L., E. T. Barnhart, D. J. Caldwell, R. W. Moore, J. A. Byrd, D. Y. Caldwell, D. E. Corrier, J. R. Deloach, y B. M. Hargis. 1998. Evaluation of Alternative Sampling Methods for *Salmonella* Critical Control Point Determination at Broiler Processing. Poultry Science. 77: 1253-1257.
17. SAS. 2002. SAS/STAT User's Guide. Version 8.0. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
18. Steel y Torrie. 1992. Bioestadística. Principios y Procedimientos. Editorial Graf América. México. 622 pp.
19. Tellez, G., C. E. Dean, D. E. Corrier, J. R. Deloach, L. Jaeger, and B. M. Hargis. 1993. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids, and Salmonella enteritidis organ invasion in Leghorn chicks. Poult. Sci. 72:636-642.

Regresar a lista de contenidos

BIOSEGURIDAD EN EL MANEJO SANITARIO DE DESECHOS EN LA PRODUCCIÓN AVÍCOLA

Alejandro Vargas Sánchez*, Rubén Arturo Ayala Falcón**, Gerardo Abraham Medina Jaramillo**

CEIEPP – Jilotepec, FMVZ, UNAM.*, Anglo Corp S.A. de C.V.**:
cachemira3@yahoo.com*, rubenayala@anglocorp.com.mx**, gmedina@anglocorp.com.mx**

Resumen

Una de las proteínas más populares en nuestro país es la carne de aves y el huevo, tanto por su valor nutritivo como por su costo. Esta industria debe producir carne y huevo en volúmenes necesarios para satisfacer un mercado muy creciente. Con esto, también se tiene como reto la eliminación de los desechos orgánicos que se generan en grandes volúmenes, mortalidad de granja, excretas en todos los ciclos y desechos de incubadora. Entre todos, se alcanzan grandes volúmenes que se convierten en fuentes de contaminación. Para esta parte final del proceso, se destinan recursos humanos y económicos para dar tratamiento a estos desechos, esto implica que se busquen metodologías que puedan hacer un tratamiento racional y adecuado de estos desechos, que resulte económica y pueda estar enmarcada en las Leyes Nacionales y las Normas Oficiales Mexicanas. En la producción de cárnicos para una sociedad en crecimiento, es necesario que se tengan estrictas medidas de bioseguridad, sobretodo en el manejo de los desechos orgánicos. El compostaje con aceleradores biológicos como **HYDRO KLEAN** es una metodología que permite un rápido tratamiento biológico y térmico de estos desechos. Esta metodología reduce la contaminación con patógenos, minimiza los costos del tratamiento y disminuye el tiempo que se requiere para madurar el compost, también al finalizar el proceso, el compost maduro puede ser utilizado como fertilizante natural, mejorador de suelos y, además tiene un valor de venta que permite el retorno de recursos económicos a la empresa. Dentro de la legislatura nacional, se establece que es necesario un tratamiento para estos desechos, dando como opción el tratamiento térmico, entre otros, siendo esto necesario, incluso antes de que salgan de la granja. Evitando así la contaminación de suelos, aire y aguas. El compostaje fomenta el cuidado del ambiente, el uso de **HYDRO KLEAN** ofrece las bondades que se requieren en el tratamiento de estos desechos.

Palabras Clave: compost, compostaje, **HYDRO KLEAN**, desechos orgánicos, bioseguridad, desechos de incubadoras, pollinaza, gallinaza.

Introducción

El compostaje con la ayuda de aceleradores, es una metodología de tratamiento térmico a los desechos orgánicos, se disminuye el tiempo del tratamiento, se eliminan los patógenos presentes en los desechos, el compost maduro, es útil en la mejora de suelos agotados por los cultivos o de bajo valor agrícola.

El manejo de esta técnica de tratamiento, se estructura de manera sencilla y rápida. Para cada empresa y bajo sus condiciones de manejo, se elige y modifica la estructura básica de compostaje. Esta consiste en puntos clave muy específicos que deben cubrirse para obtener el mejor resultado:

- Proporción de Carbono – Nitrógeno, esta debe ser muy precisa C/N: 26 - 35/1
- Humedad, esta debe estar entre el 40 y 55% de la masa total a compostar.
- Minerales, estos elementos, ya están incluidos en los desechos, tanto en la pollinaza, gallinaza y demás excretas como en la mortalidad y la fuente de carbono utilizada en el proceso.
- Fuente de Carbono, se utilizan esquilmos de las cosechas, desechos de procesos de otras industrias agrícolas o de la industria papelera entre otras.
- Fuente de Nitrógeno, las excretas como la mortalidad de las granjas, son la fuente de carbono ideal para este proceso, (hasta un 50%)

El proceso se adecua según los desechos a tratar, para este caso el tratamiento de excretas para el compostaje, tiene implícitas las proporciones de carbono y nitrógeno, basado en la cama de las aves y las excretas obtenidas en el proceso.

Al momento de la limpieza de las instalaciones, se obtienen estos desechos del proceso, la humedad que es otro factor que debe tenerse en cuenta, se establece a un 50% como proporción más adecuada.

El compost se desarrolla bajo un proceso aerobio, por ende el movimiento del bloque de compost es necesario, el uso de maquinaria facilita este proceso, dando como resultado que a mayor movimiento, se disminuye el tiempo de maduración.

El compost tiene 4 etapas básicas:

- Etapa de Latencia, esta comprende desde la formación del compost y la aplicación del acelerador, hasta que se inicia la elevación de la temperatura sobre los materiales iniciales, esta se puede considerar de 10 a 12°C.
- Etapa Mesotérmica I, esta se considera a más de 10 a 12 y hasta los 40°C y es la elevación de la temperatura, dada por los procesos exotérmicos de los cultivos adicionados como aceleradores, haciendo el cambio de la microflora y el inicio de la digestión de la materia organica.
- Etapa Térmica, las temperaturas que se establecen en esta etapa son entre 40 – 75ºC: la microflora mesófila es sustituida por la termófila debido a la acción de Bacilos y Actinomicetos

termófilo. Normalmente en esta etapa, se eliminan todos los mesófilos patógenos, hongos, esporas, semillas y elementos biológicos indeseables.

- Etapa Mesotérmica II, las temperaturas de esta etapa tienden a bajar, se considera cuando estas están por debajo de los 40°C, con el agotamiento de los nutrientes, y la desaparición de los termófilos, comienza el descenso de la temperatura. Se desarrollan nuevamente los microorganismos mesófilos que utilizarán como nutrientes los materiales más resistentes a la biodegradación, tales como la celulosa y lignina restante en el compost, este proceso también se llama maduración, y se considera una vez que se enfría el bloque de compost.

Temperatura y tiempo de exposición necesario para la destrucción de los parásitos y patógenos más comunes en el compostaje.

Organismo	**Temperatura y tiempo de exposición**
Salmonella typhosa	Se alimenta rápidamente. Son suficientes 30 minutos a 55 – 60°C para su eliminación
Salmonella sp	Se destruye al exponerse 1 hora a 55°C o 15 – 20 minutos a 60° C
Shigella sp	Se destruye al exponerse 1 hora a 55°C
Escherichia coli	La mayoría mueren en una exposición de 1 hora a 55° C o 15 – 20 minutos a 60°C
Larvas de *Trichinella spiralis*	Se elimina en pocos minutos a 55°C
Brucella abortus	Muere rápidamente a 55°C e instantáneamente a 60° C
Micrococcus pyogenes	Se elimina en la exposición a 62 – 63°C durante 3 minutos
Streptococcus pyogenes	Muere después de 10 minutos de exposición a 50°C
Mycobacterium tuberculosis	Muere después de 15 – 20 minutos de exposición a 66°C o instantáneamente a 67°C
Corynebacterium diphtheriae	Se elimina a 55°C por exposición de 45 minutos
Huevos de *Ascaris lumbricoides*	Muere en menos de 1 hora de exposición a temperaturas mayores a 55°C

Materiales y Métodos

Se utilizaron excretas (polliaza) completas para el compostaje, estas por las características de producción en México, cuentan con importantes fracciones de carbono, dadas por la cama de las aves.

Las excretas son llevadas a un centro de acopio que cuenta con pisos impermeables para el control de los lixiviados.

Se utiliza maquinaria común, mini trascabo Bob Cat, Composteador mecanizado por medio de un tractor agrícola.

Tinaco como transporte de agua para suministrar la humedad necesaria a los bloques en carril.

Bomba de agua de ½ caballo para la aspersión del agua.

Cultivo de Bacterias aceleradoras del Compost bajo el nombre comercial de **HYDRO KLEAN.**

Se forman carriles con las excretas con una medida promedio de 3 a 4 metros de ancho por 2 de alto, medidas que tiene los composteadores mecanizados más comunes en México.

Se les da la humedad necesaria para lograr el 50% en el bloque procurando que sea de la manera más homogénea posible, la oxigenación o volteo se hacen cada tercer día.

En este paso se adiciona el acelerador de compost, se utiliza a razón de 30 mL por cada tonelada de materiales iniciales, al humedecer y adicionar el acelerador en el mismo paso, tiene como finalidad una dispersión de **HYDRO KLEAN** homogénea en todo el bloque. Se aplica junto con la humedad el acelerador de compost en tres ocasiones, siendo una aplicación semanal.

Resultados

El proceso de compostaje se realizó en un lapso de 3 semanas, llegando a una maduración completa a la cuarta semana.

Se realizaron análisis de la calidad del compost terminado y se obtuvieron los siguientes resultados:

PARÁMETROS	CONTENIDO
Humedad (%)	28.97
pH	8.09
Conductividad Eléctrica (Sdm $^{-1}$)	13.06
Cenizas (%)	26.09
Materia Orgánica (%)	73.91
Carbono Total (%)	42.87
Nitrógeno Total (%)	3.40
Relación C/N	12.61
Calcio CaO (%)	5.86
Magnesio MgO (%)	1.876
Sodio Na_2O (%)	2.585
Potasio K_2O (%)	7.082
Fosforo P_2O_2 (%)	8.157

MICRO ELEMENTOS TOTALES (%)	
Fe (Hierro)	0.1856
Cu (Cobre)	0.0110
Zn (Zinc)	0.0118
Mn (Manganeso)	0.1325
B (Boro)	0.00065

FRACCIONAMIENTO DE HUMUS (%)	
Ácidos Húmicos y Fúlvicos	12.316
Ácidos Húmicos	4.002
Ácidos Fúlvicos	8.314
Índice Humificación	9.33

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	
Bacterias Totales (UFC /gr)	41.4 X 10^6
Coliformes Fecales (NMP / gr)	**NEGATIVO**
Hongos (UFC /gr)	18.6 X 10^3
Actinomicetos (UFC /gr)	48.5 X 10^5

Discusión

El proceso de compostaje con aceleradores:

- Elimina la contaminación por patógenos de los desechos orgánicos.
- Disminuye el tiempo de compost haciendo más versátil su manejo y su aprovechamiento.
- Minimiza la probabilidad de re infestación de los animales en proceso de producción por los desechos orgánicos no tratados.
- Puede ser utilizado este proceso en lugares cercanos a la producción cumpliendo así con las leyes nacionales que exigen un tratamiento de estos desechos.
- Se ofrece también, un tratamiento que incluye la mortalidad de la granja y desechos de incubadora, obteniendo un compost totalmente maduro y con las características de calidad nutricional y bacteriológica para su uso en el campo.
- Este tratamiento es amigable con el ambiente y el compost es una nueva oportunidad de agro negocio con fondos de recuperación, el cual tiene un promedio de Relación Costo Beneficio de 1/23.12 (estos valores pueden varia con base a los costos de mano de obra y costos de los equipos utilizados)

Referencias

1. (Golveke, 1972) Citado por Labrador 1996.
2. Ing. Daniel Sztern, MGA., Lic. Miguel A. Pravia. Organización Panamericana de la salud. Organización Mundial de la Salud. Manual para la elaboración de compost bases conceptuales y procedimientos.
3. Ley Federal de Sanidad Animal.
4. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001-ECOL 1996.
5. Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos.

Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN DE PROGRAMAS DE AYUNO PREVIO AL PROCESAMIENTO EN AVES SOMETIDAS A SISTEMAS DE RESTRICCION ALIMENTICIA DURANTE SU CRIANZA

*Alejandro *Tejeda G.V.R., **Braña V.D., ***Rosario C.C. y *Castañeda S.M.P.*
*Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
**Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campus Ajuchitlán, Querétaro.
***Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
ruth.tejeda@prodigy.net.mx

Resumen
Los Programas de Restricción Alimenticia (PRA) son una alternativa en la reducción de mortalidad por Síndrome Ascitico (SA). Para el presente estudio se utilizaron 600 pollitos Ross x Ross de 1 día de edad sin sexar. Fueron criados con 3 PRA y se hicieron grupos de ayuno con 6, 12, 18 y 24 horas previas a la matanza. Se realizó un diseño factorial de 3 x 4 con 2 réplicas de cada programa de crianza. Se encontró evidencia estadística significativa ($P<0.05$) para decir que el peso y la mortalidad por SA es diferente entre los tipos de crianza. En el porcentaje de perdida de peso vivo no existe diferencia estadística ($P>0.05$) entre las 12 y 18 horas de ayuno. El mayor rendimiento de la canal fue a las 24 horas (73.69%). De acuerdo a los resultados se sugiere que hay una modificación en los patrones de vaciamiento del tracto gastrointestinal en aves sometidas a programas de restricción alimenticia durante su crianza y cuando se someten a programas de ayuno por 12 horas, aunque estos resultados se repiten para un programa de ayuno de 24 horas, estos no son estadísticamente diferentes, y no fueron consistentes para los programas de ayuno de 6 y 18 horas. Asimismo se observó evidencia estadística ($P<0.05$) para decir que hay una relación lineal cuadrática y una relación lineal simple entre los coliformes totales y las horas de ayuno a partir de las 12 y hasta las 24 horas. El uso de PRA durante la crianza controla la mortalidad originada por SA, mejorando la productividad de la parvada. La calidad microbiológica de las canales fue mejor a las 18 horas. ($P<0.05$)
Palabras Claves: Síndrome Ascítico, Restricción Alimenticia, Rendimiento, Calidad Microbiológica

Introducción

Los Programas de Restricción Alimenticia (PRA) son una alternativa para la disminución de la incidencia del Síndrome Ascitico (SA) [1, 2, 3, 4] debido a que se reducen las exigencias

metabólicas del ave en cierta etapa de su vida. [1] Los primeros PRA en México que se utilizaron como paliativos para el control de SA, fueron desarrollados comercialmente a principios de 1980, por los doctores Jesús Estudillo y Carlos López, mostrando beneficios sobre la reducción en la mortalidad, con la desventaja sobre la ganancia de peso. El Dr José Arce, ha desarrollado PRA de tiempo de acceso al alimento a edades tempranas, siendo hoy en día una de las medidas más aceptadas y utilizadas por los avicultores. [3] La utilización de una dieta baja de energía y la restricción de alimento entre los 8-21 días disminuirá la mortalidad por ascitis, mejorará los pesos de las aves, los consumos, las conversiones así como los índices de producción. [3, 5, 6,7]

Los PRA se caracterizan por proporcionar a las aves, una menor cantidad de alimento en los comederos, presentando tres variantes: *a) Restricción durante cierto periodo del ciclo*, se inicia cuando el porcentaje de mortalidad por SA es muy alto. *b) Restricción desde la etapa de iniciación (14-21 días edad) hasta el final del ciclo*, generalmente se usan consumos entre 80 y 90% del que se tuviera a libre acceso. *c) Restricción con un periodo de crecimiento compensatorio*, es similar al anterior, pero en los últimos 7 a 10 días se deja el alimento a libre acceso. En estas parvadas con PRA es frecuente observar parvadas disparejas, mala pigmentación que esta relacionada directamente con la cantidad de xantofilas consumidas por las aves y la coocidiosis subclínica por *Eimeria spp.* [6]

El fundamento de PRA está basado en que el ave consuma la misma cantidad de alimento, pero en menor tiempo. El número de horas de acceso al alimento varía desde 8 a 9.5 horas y el inicio del programa inicia desde el día 5 de edad hasta el 28 mientras que en los últimos días del ciclo se proporciona el alimento a libertad, buscando el crecimiento compensatorio. Cuando se inicia a edad temprana se adaptan a comer en menor tiempo. [3, 8] Cuando se establecen los PRA, estos deben adecuarse tomando en cuenta la incidencia del SA, la altura sobre el nivel del mar, las condiciones climáticas y el peso corporal final de los pollos de engorda. [2] Una vez presente el cuadro clínico de SA no hay posibilidad de regresión de las lesiones. [3, 4]

Importancia económica

En 2010 en México se produjeron 2822 miles de toneladas de carne de pollo ubicándolo en el 5° país a nivel mundial y 3° país en America en la producción de pollo de engorda. [9] Dentro de los factores ambientales que predisponen a una mayor incidencia del SA es la localización de las granjas situadas a altitudes superiores a 1300 msnm; por las bajas temperaturas en los meses de invierno [10] y lugares con una alta precipitación pluvial en el verano. [3] La mortalidad por SA se ha reportado en un rango del 2 al 40% de la parvada [2, 4, 11] observándose el problema desde la primera semana de edad. La mortalidad más alta por SA se presenta entre la sexta y séptima semana de edad [9] representando una pérdida económica importante para el productor ya que es cuando la parvada tiene cubierto el 85% de su ciclo de engorda siendo este de 49

días aproximadamente. La mortalidad en cualquier explotación avícola es un factor importante que puede llegar a desequilibrar el proceso productivo y tendrá más impacto si rebasa los porcentajes de 4-5% que se consideran normales. (5) Existen otros factores como una alta densidad que provocan presencia de aire viciado que incrementan el amoniaco dentro de las casetas y esto hace que en algunos casos el crecimiento de las aves se reduzca así como su eficiencia alimenticia y su calidad en canal (12). Otro aspecto importante es el decomiso de aves en la planta de procesamiento que va de 0.2 a 0.5% y que puede ser el SA la principal causa de decomiso en la planta. (3,13)

Una vez que el pollo de engorda alcanza el peso final para su comercialización se realiza el programa de retiro de alimento el cual tiene el objetivo de realizar el vaciado del tracto gastrointestinal, lo cual evita rupturas de este durante la evisceración, disminuyendo la probabilidad de contaminaciones bacterianas de la canal y por lo tanto alargar la vida de anaquel de la misma. Existe un gran número de patógenos bacterianos capaces de contaminar la carne de pollo para consumo humano, los más importantes son *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* enterohemorrágica. (14,15)

El programa tradicional de retiro de alimento tiene una duración entre 8 a 12 horas como tiempo total. Este tiempo incluye el tiempo de captura, embarque, transporte y espera en andén. (13, 16, 17) Al emplear tiempos cortos existe riesgo de que no haya un vaciado completo del intestino y durante el sacrificio o procesado la canal podría contaminarse con el contenido del buche, cloaca o tracto gastrointestinal. Una vez ocurrida la contaminación con contenido intestinal se tendría que recurrir al lavado o recorte de la parte afectada para cumplir con las normas de calidad, de no ser así, la parte afectada y la canal completa podrían estar sujetas a decomiso. (16)

Los PRA han sido una alternativa para controlar la mortalidad causada por la presentación del SA, sin embargo al parecer el pollo de engorda ha modificado sus patrones de permanencia de alimento en el tracto gastrointestinal cuando se ve sometido a este tipo de programas durante su crianza, por lo cual el programa de retiro de alimento tradicional previo al procesamiento no ha sido exitoso para lograr el vaciado del tracto gastrointestinal, causando contaminaciones de las canales durante el eviscerado, lo que deteriora significativamente la calidad microbiológica y vida de anaquel de la canal.

El objetivo es determinar el efecto de PRA utilizados durante la crianza del pollo de engorda, sobre los programas de retiro de alimento previo al procesamiento y su efecto sobre el rendimiento y calidad microbiológica de las canales.

Materiales y Métodos

El presente estudio se realizó en una caseta de ambiente natural con 24 corrales dentro de las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola de

la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicado en la delegación Tláhuac en el Distrito Federal la cual a una altitud de 2240 msnm y una temperatura promedio anual de 24.07° (máxima registrada de 35°C en abril y minima registrada 1°C en diciembre-enero).[18] Se utilizaron seiscientos pollitos de 1 día de edad mixtos de estirpe Ross x Ross 308 y fueron alimentados con 2 etapas, un alimento iniciador (día 1 al 21) y un finalizador (día 22 al 49). Se utilizaron los siguientes programas de alimentación:

Programa A. Las aves fueron alimentadas desde la recepción hasta el sacrificio con agua y alimento *ad libitum*. **Programa B.** A partir de los 9 días de edad y hasta el sacrificio las aves fueron alimentadas únicamente con 80% de sus requerimientos de consumo diario [19] y agua al libre acceso. **Programa C.** A partir de los 9 días de edad, las aves fueron alimentadas con el siguiente programa de alimentación y agua al libre acceso. [20]

Edad	Horas de consumo
1 sem	*Ad libitum*
2 sem	8
3 sem	8
4 sem	9
5 sem	9
6 sem	9
7 sem	10

El alimento servido fue previamente pesado y registrado en todos los programas. Cada PRA fue dividido en cuatro grupos de ayuno con 6, 12, 18 y 24 horas previas a la matanza. Para cual se conformó un diseño factorial de 3 x 4 con 2 replicas de cada programa de crianza de 25 aves cada uno. Se pesaron semanalmente 10 aves por replica y se registro la mortalidad diaria total así como su causa.

A los 49 días de edad, de cada réplica fueron pesadas 15 aves al momento de inicio del ayuno previo al sacrificio. En las horas de ayuno se contempla el tiempo empleado en la captura, embarque, transporte y espera en andén. A la llegada al rastro, estas mismas aves fueron nuevamente pesadas y se calculó la merma por diferencia de peso. Las aves fueron procesadas bajo condiciones comerciales. Se les retiró la pluma a través de una desplumadora automática y las canales fueron lavadas. Se procedió a realizar la evisceración de las canales para obtener el TGI desde el buche hasta el recto y fueron lavadas nuevamente. Se pesaron las canales sin vísceras y fueron enfriadas en hielo para ser empaquetadas al alto vacío y almacenadas en refrigeración.
Una vez obtenido el TGI, este fue lavado para eliminar el contenido intestinal y las vísceras fueron nuevamente pesadas vacías, esto para determinar la cantidad de contenido intestinal por diferencia y relacionarlo con la calidad microbiológica de las canales.

De las aves procesadas se determino: **porcentaje de pérdida de peso vivo, porcentaje de rendimiento de la canal eviscerada**, cantidad de **contenido intestinal, porcentaje de peso de las vísceras** individualmente y se determinó la **calidad microbiológica** a partir de 5 canales por réplica. Estas se determinaron mediante el lavado de canal, por la técnica de colocar la canal eviscerada en una bolsa de plástico conteniendo 100 ml de de solución buferada de fosfatos (PBS), mediante agitación se realizó el lavado durante 1 minuto para luego colocar la muestra en una hielera y transportarla al laboratorio, donde se realizaron diluciones decuples seriadas y de cada dilución -3, -4 y -5 se sembró 1 ml en una microplaca de cultivo *RIDA® COUNT total* del Laboratorio *R-Biopharm AG* para aerobios totales y coliformes totales. Las microplacas fueron incubadas 48 horas a 37°C y las colonias se contabilizaron.

Análisis estadístico

Para los datos obtenidos a los 49 días se hizo un análisis de varianza para las variables: peso a los 49 días y ganancia diaria de peso para cada tipo de crianza.

A los valores obtenidos de las variables: porcentaje de pérdida de peso vivo, contenido intestinal, porcentaje del peso de las vísceras del ave se les realizó una transformación al Arco seno $\sqrt{x}$ para su posterior análisis. A los valores de la calidad microbiológica se les obtuvo el Logaritmo base 10 para su posterior análisis. Se hizo un análisis factorial 4 x 3 para las variables: porcentaje de pérdida de peso vivo, porcentaje de rendimiento de la canal eviscerada, contenido intestinal, porcentaje del peso de las vísceras y calidad microbiológica (aerobios totales y coliformes totales)

Se utilizo el modelo: $\mathbf{x_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ij}}$ donde

A= Tipos de crianza

B= Horas de ayuno

ε = Error

x = (Intersección) + Crianza + Ayuno + (Crianza * Ayuno) + Replica (Crianza * Ayuno)

Se hizo una prueba de hipótesis para determinar la relación lineal simple entre la calidad microbiológica y el tiempo de ayuno. Se hizo una prueba de hipótesis para determinar la relación lineal simple y una relación lineal cuadrática entre la calidad microbiológica y el contenido intestinal. Las pruebas se realizaron con el paquete estadístico *Statistical Package for the Social Sciences for Windows* (SPSS 15.0). Se fijó un nivel significancia para todas las pruebas de $\alpha = 0.05$. [21, 22]

Resultados

1. Evaluación semanal de peso (g) y porcentaje de mortalidad. Se observo que en la mayoría de las semanas la Crianza A tuvo valores superiores en el peso promedio de las aves

respecto a las Crianzas B y C. La mortalidad acumulada originada por la presencia del SA en el programa de crianza A fue de 12.36%, que fue significativamente mayor (P<0.05) que los programas de crianza B (no se presentó SA) y el programa de crianza C (0.98% de mortalidad).

2. Variables a los 49 días de edad

2.1 Peso a los 49 días. El peso de las aves del programa A fue significativamente mayor (3046 g) respecto a los grupos B y C (P<0.05). El programa B tuvo el menor peso (2670 g).

2.2 Ganancia diaria de peso. El programa A fue significativamente mayor la ganancia diaria de peso (62.16 g) (P<0.05). El tratamiento B tuvo la menor ganancia diaria de peso (54.49 g).

2.3 Índice de conversión alimenticia. La Crianza B obtuvo un mejor índice de conversión alimenticia (1.77) seguida de la crianza C (1.90), y después de la crianza A (2.05). Sin embargo no se encontró diferencia entre tratamientos.

2.4 Porcentaje de mortalidad por síndrome ascítico. En la crianza A se registró 12.38% de mortalidad y es estadísticamente diferente a las crianza B y C. La crianza B no se registró mortalidad y la crianza C se registró una mortalidad baja de 0.49%.

2.5 Índice de productividad. Se obtuvo el mayor IP en el programa de crianza B (306) seguida de la crianza C (298), y después la crianza A (258). Cuadro 1.

3. Diseño Factorial 4 x 3. En ninguna de las variables se encontró evidencia estadística (P>0.05) para decir que hay interacción entre las replicas y la crianza*ayuno.

3.1 Porcentaje de pérdida de peso vivo. Los resultados mostraron que hubo una mayor pérdida de peso cuanto más largo es el periodo de ayuno. El programa de retiro de alimento de 24 horas fue significativamente mayor (8.46%) y los programas de ayuno entre 12 y 18 horas no mostraron diferencia (7.27% y 7.22%). El programa de 6 horas de ayuno tuvo la menor pérdida (4.72%) (P<0.05). Cuadro 2

3.2. Porcentaje de rendimiento de la canal eviscerada. En el programa de ayuno de 24 horas, el rendimiento de la canal fue mayor significativamente (73.69%) (P<0.05), sin embargo no es diferente al programa de ayuno de 6 horas (73.03%). Este último no tuvo diferencia respecto al ayuno de 18 horas (72.55%). Los programas de 12 y 18 horas no tuvieron diferencias entre ellos. Cuadro 2

3.3 Contenido intestinal. El programa de ayuno de 12 horas fue mayor significativamente (62.80 g) al resto de los programas (P<0.05), seguido por el de 6 horas (47.41 g). Los programas de 18 y 24 horas tuvieron menor contenido intestinal y no hubo diferencia entre ellos. Es importante señalar que dentro de las interacciones entre programas de crianza y de ayuno, las aves que fueron criadas bajo el programa C y tuvieron 12 horas de ayuno previo a la matanza, se observó mayor contenido intestinal (73.53 g), mientras que las aves de los programas de crianza A y B (53.80 g y 59.07 g respectivamente) tuvieron menor contenido intestinal y no fueron diferentes entre ellas. A partir de las 18 horas de ayuno no hubo diferencia en la cantidad de contenido intestinal entre los tipos de crianza. Cuadro 2

3.4 Porcentaje de peso de las vísceras del ave. El porcentaje de peso de las vísceras fue significativamente menor en la crianza A (8.14%) respecto a la crianza B y C, las cuales no tuvieron diferencias entre ellas (P>0.05). A las 6 y 12 horas de ayuno no hubo diferencias entre ellas, así como en los programas de 12, 18 y 24 horas no hubo diferencia (P>0.05). No se encontró evidencia estadística de la interacción entre el tipo de crianza y las horas de ayuno (P>0.05). Cuadro 2

3.5 Calidad microbiológica

3.5.1 Aerobios totales UFC/ml Log10. La cantidad de UFC/ml log 10 de aerobios no hubo diferencia entre los tipos de crianza (P>0.05). El programa de ayuno de 18 horas mostró la menor población de aerobios totales, siendo significativamente diferente (P<0.05) al resto de los programas de ayuno. En las interacciones se observó que el tratamiento C-12 (14.55 UFC) obtuvo una de las mayores poblaciones de aerobios totales, siendo estadísticamente diferente únicamente con los tratamientos A-18 (13.20 UFC) y C-18 (12.93 UFC). Las poblaciones del programa de ayuno de 18 horas mostró las menores poblaciones de aerobios totales (A-18: 13.20 UFC; B-18: 13.54 UFC; C-18 12.93 UFC) sin embargo este programa de ayuno no es significativamente diferente al resto de tratamientos (P>0.05). Cuadro 2

3.5.2 Coliformes totales UFC/ml Log10. La cantidad de UFC/ml log 10 de coliformes no hubo diferencia entre los tipos de crianza (P>0.05). El programa de ayuno de 18 horas mostró las menores poblaciones de coliformes totales (12.42 UFC), siendo estadísticamente (P<0.05) diferentes al programa de 6 horas (13.23 UFC) y 24 horas de ayuno (13.56 UFC), pero no para el de 12 horas (12.56 UFC).

Es importante mencionar que los programas de ayuno de 6 y 24 horas mostraron los resultados más altos en cuanto a poblaciones de coliformes. Mientras que el programa de ayuno de 18 horas mostró los menores resultados de poblaciones de coliformes, para los tres programas de crianza, sin embargo no existió diferencia estadística significativa con respecto a los otros tratamientos (P>0.05). Cuadro 2.

4. Análisis de regresión lineal simple para Bacteriología-Ayuno.

4.1 Aerobios totales UFC/ml Log10. No se encontró evidencia estadística (P=0.654) de una relación lineal entre los aerobios totales y las horas de ayuno.

4.2 Coliformes totales UFC/ml Log10. Se encontró evidencia estadística (P<0.05) de relación lineal simple entre los coliformes totales y las horas de ayuno a partir de las 12 y hasta las 24 horas.

$$Y = bo + (b1 * X) \qquad \mathbf{Y = 11.36 + (0.496 * X)}$$

bo = Una canal que no tuvo ayuno tendrá 11.36 x anti log10/ ml de coliformes.

b1 = Los coliformes totales aumentarán en promedio 0.496 x anti log10/ ml de coliformes por cada hora de ayuno.

4.2.1 Coeficiente de Determinación $R^2 = 0.136$ El porcentaje de variabilidad total en las canales que es explicada por la relación lineal simple entre las canales y las horas de ayuno es de 13.6%.
4.2.2 Correlación de Pearson (ρ). Existe una asociación positiva 0.368 entre los coliformes totales y las horas de ayuno a partir de 12 horas. ($P<0.05$)

5. Análisis de regresión lineal simple para Bacteriología-Contenido intestinal. No se encontró evidencia estadística ($P<0.05$) de relación lineal simple entre los aerobios totales y el contenido intestinal, así como con los coliformes totales y el contenido intestinal.

6. Análisis de regresión lineal cuadrática para Bacteriología-Ayuno.
6.1 Aerobios totales UFC/ml Log10. No se encontró evidencia estadística ($P=0.071$) de relación lineal cuadrática entre los aerobios totales y las horas de ayuno.
6.2 Coliformes totales UFC/ml Log10. Se encontró evidencia estadística ($P<0.05$) de una relación lineal cuadrática entre los coliformes totales y las horas de ayuno.

$$Y = bo + (b_1 * X + b_2 X^2)$$

$$\mathbf{Y = 15.001 + (-2.177 * X + 0.452 X^2)}$$

6.2.1 Coeficiente de determinación $R^2 = 0.174$. El porcentaje de variabilidad total en las canales que es explicada por la relación lineal cuadrática entre las canales y las horas de ayuno es de 17.4%.
6.2.2 Correlación de Pearson (ρ). Existe una asociación positiva 0.084 entre los coliformes totales y las horas de ayuno a partir de 12 horas. ($P<0.05$)

Discusión
En el presente estudio se llevó a cabo para determinar si el uso de PRA tienen un efecto sobre la calidad de canal y determinar el tiempo óptimo de ayuno previo al sacrificio. En la parvada con el tipo de crianza A (*ad libitum*) se registró un mayor porcentaje de mortalidad, siendo que en las crianzas con PRA la mortalidad fue baja o nula, esto nos dice que los PRA implementados tienen efectos positivos para el control del Síndrome ascítico y coincide con lo encontrado por otros autores. [1, 2, 4, 6,12] Sin embargo, aunque el peso promedio en estas aves fue menor, estas parvadas fueron más productivas al mejorar los parámetros productivos de viabilidad, índice de conversión alimenticia y kg de carne por m^2.

Un periodo prolongado sin alimento y sin agua causa una pérdida de peso vivo y de rendimiento de la canal, la pérdida puede variar por las condiciones de transporte, temperatura y ventilación. El rendimiento en canal que tienen las aves desde que llegan al rastro fue mayor a las 24 horas de ayuno, debido a que el TGI se encuentra con menor contenido intestinal, en este no hubo diferencias estadísticas con 18 horas de ayuno, así que el vaciado del TGI se da a partir de este

tiempo de retiro de alimento. A pesar de que podría pensarse que el menor rendimiento en canal puede ser para el tratamiento de 6 horas de ayuno, esto no se aplica al presente experimento y puede explicarse debido a que este período de retiro de alimento mostró la menor pérdida de peso. Con respecto al contenido intestinal por programas de 18 y 24 horas de ayuno muestran los resultados un mayor vaciamiento del TGI, sin embargo cuando se encuentra presente el factor "programa de crianza" las aves que se ayunaron por 12 horas y que habían tenido alimentación *ad libitum,* es importante hacer notar que este programa de crianza A mostró el menor contenido intestinal, mientras que los programas de crianza mediante restricción alimenticia (B y C) retuvieron mayor contenido intestinal, lo que puede sugerir que los patrones de vaciamiento del TGI se modifican cunado las aves son criadas bajo PRA. Es importante recordar que los actuales programas de retiro de alimento son entre 8 y 12 horas, razón por la cual se puede observar aves con mayor contenido intestinal del esperado en parvadas sometidas a PRA. Este patrón se repitió en el caso de programas de ayuno de 24 horas, sin embargo no se observó diferencia significativa entre los programas de crianza.

El porcentaje de peso que representan las vísceras respecto al peso de la canal es mayor a las 18 y 24 horas, debido a que en el músculo y en el hígado se almacena una pequeña cantidad de carbohidratos en forma de glucógeno para la exportación y mantenimiento de la glucosa en sangre entre períodos de alimentación; pero no se almacena proteína. Siendo así que en el ayuno prolongado se degrada la proteína estructural y esto comienza a suceder a partir de las 8 horas después del ayuno y la pérdida de peso vivo es notoria entre las 12 y 18 horas ya que el glucógeno hepático queda completamente disminuido y esto es progresivo; además los músculos trabajan menos.[23, 24] Entre 18 y 24 horas de ayuno no hubo diferencias estadísticas en la cantidad de contenido intestinal lo que nos sugiere que el TGI continua vaciándose, pero no hay diferencias en su cantidad.

El uso de conteos de aerobios totales ha sido recomendado como una herramienta para el control de la calidad de productos de origen animal y un conteo alto de mesófilos nos indica una inadecuada sanitización, malas prácticas higiénicas de manufactura o una inadecuada temperatura de almacenaje del producto. [25, 26] En la calidad microbiológica de la canal no existen diferencias entre los tipos de crianza, sin embargo si hay diferencias entre las horas de ayuno. Esto es que a las 18 horas de ayuno se encontró la menor cantidad de enterobacterias y coliformes totales. A las 24 horas, las bacterias incrementan su cantidad en la canal, probablemente a que los intestinos al tener poca cantidad de contenido y mayor cantidad de horas sin alimento estas se vuelvan más frágiles, debido a la fermentación que se lleva a cabo en los intestinos en periodos de ayuno prolongados, convirtiendo a los intestinos más frágiles debido a su distensión, presentándose una mayor ruptura de vísceras que contaminan las canales y el ambiente. [13, 25]

La evisceración de las canales tiende a contaminar ciertas partes de la canal más que otras, sin embargo, el lavado antes o después de la operación distribuyen las bacterias de un sitio localizado a todas las partes de la canal así como también entre canales, [27] además de que se incrementan los conteos bacterianos cuando se utiliza el enfriador de inmersión.

Los resultados obtenidos muestran evidencia estadísticamente significativa ($P<0.05$) de una relación lineal simple entre los coliformes totales y las horas de ayuno a partir de las 12 y hasta las 24 horas. Sin embargo también se encontró evidencia estadística ($P<0.05$) de una relación lineal cuadrática entre los coliformes totales y las horas de ayuno.

Conclusiones

El uso de PRA durante la crianza controla la mortalidad originada por Síndrome ascítico, mejorando la productividad de la parvada. Algunos de los resultados obtenidos en el presente experimento sugieren que existe una modificación en el patrón de vaciamiento del TGI cuando se utilizaron los PRA ya que el programa de crianza A mostró el menor contenido intestinal, mientras que los programas de crianza mediante restricción alimenticia (B y C) retuvieron mayor contenido intestinal, razón por la cual en los actuales programas de retiro de alimento previos a la matanza que son entre 8 y 12 horas, se puede observar aves con mayor contenido intestinal del esperado en parvadas sometidas a PRA, no así a las 18 o 24 horas.

Entre 12 y 18 horas de ayuno no hay diferencia en la perdida de peso vivo, ni en su rendimiento en la canal. La calidad microbiológica de las canales no se ve afectada por el uso de PRA, sin embargo si tiene inferencia las horas de ayuno, siendo las 18 horas de ayuno donde se encontró una mejor calidad microbiológica de las canales.

AGRADECIMIENTOS.

Subproyecto Diagnóstico de la calidad de la canal y la carne fresca de pollos de engorde en México, esto pertenece al macroproyecto numero 2009-109127 del Fondo Sectorial de Investigación en Materia Agrícola, Pecuaria, Acuacultura, Agro biotecnología y Recursos Fitogenéticos, titulado "Indicadores de calidad en la cadena de producción de la carne fresca en México"

Referencias

1. Arce MJ, López CC, Ávila GE. Restricción de alimento al día de edad en pollos de engorda para el control del Síndrome Ascitico. Memorias de XVII Convención Anual ANECA; 1992 abril-mayo 29-02; Puerto Vallarta (Jalisco) México: Asociación Nacional de Especialistas de Ciencias Avícolas, 1992:27-30.
2. Téllez IG, Galván JM., Fuentes MJ, Paasch ML. Experiencia de campo en el control del Síndrome Ascitico en pollo de engorda explotados a 2600 msnm. Memorias de XIV Convención Anual ANECA "La Ciencia a nuestro alcance"; 1989 abril 26-29; Puerto Vallarta (Jalisco) México: Asociación Nacional de Especialistas de Ciencias Avícolas, 1992:220-224.

3. Camacho FD. Evaluación de diferentes programas de alimentación empleados en la reducción del síndrome ascítico en pollos de engorda y su efecto sobre la composición corporal. (Tesis de Maestría en Ciencias Veterinarias). México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1995.
4. Moreno CL. Evaluación del crecimiento compensatorio en pollo de engorda utilizando diferentes programas de restricción alimenticia para el control del Síndrome Ascítico. (Tesis de Licenciatura). México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1991.
5. Ingalls HF, Ortiz MA. Relación mortalidad-rentabilidad en la producción de carne de pollo. Memorias de XXXII Convención Anual ANECA; 2007; Acapulco (Guerrero) México: Asociación Nacional de Especialistas de Ciencias Avícolas.
6. Viliesid AF, Nivón BC. Sobre la composición de los pigmentos naturales de uso avícola. Memorias de la XV Convención Nacional ANECA; 1991; Cancún (Quintana Roo), México: Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, 1991:119-128.
7. Castellanos GF, Berger MM. Modulación temprana del peso corporal para el control del Síndrome Ascitico en pollo de engorda. Memorias de XVII Convención Anual ANECA. 1992 abril-mayo 29-02; Puerto Vallarta (Jalisco) México: Asociación Nacional de Especialistas de Ciencias Avícolas, 1992:47-50.
8. López CC. Bases para establecer programas de prevención del Síndrome Ascitico en México. III Seminario Internacional de Patología Aviar; 1994 junio; Athens (Georgia) EUA. EUA 1994: 613-652.
9. http://www.una.org.mx/
10. Arce-Menocal J, Avila-González E, López-Coello C, Garibay-Torres L, Martínez-Lemus LA. Body weight, feed-particle size, and ascites incidence revisited. J. Appl. Poult. Res. 2009; 18: 465-471. doi:10.3382/japr.2008-00095
11. Berger MM. La restricción alimenticia y el control del Síndrome Ascítico en pollo de engorda. Memorias de II Jornada Medico Avícola. DPA: Aves; 1991 agosto; México (DF) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1991: 405-415.
12. Feddes JJR, Emmanuel EJ, Zuidhof MJ. Broiler performance, body weight variance, feed and water intake, and carcass quality at different Stocking Densities. Poult Sci. 2002; 81: 774-779.
13. Richardson RI, Mead GC. Ciencia de la carne de ave. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 2001.
14. James C, Vincent C, de Andrade-Lima TI, James SJ. The primary chilling of poultry carcasses. A review. International Journal of Refrigeration 2006; 29: 847-862.
15. Hue O *et al*. *Campylobacter* contamination of broiler caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with *Salmonella* contamination. Food Microbiology 2011; 28: 862-868.
16. Pérez LO, Juárez ZA, González AMJ, Cadena MJA. Determinación del tiempo óptimo de retiro de alimento previo al sacrificio de pollos de engorda en condiciones comerciales. Memorias de XIII Congreso bienal AMENA "Dr. José Alberto Rivera Brechu"; 2007 octubre 23-26; Veracruz (Veracruz) México: Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. 2007:123-124.
17. Kannan G, Heath JL, Wabeck CJ, Souza MCP, Howe JC, Mench JA. Effects of Crating and Transport on Stress and Meat Quality Characteristics in Broilers. Poult Sci.1997; 76: 523–529.
18. Anuario Estadístico DF. Edición 2007. INEGI. Cuidad de México. Gobierno del Distrito Federal. México 2007.
19. 308 Broiler Performance Objectives. Ross. June 2007.
20. Cortes CA. El efecto del *bacillus toyoi* sobre el comportamiento productivo en pollos de engorda y composición de la canal. (Tesis de Maestría en Producción Animal) México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 2008.
21. Ducoing WA. Introducción a la Estadística. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Primera edición 2009.
22. Wayne WD. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta Edición. Ed. Limusa Wiley. México 2010.

23. Harper. Bioquímica Ilustrada. Editorial El Manual Moderno. México, D.F.- Bogotá, D.C. 16ava edición en español. Año: 2007.
24. Mayes PA y Bander DA. Metabolismo del Glucógeno. Capitulo 18 en: Lamb JF, Ingram CG, Johnston IA, Pitman RM. editores. Fundamentos de Fisiología. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. Año 1988: 162-171.
25. Whyte P., McGill K., Monahan C., Collins JD. The effect of sampling time on the levels of micro-organisms recovered from broiler carcasses in a commercial slaughter plant. Food Microbiology 2004; 21:59-65.
26. Álvarez-Astorga M., Capita R., Alonso-Calleja C., Moreno B., García-Fernández M. Microbiologycal quality of retail Chicken by-products in Spain. Meat Science 2002; 62: 45-50.
27. Gill CO, Badoni M. Recovery of bacteria from poultry carcasses by rinsing, swabbing or excision of skin. Food Microbiology 2005; 22: 101-107.

Cuadros

Cuadro 1. *Parámetros productivos a 49 días de edad*

Crianza	Clave	Peso (g)	DesEst.	Coef. Var	Unifor %	CA	GDP	Mort Asc %	Mort Otras %	Mort Acum%	IP
	A	3046.27 [c]	±347.99	11.42	88.57	2.05	62.16 [c]	12.36	1.97	14.33	250
	B	2670.13 [a]	±294.25	11.02	88.98	1.77	54.49 [a]	0	0.50	0.50	306
	C	2857.63 [b]	±321.37	11.24	88.75	1.90	58.29 [b]	0.98	2.45	3.43	296

*Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa. (P<0.05).

Cuadro 2. *Parámetros en la planta de procesamiento y bacteriología*

	Pérdida Peso Vivo		Rendimiento Canal Evisc		Contenido Intestinal		Peso Visceras		Aerobios Totales		Coliformes Totales	
	---------- % ----------				g		----- % ----		-------UFC log_{10}/ml -------			
Crianza												
A	6.67 [a]	±2.19	73.40 [b]	±2.32	39.23	±20.14	8.14 [a]	±1.00	13.87	±0.94	13.03	±1.09
B	7.53 [b]	±2.27	72.38 [a]	±2.51	43.20	±23.70	8.75 [b]	±0.78	13.71	±0.96	12.90	±1.06
C	6.56 [c]	±2.14	72.66 [a]	±3.23	43.93	±27.51	8.56 [b]	±0.90	13.74	±0.96	12.90	±1.19
Horas de Ayuno												
6	4.72 [a]	±1.49	73.03 [bc]	±1.91	47.41 [b]	±17.81	8.19 [a]	±1.14	13.9 [b]	±0.92	13.23 [bc]	±1.09
12	7.27 [b]	±2.37	71.86 [a]	±3.72	62.80 [c]	±26.57	8.51 [ab]	±0.94	13.9 [b]	±1.04	12.56 [ab]	±0.93
18	7.22 [b]	±1.58	72.55 [ab]	±2.97	31.62 [a]	±16.08	8.67 [b]	±0.80	13.2 [a]	±0.79	12.42 [a]	±1.00
24	8.46 [c]	±1.55	73.69 [c]	±1.52	26.64 [a]	±10.80	8.55 [b]	±0.73	14.0 [b]	±0.85	13.56 [c]	±1.04
Interacciones												
A-6	5.14 [abc]	±1.95	73.99 [de]	±1.84	47.6 [bc]	±17.74	7.90	±1.60	13.8 [ab]	±1.13	12.7 [ab]	±0.69
B-6	4.70 [ab]	±1.95	72.3 [bcd]	±1.97	49.6 [bc]	±21.24	8.40	±0.84	14.2 [ab]	±1.01	13.6 [ab]	±1.22
C-6	4.32 [a]	±1.28	72.8 [bcde]	±1.56	44.9 [bcd]	±14.01	8.26	±0.78	13.7 [ab]	±0.56	13.3 [ab]	±1.21
A12	6.27 [cd]	±1.21	73.7 [cde]	±1.80	53.8 [b]	±23.14	7.97	±0.60	13.9 [ab]	±0.75	12.8 [ab]	±0.87
B12	9.48 [h]	±1.35	71.6 [abc]	±1.96	59.07 [b]	±25.90	8.95	±0.64	13.3 [ab]	±0.95	12.2 [a]	±0.86
C12	5.69 [bc]	±1.88	70.18 [a]	±5.37	75.53 [a]	±32.14	8.61	±1.20	14.5 [b]	±1.10	12.6 [a]	±1.05
A18	5.73 [bc]	±1.13	71.15 [ab]	±2.53	30.9 [de]	±11.75	8.41	±0.72	13.2 [a]	±0.36	12.3 [a]	±0.67
B18	7.26 [de]	±1.05	72.7 [bcde]	±3.91	36.3 [cde]	±21.27	8.88	±0.83	13.5 [ab]	±1.08	12.6 [a]	±0.79
C18	8.68 [fg]	±0.87	73.7 [cde]	±1.37	27.60 [e]	±12.77	8.73	±0.79	12.9 [a]	±0.72	12.3 [a]	±1.44
A24	9.55 [gh]	±1.04	74.73 [e]	±1.28	24.53 [e]	±9.40	8.26	±0.69	14.5 [b]	±0.93	14.2 [b]	±1.08
B24	8.31 [ef]	±1.64	72.7 [bcde]	±1.43	27.80 [e]	±11.60	8.75	±0.71	13.7 [ab]	±0.67	13.1 [ab]	±0.93
C24	7.52 [e]	±1.19	73.5 [cde]	±1.18	27.60 [e]	±11.30	8.65	±0.74	13.7 [ab]	±0.73	13.2 [ab]	±0.83

*Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa. (P<0.05).

Regresar a lista de contenidos

ADMINISTRACIÓN DE UN MODULADOR ALOSTÁTICO VÍA AGUA DE BEBIDA EN LA PREVENCIÓN DE CONDICIONES ESTRESANTE QUE AFECTAN EL BIENESTAR DE LOS POLLOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE VACUNAS DURANTE LA ENGORDA

Ma. Elena Rubio García, Héctor Alejandro Rosas Denogean, Víctor Efrén Pereira

Resumen

El bienestar animal ha cobrando gran interes en la mayoria de los paises, existen diferentes causas para determinar la importancia de este, recientemente el impacto económico es considerado como factor muy importante; diversos estudios coinciden en demostrar que manejos cotidianos en gallinas de postura y pollos de engorda desencadenan estrés en las aves y afectan su productividad. El estudio se realizó en una empresa avícola localizada en Zacoalco de Torres, Jalisco México, un total de 75,000 pollos de engorda de la estirpe Ross, de un día de edad fueron divididos aleatoriamente en dos tratamientos con tres replicas de 12,500 aves cada una. Los tratamientos utilizados fueron: Tratamiento A - Pollos con MAA® y Tratamiento B - Pollos testigo sin modulador alostático. El MAA® se administró a dosis de 1g por litro de agua de bebida dos días antes y dos días después de cada administración de vacunas a base de virus vivos atenuados, El objetivo fue evaluar el uso programado de un modulador alostático (MAA®) vía agua de bebida en la prevención de condiciones estresantes que afectan el bienestar de los pollos de engorda por manejos durante la administración de vacunas, los resultados obtenidos en este estudio demostraron que el uso del MAA® mejora significativamente (P≤0.05) la respuesta serológica, así como el consumo de alimento y conversión alimenticia, sin afectar los costos por administración de medicamentos y vacunas.

Palabras Clave: Alostasis, Bienestar, Pollos de engorda, Vacunas, Desarrollo
Key Words: Allostasis, Welfare, Broilers, Vaccines, Performance

Introducción

El desarrollo de la avicultura ha modificado el medio ambiente de las aves con el objetivo de producir más, en el menor tiempo y costo posible, desencadenando diversas situaciones que las alteran durante manejos de rutina y que dañan su bienestar. Actualmente el bienestar animal tiene un alto impacto en Europa y Norte América y de acuerdo a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE 2007) el bienestar animal se define como el estado en que el animal tiene satisfechas sus necesidades de salud, comportamiento y fisiológicas frente a cambios en su ambiente, generalmente impuestos por el ser humano; si esto no se cumple se considera que el animal se somete a estrés.[4,7]

Manejos como: cambios de temperatura, aumento en la densidad de población, programa de ayuno y aplicación de vacunas entre otros tienen un amplio potencial para desencadenar estrés, alterando el bienestar animal y en consecuencia activar los ejes HPA y medular-simpático-adrenal; ambos muy importantes para el control de la homeostasis.

Las condiciones estresantes se han relacionado con un grado de actividad secretoria por parte de la glándula adrenal, por lo general en la médula adrenal se activa la liberación de catecolaminas (epinefrina y norepinefrina) con el objetivo de incrementar la frecuencia cardíaca, vasoconstricción, broncodilatación y metabolismo para movilizar las reservas de energía (glucógeno) útiles en una respuesta rápida o de huída; si esta situación se prolonga, entonces el hipotálamo liberará el factor corticotrofina (CRH), que activa en la hipófisis o pituitaria la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) con el objetivo de actuar sobre la corteza adrenal y producir glucocorticoides, (cortisona y cortisol). La liberación de estos no es un proceso autorregulado, por lo que sí un agente estresante no deja de ejercer su efecto, se generará una carga alostática tan alta que permitirá desarrollar problemas patológicos provocando inclusive la muerte del animal.[3,4,5,6,8,9]

El termino alostasis se refiere al proceso mediante el cual un organismo mantiene la estabilidad fisiológica cambiando los parámetros de su medio interno, haciéndolo coincidir de manera apropiada con las demandas del ambiente que le rodea. El incremento en la concentración plasmática de glucocorticoides y catecolaminas se considera indicativo de una situación estresante, y este incremento de glucocorticoides circulantes también se ha asociado con un decremento en la funcionalidad de las células del sistema inmune, siendo muy perjudicial para el desarrollo de inmunidad en los animales afectado la respuesta de estos ante la administración de vacunas.[6,7,8,11]

Objetivo

Evaluar el uso programado de un modulador alostático (MAA®) vía agua de bebida en la prevención de condiciones estresantes que afectan el bienestar de los pollos de engorda por manejos durante la administración de vacunas.

Material y Métodos

La prueba se llevo a cabo en una empresa avícola localizada en Zacoalco de Torres, Jalisco México; la cual cuenta con casetas convencionales para pollos de engorda pertenecientes a la estirpe Ross, un total de 75,000 pollos de engorda de un día de edad fueron divididos aleatoriamente en dos tratamientos con tres replicas de 12,500 aves cada una. Los tratamientos utilizados fueron: Tratamiento A - Pollos con MAA® y Tratamiento B - Pollos testigo sin modulador alostático. El MAA® se administró a dosis de 1g por litro de agua de bebida dos días

antes y dos días después de cada administración de vacunas a base de virus vivos atenuados, las cuales fueron aplicadas de acuerdo al calendario de vacunación de la empresa (Cuadro 1)

Las aves fueron criadas de acuerdo al manual Ross y bajo los estándares comúnmente utilizados por la empresa, el alimento se administró mediante su programa de restricción alimenticia para control de síndrome ascítico y el agua se proporcionó a libre acceso. Con el objetivo de realizar un perfil serológico se tomaron muestras de sangre de 10 aves semanalmente en cada caseta, iniciando el día siete de edad.

Los parámetros evaluados fueron: Mortalidad y selección, Edad de venta, Consumo de alimento por ave, Consumo día ajustado, Peso de venta, Ganancia diaria, Conversión alimenticia ajustada, Índice de productividad, Factor Aguirre*, Densidad Inicial, Costo por medicación y vacunas, Porcentaje de rentabilidad y Serología para ENC.

Cuadro 1
Calendario de vacunación y días de administración del MAA® durante los manejos por administración de vacunas de virus vivos durante la engorda de los pollos

Vacuna	Vía	Edad	Cepa	Días de medicación
ENC	Ocular y Subcutánea	4	La Sota	1, 2, 3, 5 y 6
VA	Punción pliegue del ala	4	ND	1, 2, 3, 5 y 6
IBF	Agua bebida	7	Luckert	8 y 9
IBF	Agua bebida	14	Luckert	12 y 13
ENC	Ocular y Subcutánea	16	La Sota	15, 17 y 18
ENC	Agua bebida	28	La Sota	26, 27, 29,30
ENC	Agua bebida	35	Entérica	33, 34, 36 y 37

ND= No Disponible

Resultados

Los parámetros productivos obtenidos (Cuadro 2) muestran reducción estadísticamente significativa (P≤0.05) en el caso de Consumo día ajustado, Conversión de alimento ajustado así como en los Costos por Medicación y Vacunas durante los ciclos productivos; no obstante, numéricamente se observa menor porcentaje de mortalidad y menor selección de aves retrasadas en las parvadas que consumieron el *MAA®* antes y después de la vacunación.

El Índice de productividad fue mayor numéricamente en las aves con *MAA®*; sin embargo, en ambos caso este parámetro fue bajo. De igual forma no se observo diferencia (P≥0.05) en la

ganancia diaria de peso, siendo de 56.2 g en ambos tratamientos, solo que las aves con *MAA*® necesitaron 0.79 menos días para lograr este mismo peso.

La densidad de población medida en aves por m^2 fue estadísticamente igual (P≥0.05) para ambos grupo al inicio de la prueba; sin embargo, al final del ciclo productivo se obtuvieron 0.25 más pollos por m^2 de caseta en las aves con el uso programado del *MAA*® en gran parte debido al menor porcentaje de selección y mortalidad obtenido en estos mismos grupos a lo largo de las engordas.

En promedio se obtuvieron 165 Kg más de carne por parvada en aquellas donde se administró el *MAA*® comparado con aquellas manejadas de manera tradicional durante la aplicación de las vacunas sin modulador. Al final del ciclo productivo los costos de medicación y vacunación fueron significativamente menores (P≤0.05) en $0.167 pesos** por pollo en aquellas aves que recibieron *MAA*® mediante un programa de administración; lo que equivale a una reducción del 7.97% por este concepto.

Cuadro2
Parámetros Productivos obtenidos con el uso programado de *MAA*® para la reducción de condiciones estresantes que afecten el bienestar de los pollos de engorda por manejos rutinarios durante la engorda.

Parámetro Evaluado	Promedio *MAA*®	Testigo	Diferencia
Edad de venta (días)	47.52	48.31	-0.79
% Mortalidad total	5.12	6.95	-1.83
% Selección	1.63	2.04	-0.41
%Mortalidad sin selección	3.49	4.91	-1.42
Consumo por ave (Kg)	5.042	5.261	-0.219
Consumo día ajustado (Kg)	0.1061*	0.1089	-0.0028
Peso de venta (Kg)	2.672	2.713	-0.041
Ganancia diaria de peso (g)	56.2	56.2	0
Conversión de alimento ajustado	1.88*	1.94	-0.06
Índice de Productividad	283	269	14
Factor Aguirre	8.7	7.8	0.9
Densidad Inicial	12.68	12.66	0.02
Costo Medicamentos y Vacunas (ave)	$2.181*	$2.348	-$0.167

*Diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P≤0.05)Prueba de T

Con relación a los estudios serológicos semanales realizados para evaluar la respuesta vacunal a la Enfermedad de Newcastle (ENC), se encontro un incremento estadísticamente significativo en el título promedio (Cuadro 3) en el caso de las aves con uso programado del *MAA*®

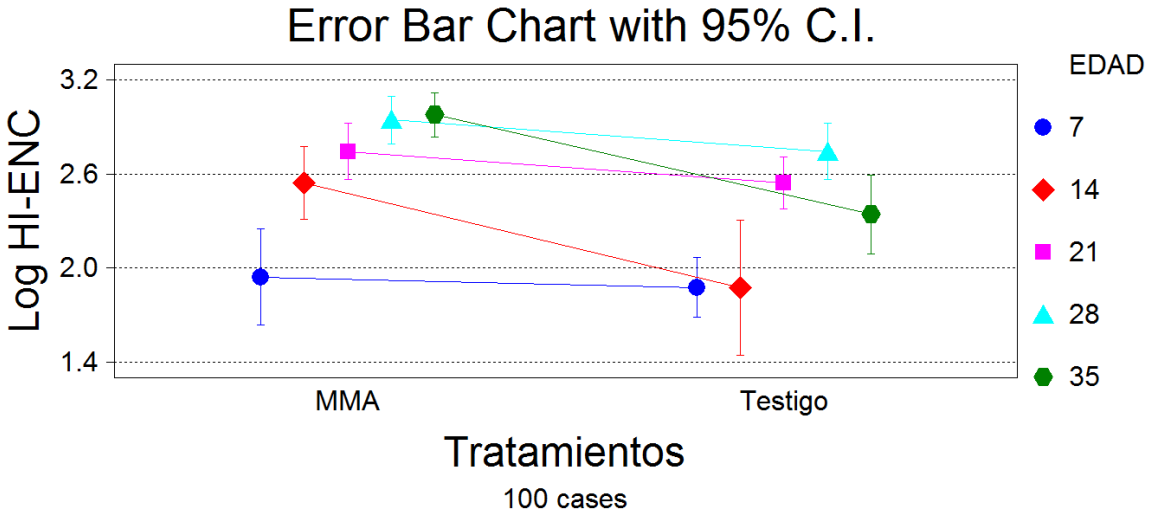
comparado con el testigo sin modulador, así como una mejor uniformidad de los títulos a partir del día 14 de edad. (Figura)

Cuadro 3
Media Geométrica (HI-ENC) obtenida con el programa de uso continuo comparado con el manejo tradicional durante la aplicación de vacunas

Edad	7 (%CV)		14 (%CV)		21 (%CV)		28 (%CV)		35 (%CV)	
MAA®	87.16	(82.8)	348.01*	(65.4)	552.5*	(50.6)	877.14*	(49.1)	958.09*	(43.3)
Testigo	74.69	(49.6)	74.69	(83.2)	348.39	(65.2)	552.5	(50.6)	219.45	(100.5)
P	0.67		0.006		0.07		0.06		0.001	

*Diferencia estadísticamente significativa entre renglones

Figura.



Discusiones y Conclusiones

El bienestar animal está cobrando gran interes en la mayoria de los paises, las causas para determinar la importancia de este pueden ser diversas, siendo desde éticas, legales, de salud y más recientemente por el impacto económico que implica el provocar condiciones estresantes en los animales; diversos estudios coinciden en demostrar que manejos cotidianos en gallinas de postura y pollos de engorda pueden desencadenar estrés en las aves, resultados obtenidos en este estudio demuestran que el manejo durante la administración de las vacunas a pollos por si mismo afectó la respuesta serológica, así como el consumo de alimento y conversión alimenticia. Estudios han reportado una correlación negativa entre ganancia de peso y

desarrollo de inmunidad encontrando una relación inversa entre estos dos rasgos de la vida, debido particularmente a que el estrés incrementan la demanda de energía para la termorregulación, crecimiento y desarrollo de inmunidad.[3,5,8]

Por otra parte la selección por resistencia a enfermedades en los pollos de engorda ha alterado su capacidad de hacer frente al estrés, estudios realizados en pollos de engorda han reportado una interacción importante entre la genética del ave y el medio ambiente donde se desarrollan sobre la respuesta fisiológica al estrés y la presencia de enfermedades, debido a una mayor susceptibilidad a infecciones por bacterias oportunistas. [1,3,6,12] Factores de medio ambiente durante la crianza como son la densidad de población han demostrado tener implicaciones críticas en la industria del pollo de engorda debido a los altos ingresos que se obtienen relacionados con el número de aves alojadas por $m^{2;}$ sin embargo, estas ganancias pueden estar relacionadas negativamente con en el desarrollo de las aves, su salud y bienestar si las densidades son excesivas, provocando principalmente reducción en el peso final, consumo de alimento y conversión alimenticia, así como un incremento en la presentación de dermatitis en cojinete plantar, abrasiones, emplume pobre y decomisos.[4,9]

Por lo anterior es importante ayudar a los pollos durante manejos que les provoquen estrés para no afectar su productividad. La administración del MAA mejoro significativamente el consumo de alimento y conversión alimenticia en pollos sometidos a estrés por manejo durante la administración de vacunas, sin afectar los costos por administración de medicamentos y vacunas. Otros estudios realizados con la aplicación de acidificantes coinciden en en reportar mejoras significativas en el desarrollo de los pollos, particularmente en lo referente a viabilidad y calidad de la canal de pollos sometidos a estrés por calor.[2,10,11]

Una serie de de conclusiones y recomendaciones se han realizado en aspectos como los sistemas de alojamiento, conducta, salud y mortalidad; no obstante el monitoreo y cuantificación del bienestar en las aves domésticas requiere de más estudios relacionados con su patrón de respuesta y la adición de moduladores para reducir el daño por estrés en las aves.

REFERENCIAS

1. Cheng HW, Freire H and Pajor EA. Endotoxin stress responses in chickens from different genetic lines. Sickness, behavioral, and physical responses. Poult Sci 2004; 83:707–715.
2. Daskiran M, Teeter RG, Vanhooser SL, Gibson ML and Roura E. Effect of dietary acidification on mortality rates, general performance, carcass characteristics, and serum chemistry of broilers exposed to cycling high ambient temperature stress. J Appl Poult Res 2004; 13:605–613.
3. Dennis R, Zhang HM, Bacon LD, Estevez I and Cheng HW. Behavioral and physiological features of chickens diversely selected for resistance to avian disease. 1. Selected inbred lines differ in behavioral and physical responses to social stress. Poult Sci 2004; 83:1489–1496.
4. Estevez I. Density allowances for broilers: where to set the limits?. Poult Sci 2007; 86:1265–1272.

5. Hangalapura BN, Nieuwland M, Vries Reilingh G, Van Den Brand H, Kemp B and Parmentier HK. Durations of cold stress modulates overall immunity of chicken lines divergently selected for antibody responses. Poult Sci 2004; 83:765–775.
6. Huff GR, Huff WE, Balog JM, Rath NC, Anthony NB and Nestor KE. Stress response differences and disease susceptibility reflected by heterophil to lymphocyte ratio in turkeys selected for increased body weight. Poult Sci 2005; 84:709–717.
7. Juster R-P, et al.. Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cognition. Neurosci. Biobehav. Rev. (2009), doi:10.1016/j.neubiorev.2009.10.002
8. Mashaly MM, Hendricks GL, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO and Patterson PH. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. Poult Sci 2004; 83:889–894
9. Mitchell A. and Kettlewell PJ. Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problems!. Poult Sci 1998; 77:1803–1814
10. Olanrewaju HA, Wongpichet S, Thaxton JP, Dozier WA and Branton S L. Stress and acid-base balance in chickens. Poult Sci 2006; 85:1266–1274.
11. Ramnath V, Rekha PS and Sujatha K S. Amelioration of heat stress induced disturbances of antioxidant defense system in chicken by Brahma Rasayana. eCAM 2008;5(1)77–84 doi:10.1093/ecam/nel116.
12. Van Poucke E, Van Nuffel A, Van Dongen S, Sonck B. Lens L and Tuyttens FAM. Experimental stress does not increase fluctuating asymmetry of broiler chickens at slaughter age. Poult Sci 2007; 86:2110–2116

® Marca Registrada Alta Tecnología Industrial para la Salud Animal S.A. de C.V
* Factor de productividad utilizado en el Edo. de Jalisco y diseñado por el MVZ Jaime Aguirre, donde el valor máximo es 10.
**Tipo de cambio Peso: Dólar 12.10:1.00 (Febrero de 2011).

Regresar a lista de contenidos

MONITOREO DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN AVES DE COMBATE DEL ESTADO DE MEXICO

Héctor D. Arzate Serrano, Agustín H. Peña Romero, Martín Talavera Rojas, María U. Alonso
[1]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. [2]Federacion Mexicana de Criadores de Gallos de Pelea A.C.
agustinmvz@hotmail.com

Resumen
El objetivo del presente trabajo fue conocer la frecuencia y distribución geográfica de *Cryptosporidium spp.* en aves de combate en el Estado de México. La criptosporidiosis constituye uno de los principales problemas de salud pública en el mundo, hasta el punto de ser considerada en la actualidad como una enfermedad emergente. Se remitieron 93 muestras de sacos ciegos al laboratorio, registrando el lugar de procedencia, color del ave, color de patas y tipo de cresta. La detección de oquistes fue por inmunofluorescencia directa, los ooquistes marcados muestran una fluorescencia verde-manzana brillante. De las 93 muestras procesadas el 100% fue positivo a *Cryptosporidium spp.* y un 44.08% a *Giardia spp.*otro protozoario emergente.

Palabras Clave: *Cryptosporidium spp., Giardia spp*, sacos ciegos, aves de pelea.

Abstract
The aim of the present work was to know the frequency and geographical distribution of Cryptosporidium spp. in birds of combat in the State of Mexico. Cryptosporidiosis is a major public health problems in the world, to the point of being considered today as an emerging disease. There were sent 93 samples of blind sacks to the laboratory, registering the place of origin, color of the bird, color of legs and type of crest. The detection of oquistes was for inmunofluorescencia direct, the marked ooquistes show a green fluorescence brilliant apple. Of 93 processed samples 100 % was positive to Cryptosporidium spp. and 44.08 % to Giardia spp.

Key Words: *Cryptosporidium spp., Giardia spp*., blind sacks, birds of fight.

Introducción

Se trata de una zoonosis de transmisión fecal-oral producida por la ingestión de ooquistes de *Cryptosporidium* excretados en las heces de animales o humanos. Aunque la infección puede ocurrir de forma esporádica, son cada vez más frecuentes los brotes epidémicos (García *et al.,* 2003).

Hasta hace poco se consideraba la criptosporidiosis como una enfermedad rara que ocurría solamente en personas con deficiencias inmunológicas o inmunosuprimidas. Sin embargo resulta cada vez más evidente que *Cryptosporidium* es un agente que afecta a personas inmunocompetentes y debe considerársele como uno de los patógenos que causan diarrea en la población general, y principalmente en niños (Acha y Szyfres, 1986).

En la presente década se ha comenzado a buscar respuesta acerca de su importancia; comprobándose que las infecciones por *Cryptosporidium* son más bien comunes y directamente responsables de cuadros diarreicos como agente primario, entre otros. Los más afectados son los animales jóvenes, y se han reportado brotes en Asia, Australia, Europa y Norteamérica (FONAIAP, 1996).

La criptosporidiosis la ocasionan parásitos del genero *Cryptosporidium* que viven en la región de las microvellosidades de las células epiteliales del aparato respiratorio y gastrointestinal de animales vertebrados. Se tiene conocimiento de infecciones naturales en al menos nueve especies de huéspedes aviares diferentes. En pollos, pavos, y codornices, estos parásitos son, de manera primaria, patógenos que originan enfermedad respiratoria y/o intestinal ocasionando una morbilidad y mortalidad elevada (Calnek *et al.*, 1995).

Materiales y Métodos

Una vez finalizado el combate se procedió a diseccionar a las aves muertas identificando su lugar de procedencia así como sus características morfológicas y de linaje (color, tipo de cresta y color de patas). Las vísceras intestinales de las aves fueron separadas del cadáver y depositadas en una bolsa de plástico estéril, se depositaron en un contenedor con refrigerante y se transportaron al laboratorio a temperatura de refrigeración en cajas térmicas para su posterior procesamiento.

Ya en el laboratorio se prepararon las laminillas con albumina a razón de .1 grs. diluidos en 10 ml. de agua destilada, cubriendo las laminillas con la dilución y dejándolas secar a temperatura ambiente, con el objetivo de que las heces se adhieran a las laminillas.
Se diluyó el contenido fecal del saco ciego en 10 ml. de agua destilada, filtrando con doble gasa y centrifugando a 1500 rpm por 10 minutos. Se desechó el sobrenadante y se colocó con un asa las heces en la laminilla dejando secar.

Una vez secas las laminillas se colocó barniz alrededor de donde se encuentra la muestra para poder agregar el colorante. Se prepara el anticuerpo monoclonal de *Cryptosporidium* en una proporción de 1:4 antígeno:buffer. El buffer está preparado de la siguiente manera:

NaCl - .08 grs.
KCl - .002 grs.
KH2PO4 - .002 grs.
Na2HPO4 - .0115 grs.
} 10 ml. de agua destilada

Se colocaron 50 microlitros del antígeno cubriendo totalmente la muestra y se dejó una hora sobre una gasa húmeda. Después de la hora se enjuagó con el buffer y se dejó secar la laminilla, se colocaron 100 microlitros de azul de Evans por 3 minutos y se enjuagó nuevamente. Una vez preparadas las laminillas se observaron en el microscopio de fluorescencia a 100x. Se utilizó un anticuerpo marcado con FITC contra epítopes superficiales específicos del género se une a los ooquistes de *Cryptosporidium spp.* presentes en la muestra. Utilizando un sistema de filtro para FITC, la excitación con luz UV (longitud de onda de máxima excitación 490 nm, longitud de onda media de emisión 530 nm) causa que los ooquistes marcados muestren una fluorescencia verde-manzana brillante.

Resultados

De las 93 muestras procesadas el 100% fue positivo a *Cryptosporidium spp.* identificando la morfología correspondiente, además de que el anticuerpo que se utilizó también reaccionaba para *Giardia spp.* la cual se encontró en un 44.08% de las muestras de los diferentes municipios del Estado de México.

Municipio	*Cryptosporidium spp.*	*Giardia spp.*
Almoloya de Juárez	2/2	½
Atlacomulco	8/8	2/8
Calimaya	4/4	¼
Capulhuac	1/1	1/1
Cuajimalpa	1/1	1/1
El Oro	2/2	0/2
Ixtlahuaca	17/17	5/17
Jiquipilco	5/5	3/5
Lerma	9/9	3/9
Metepec	4/4	2/4
Naucalpan	1/1	0/1
Ocoyoacac	3/3	2/3
San Mateo Atenco	1/1	1/1
Santiago Tianguistenco	1/1	1/1
Santa María del Monte	2/2	½
Tejupilco	3/3	3/3
Tamascaltepec	1/1	0/1
Temoaya	1/1	1/1
Tenancingo	1/1	0/1
Tenango	4/4	2/4
Toluca	17/17	11/17
Villa Cuahutemoc	1/1	1/1
Zinacantepec	4/4	¼
	93/93 (100%)	**43/93 (46.2%)**

Se registraron características fenotípicas para observar si existía predisposición por alguna de éstas, pero al estar presente *Cryptosporidium spp*. en el 100% de las muestras no tiene relevancia.

Discusión

Los estudios realizados en este protozoario son en avicultura comercial y no en aves de combate. *Cryptosporidium spp.* se encuentra presente en el 100% de las muestras en aves de combate del Edo. de México así como *Giardia spp*. en un 46.2%, dos protozoarios emergentes en salud pública.

Referencias

1. Avery B, Lemley A, Hornsby A. (2000): *Cryptosporidium*: un parasito transmitido por el agua. http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/SS/SS33000.PDF, (18 de mayo de 2011).
2. Acha P, Szyfres B. (1986): Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª ed., Organización Panamericana de la Salud, EU.
3. Barboni G, Candi M, Villace M, Leonardelli, Balbarysky Gaddi E. (2008): Criptosporidiosis intestinal en niños con HIV/SIDA. http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol6808/3/v68_n3_p213_218_.PDF, (18 de mayo de 2011).
4. Bowman D, Lynn R, Eberhard M. (2004): Parasitologia para veterinarios. 8ª ed., Elsevier, España.
5. Calnek B, Barnes J, Beard C, Mcdougal L. (1995): Enfermedades de las aves. 10ª ed., Manual moderno, México.
6. Chester P, Clifton P, Wayne E. (1990): Parasitología clínica. 2ª ed., Salvat, México.
7. Colville J, Berryhill D. (2007): Handbook of zooneses. 1ª ed., Mosby Elsevier, USA.
8. Del Coco V. (2008): Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v41n3/v41n3a11.PDF, (18 de mayo de 2011).
9. Díaz M, Leyva E, Mata V. (2003): Incidencia y vialbilidad de *Cryptosporidium parvum* en el agua potable de Ciudad Obregon, Sonora, Mexico. http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/congresos/TLAXCALA%202009/REVISTA/contaminacion/acervo/vol_19_2/2.PDF, (18 de mayo de 2011).
10. FONAIAP (1996): Diagnóstico y control de la criptosporidiosis aviar. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd53/aviar.htm (18 de mayo de 2011).
11. García a, Fernández C, López C. (2003): Brotes Epidémicos de criptosporidiosis.http://www.seimc.org/control/revisiones/parasitologia/Brotcripto.PDF, (18 de mayo de 2011).
12. Fontes L. (2009): *Cryptosporidium*. http://www.ungefcm.gq:8081/datas/agentesbiologicos/contenidos/generales/bibliografia_basica/microcap91.PDF, (18 de mayo de 2011).
13. OIE (2008): Manual de la OIE sobre animales terrestres. http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.09.04.%20Criptosporidiosis.PDF, (18 de mayo de 2011).
14. Quiroz H. (1986): Parasitologia y enfermedades parasitarias de animales domesticos. 1 ª ed., Limusa, México.
15. Rivera O, Vásquez L. (2006): *Cryptosporidium spp*.: Informe de un caso clinico en Popayán, Cauca. http://www.gastrocol.com/FrontPageLex/libreria/cl0005/pt
16. /13cryptosporidium321.PDF, (18 de mayo de 2011).
17. Rodríguez J, Royo G. (2006): *Cryptosporidium* y Criptosporidiosis. http://www.seimc.org/control/revisiones/parasitologia/crypto.PDF, (18 de mayo de 2011).
18. Stanchi N, Martino P, Gentilini E, Reinoso E, Echeverria M, Leardini N, Copes J. (2007): Microbiología veterinaria, 1ª ed., Inter-Medica, Argentina.
19. Suárez M, Trujillo F. (2010): *Cryptosporidium* de niños de la provincia Ciego de Ávila. http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2011/pt111d.PDF. (18 de mayo de 2011).
20. Thrusfield M. (1990): Epidemiologia veterinaria. 1ªed., Acribia, España.

Regresar a lista de contenidos

ESTUDIO PRELIMINAR DEL EFECTO A LA VACUNACIÓN CONTRA ENC Y LOS NIVELES DE LECTINA LIGADORA DE MANANOS (LLM) EN POLLO DE ENGORDA

Raúl F. Cortés Coronado[1], Sergio Gomez Rosales[2], María de Lourdes Angeles, [3]Therese Casaubon H*

[1]asesor privado, [2]CENIDFyMA- INIFAP, [3]Clínca de Aves. FMVZ. UNAM
*rfcortes@prodigy.net.mx

Resumen

El Hígado produce una proteína de la fase aguda, que es capaz de neutralizar antígenos y activar complemento denominada Lectina Ligadora de Mananos (LLM). Los niveles séricos de LLM dependen del genotipo del ave, existiendo una población en la que no varían y otra donde se incrementan hasta 3-4 veces sobre el nivel basal posterior a un estimulo antigénico. En el presente trabajo se utilizaron 90 pollitos de un día, de la misma línea genética, sin sexar. Se distribuyeron a partir del día 17 en jaulas individuales y se tomaron muestras ese día y en los días 21,28,35 de vida. Se vacunaron contra ENC (cepa La Sota) al día 21. No se encontraron diferencias de los niveles de LLM o los Títulos (ELISA) contra ENC (TENC) al comparar por sexos Tomando en cuenta la distribución de LLM a los 17 días, se encontraron dos poblaciones (nivel sérico) de LLM que se definieron como AltasLLM (aLLM) y BajosLLM(bLLM). Los títulos en las aves aLLM que iniciaron casi 2.6 superiores a los bLLM (al día 17), disminuyeron hasta 1.6 veces a los 35 días. Los pesos de las aves aLLM fueron menores a los 17 y 35 días ($p<0.05$) en comparación a los bLLM. No se encontraron diferencias para las conversiones de alimento. Los TENC fueron iguales en ambas poblaciones para el día 17. Al día 35 los TENC fueron mas altos significativamente ($p<0.01$) para la población bLLM en comparación a la aLLM. (1.25:1). Esta evaluación preliminar confirma la existencia de dos poblaciones genéticamente distintas en la producción de LLM, por otra parte el que las aves pertenezcan al grupo aLLM se relacionó con un menor peso corporal y una menor respuesta a la vacunación contra ENC.

Palabras Clave: Peso, Títulos post-vacunales,

Introducción

La prohibición del uso de antibióticos en avicultura, demandada por los consumidores de productos aviares, es un hecho en la comunidad Europea y pronto será una norma a seguir a nivel mundial ((Edens, 2003) (Ratchiff, 2000). Lo que ha traído una importante línea de investigación en los factores inmunes de resistencia innatos, que permitan mejorar la salud y en consecuencia la respuesta productiva de las aves. Una adecuada relación entre la actividad del sistema inmune y la tasa de crecimiento de los animales es fundamental para mantener el crecimiento y la conversión de alimento en parámetros económicos aceptables para el avicultor (Kogut, 2009) (Kogut, An immunologist´s perspective on nutrition, immunity,and infectious diseases: Introduction and overview, 2009). A nivel de la mucosas se encuentran distribuidas ampliamente células dendríticas que se encargan del monitoreo de Patrones Moleculares de Patógenos (PAP). Estas células son capaces de presentar diferentes antígenos a los

macrófagos y otras células linfoides de la lamina propia, lo que permite modular respuestas en cada caso (Feinberg, 2001) (Hart, 1997).

En una primera fase, la respuesta no puede ser mediada por líneas específicas de leucocitos o Inmuno globulinas específicas, dado que estas respuestas requieren por su especificidad de un tiempo de activación. El tiempo de activación de la respuesta específica es mayor cuando el agente patógeno es encontrado por primera vez y solo está mediado por el sistema inmune innato y de menor duración si ya es un agente previamente reconocido cuando se ha activado el sistema inmune adaptativo (sea por vacunación o por infección natural) (Hart, 1997) (McPhearson, 2004). A pesar de que la respuesta específica es más efectiva para el control de los patógenos y menos demandante metabólicamente, el tiempo de reacción puede constituir un perjuicio a para el mantenimiento de la vida de los animales. Por esta razón, existen mecanismos de activación del sistema inmune, menos específicos pero de reacción más inmediata, que se conocen como respuesta inmune innata y que se activan en las primeras horas que se detecta un agente potencialmente patógeno.

Dentro de estas respuestas inmunes innatas se pueden reconocer tanto la activación de líneas celulares (células dendríticas, macrófagos, NK) así como de proteínas de origen hepáticas (proteínas de fase aguada (Standnyk, 1990) (Kopecek, 2001) que corresponden a varios grupos con funciones distintas, como la protección celular y el reconocimiento e inactivación de los patógenos (colectinas, proteína c reactiva, proteínas de complemento).
La activación de los macrófagos es indispensable para la liberación de interleucinas, específicamente la IL-1 e IL-6 que son capaces de activar a nivel hepático la producción de distintas proteínas de la fase aguda y mediar otras respuestas metabólicas que permitan la movilización de recursos para dicha síntesis proteíca (Spurlock,1997) .Entre las proteínas de la fase aguda se encuentra la Lectina Ligadora de Mananos (LLM o MBL más conocida por sus siglas en ingles). Dicha proteína ha sido caracterizada en las aves y es un polímero de proteína y carbohidratos de estructura distinta a las IgG, y sin tener la especificad de las mismas (Laursen,1998) (Laursen,2000) (Nielsen,1999) (Wang, 1986).

La LLM es capaz de ligarse a las estructuras tipo manosa presentes en la membrana de los microorganismos y también a estructuras similares en las células que han sufrido cambios por efecto de la infección. La adhesión de las LLM es capaz de activar al sistema inmune por dos vías. Las LLM pueden servir como neutralizador (evitar adherencia a las células) y marcadores para la opsonización de microorganismos o células muertas frente a los macrófagos y linfocitos activados en forma inespecífica. Esto a su vez permite amplificar la respuesta inflamatoria (Laursen,2000) (Nielsen,1998). Por otra parte las LLM pueden activar la fijación de complemento por la vía alterna (proteína C3), lo que igualmente permite incrementar en forma significativa la capacidad del sistema inmune innato para detener las infecciones (Linch, 2005) (Norup, 2007). Esta activación es mayor que la iniciada por IgY, que en las aves, son menos activas fijando complemento. La falla de este sistema en humanos a sido asociada a procesos infecciosos crónicos o a padecimientos que no responden adecuadamente al uso de antibióticos (Seibold, 2007).

Se ha demostrado que las infecciones virales por vía respiratoria o digestiva, incrementan la producción de LLM como una parte de las respuestas. Dichas LLM se encuentran distribuidas en mayor proporción en el órgano de producción (Hígado) o los órganos "Blanco" de la infecciones (tráquea, Bolsa de Fabricio). Aunque la respuesta es inmediata, el mayor incremento post-infección de LLM se realiza a los 3-4 días y desaparece paulatinamente en los siguientes 5-6 días, dado que estas proteínas no son de larga duración como las IgY (Laursen,2000) (Nielsen,1999).

La mayor producción de LLM se correlaciona negativamente con los títulos de IgG originados por la infección. Se ha propuesto como explicación que la capacidad de la MBL para neutralizar virus, no hace necesario activar otro tipo de respuesta inmune o existe menor capacidad de presentar el antígeno (Juul-Madsen, 2003) (Kase, 1999) (Nielsen,1998). Se ha relacionado también la presencia de LLM como un agente que puede inactivar en forma importante al virus de la influenza, que representa una de las amenazas de salud más importantes (Lillehoj, 2007) (Kase, 1999). En las aves se encuentran rangos muy amplios en la distribución sérica de las LLM. En muestreos de varias líneas genéticas se encuentran valores de 5-37 microgramos/ml, que no están ligados a la estirpe. (Laursen, 2000).

En México no se ha desarrollado ninguna evaluación que muestre como es el comportamiento de los perfiles de LLM en los pollos comerciales, ni de la influencia que pudieran tener en los resultados de vacunación contra enfermedades endémicas como el New Castle, por lo que se plantea esta primera evaluación para conocer dicho comportamiento en una muestra de aves comerciales.

Material y Método

1) Se criaron 90 pollitos Ross-Ross, no sexados en jaulas durante 17 días a partir del nacimiento (grupos de 5 aves por jaula cada uno). Se alimentaron ad libitum con una dieta que cubría los requerimientos del NRC(94) en harina. Las aves fueron vacunadas en incubadora contra Mareck. No se aplicó ningún otro tratamiento clínico en la incubadora o a la recepción. Se mantuvieron en condiciones de temperatura de acuerdo a los requerimientos sugeridos para la etapa por el manual Ross de crianza.
2) Al día 17, las aves fueron colocadas en jaulas individuales. Se pesaron y se sangraron por el ala y se mantuvieron en sus jaulas durante los siguientes 18 días. Se repitieron los sangrados al día 21, 28 y 35 de edad. Se alimentaron con una misma dieta de desarrollo que cubría los requerimientos del NRC(94). No se aplicó ningún tratamiento clínico. Las aves fueron vacunadas al día 21 contra ENC por vía ocular con una sola gota de una vacuna comercial con cepa LasSota.
3) Las muestras de sangre fueron dejadas a coagulación a temperatura ambiente y posteriormente se separó el suero. Se guardaron todos los sueros a temperatura de congelación, hasta su posterior envío al laboratorio de análisis. Las muestras se dejaron descongelar para poder realizar las alícuotas que permitieran los análisis por ELISA.
4) El análisis de ELISA para LLM ser llevó a cabo por el método descrito por Norup y Juul Madsen (Norup, 2007). Los análisis se desarrollaron en el Laboratorio del Fac. Agric. Y Ciencias de la Universidad de Aarhus (Dinamarca).). En el mismo laboratorio se

realizaron las determinaciones de Ac para ENC utilizando el Proflock NDV plus elisa kit de Symbiotiks Europe SAS (Francia).

5) Debido a que no se contó con la posibilidad de explorar los haplotipos de las aves, los resultados fueron clasificados en dos grupos de acuerdo a la cinética de comportamiento de los mismos: No reactivos BLLM: grupo de aves que no varió el nivel de LLM durante los 4 muestreos en más de 4 µ/ml Reactivo ALLM: grupo de aves que varió el nivel de LLM durante los 4 muestreos en más de4 µ/ml (aumento o disminución)
6) Los resultados fueron analizados por ANOVA.

Resultados

En el figura 1, se pueden observar los efectos de la división por grupos BLLM y ALLM. Las aves BLLM resultaron más pesadas a los 17 y 35 días, mostrando una mayor ganancia de peso y mejor conversión, considerando la distribución por sexos entre los grupos.

En la figura 2 se muestra la diferencia los valores de LLM para los grupos BLLM y ALLM al inicio de la toma de muestras en el día 17 de vida. Se aprecia claramente la diferencia entre los dos grupos de aves, con un valor aproximado de 2.5 veces a 1 para el grupo ALLM en comparación al BLLM.

En la figura 3 se puede observar la cinética del comportamiento de los valores de LLM para ambos grupos. Los cuales muestran claramente las diferencias existentes en ambos. Mientras el grupo BLLM no modificó sus promedios en las 4 tomas, mostrando niveles séricos menores a 9 µg/ml, el grupo de ALLM mostró un nivel hasta 3 veces mayor al inicio de la prueba y luego fue descendiendo hasta aproximarse al nivel de menos de 9 µcg/ml.

La figura 4 muestra los resultados de los niveles de anticuerpos (ELISA) contra ENC en los dos grupos. Al inicio de la prueba el grupo ALLM presentaba hasta un 20% mayor título que el grupo BLLM, que corresponde al residual de anticuerpos maternos. Luego de la vacunación al día 35 se observa una diferencia con mayores títulos para el grupo BLLM sobre el grupo ALLM de casi 20%.

No se observaron modificaciones histopatológicas en las muestras de hígado, intestino (dos secciones), bolsa Fabricio entre ambos grupos. Considerándose en todos los casos estructuras normales sin signos clínicos.

Discusión

De acuerdo a los resultados mostrados, se presenta una distribución tipo F para los niveles de LLM en las aves, similar a la encontrada en 13 líneas genéticas tomadas al azar entre ellas (Laursen, 2000). Lo que confirma que la producción de LLM difiere en forma importante entre las aves, incluidas las muestreadas en el presente trabajo de la línea Ross-Ross. Los resultados muestran similitudes con los reportados por otros autores (Laursen,2000) (Nielsen,l1998) (Juul-Madsen, 2003) en relación a la existencia de dos diferentes haplotipos en las aves por lo que respecta a la respuesta innata mediada por las LLM. Esto es que no se detectaron aves que no sean capaces de producirlas o mantener un nivel sérico mínimo, como se ha reportado ya

en humanos (Seibold, 2007). Pero es claro que hay animales que no reaccionan de igual manera a los estímulos infecciosos que son capaces de detonar la producción hepática de las LLM. De esta forma a pesar de ocurrir los estímulos, los niveles séricos no varían en el tiempo. Por otra parte existen aves que son capaces reaccionar con la producción de LLM a los estímulos antigénicos y por lo tanto incrementar hasta 3 veces o más su respuesta en comparación a las "no reactivas" (Laursen,2000) (Juul-Madsen, 2003). En nuestra evaluación se pudo demostrar el nivel no variante del grupo clasificado como BLLM . En comparación el ALLM se modifico hasta 2.5 veces el nivel de las BLLM, pero no llego a ser igual entre los grupos en ninguna de las tomas, dato que se corresponde al referenciado por los otros autores.

Debido a que las LLM son secretadas cuando existe el umbral suficiente de IL-6, esto significaría que las aves ALLM son capaces de reaccionar a una señal dada en alguna parte del organismo. En este caso no se pudo detectar un factor que pudiera clínicamente asociarse con esta reactividad. Por otra parte, dado que las LLM son una medida de un proceso inflamatorio y ellas mismas pueden detonarlo al ser capaces de fijar complemento y activar la mayor producción de interleucinas por los macrófagos que reconocen el complejo inmune antígeno-anticuerpo, esto se puede asociar a los cambios en los pesos observados en las aves al inicio de las observaciones.

Las interleucinas, especialmente la IL-1-a que se produce como resultado de un proceso inflamatorio desencadenado por algún agente infeccioso o traumático, son capaces de modificar el metabolismo de las aves, además de generar mayor secreción de otras interleucinas como la IL-6 necesaria para desarrollar la secreción hepática de las proteínas de la fase aguda, en este caso las LLM. El efecto en el metabolismo de la IL-1 además, tiene que ver con la movilización de proteínas de los tejidos, anorexia y fiebre, factores que llevan a disminuir el crecimiento de las aves en algún momento del desarrollo. En el caso de los datos encontrados, esto se sugiere pudo ser la causa de las diferencias en peso encontradas entre los grupos (Spurlock,1997).

Adicional a los cambios de peso por los factores ya mencionados, las LLM son capaces de inactivar a los virus como el de Influenza Aviar , aunque no se ha demostrado que también sean efectivas contra el virus de ENC que comparte las estructuras de HA (Kase, 1999). Las LLM se fijan a las estructuras de HA del virus de Influenza y activan la adhesión de algunas de las proteínas del complemento, lo cual neutraliza al virus y evita que se adhiera a las células o bien, una vez fagocitados, que no se propague. Se sugiere que este mecanismo también, de alguna manera, interfiere con la presentación de antígeno por las células especializadas con lo que la producción de anticuerpos se vería disminuida.

Los datos en esta evaluación muestran similitudes con los obtenidos por Norup contra E. Coli (Norup, 2007) o los deJuul-Madsen contra Bronquitis Infecciosa (Juul-Madsen, 2003) y Nielsen (Nielsen,1999) contra Laringo Traqueitis. El presente reporte es el primero que muestra el efecto de las LLM en los resultados de vacunación contra ENC. Sin embargo, la diferencia en los títulos de anticuerpos vacunales contra ENC entre ambos grupos, no puede ser relacionada con una falta de protección ante la enfermedad, dado que no fueron desafiadas las aves y en todo caso es posible que esta respuesta en LLM apoyara en forma indistinta a las aves en caso

de una infección de campo. Es muy interesante el dato que el patrón de caída de las LLM en el grupo ALLM no se modificó por la vacunación ocular con virus de ENC, situación que no tendría explicación si suponemos que las infecciones son capaces de activar el proceso inflamatorio innato, a menos que, el virus ENC por la vía ocular no sea capaz de desarrollar una reacción inflamatoria suficiente para detonar el proceso de liberación de proteínas de la fase aguda.

Conclusiones

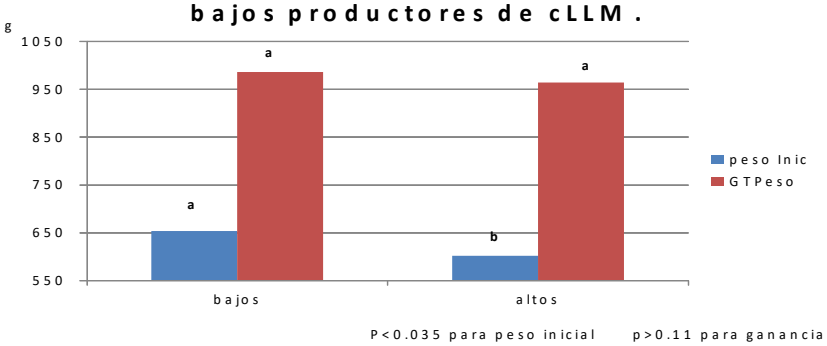
1) Se demostró que en pollos comerciales Ross-Ross B308 se presenta un patrón de distribución de las LLM similar al descrito por otros autores para otras poblaciones de aves comerciales.
   Es claramente posible dividir a las aves en dos tipos de acuerdo a su respuesta en la producción de LLM, las BLLM que no modifican prácticamente su nivel sérico durante su vida y las ALLM que son capaces de modificarlo hacia arriba de 2 a 3 veces sobre los niveles encontrados en el otro grupo. Esta respuesta está caracterizada por una combinación genética de distintos haplotipos.
2) Las aves ALLM presentaron un menor peso al momento de presentarse el nivel sérico más alto de LLM y posteriormente tuvieron menor peso y más alta conversión al final de la evaluación.
3) Los niveles de anticuerpos séricos contra ENC fueron inversamente proporcionales al nivel máximo de LLM encontrado en el suero de las aves. Las ALLM presentaron hasta un 20% menos de respuesta vacunal que las BLLM.
4) El nivel de LLM como medida de la respuesta innata, es un factor a considerar en futuras evaluaciones en relación a la susceptibilidad de las aves a diferentes enfermedades en adición a los niveles séricos de otros anticuerpos y por sus efectos en las evaluaciones de comportamiento nutricional.

REFERENCIAS

1. Edens, F. (2003). An alternative for antibiotics use in poultry:probiotics. *Rev.bras. cienc.avic* , 5(2)May-august.
2. Feinberg, H. (2001). Structural basis for selective recognition of oligosaccharides by DC-SIGN and DC-SIGNR. *Science* , 294(7):2163.2166.
3. Hart, N. (1997). Dendrite cells: unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood* , 90:3245-3287.
4. Hooper, L. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* , 292:1115-1118.
5. Juul-Madsen, H. (2003). Serum levels of mannan-binding lectin in chickens prior to an during experimental infection with avian infectious bronchitis virus. *Poult. scie.* , 82:235-241.
6. Kase, T. (1999). Human mannan-binding lectin inhibits the infection of influenza A virus without commplement. *Immunology* , 97:385-392.
7. Kogut, M. (2009). An immunologist´s perspective on nutrition, immunity,and infectious diseases: Introduction and overview. *J. app. poult. res.* , 18:103-110.
8. Kogut, M. (2009). Impact of nutrition on the innate immune response to infection in poultry. *J.Appl. Poult. Res.* , 111-124.
9. Laursen, S. (1998). Clonning an sequencing of a cDNA encoding chicken mannan-binding lectin (MBL) an comparasion with mammalian analogues. *Immunology* , 93(3):421-430.
10. Laursen, S. (2000). Mannan-binding lectin (MBL) in chickens: molecular and functional aspects. *Development and Compartive Immunology* , 24:85-101.

11. Lillehoj, H. (2007). Immunogenomic approaches to study host immunity to enteric pathogens. *Poult. Scie.* , 86:1491-1500.
12. Linch, N. (2005). Composition of the lectin pathway of complement in gallus gallus: absence of mannan-binding lectin-associtated serine protease-1 in birds. *Jour. Immunology* , 174:4998-5006.
13. McPhearson, A. (2004). Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* , 303:1662-665.
14. Nielsen, O. (1998). Immunohistochemical investigation of the tissue distribution of mannan-binding lectin in non-infected and virus infected chickens. *Immnunology* , 94:122-128.
15. Nielsen, O. (1999). Serum levels of chicken MBL during virus infections, indication that chicken MBL is an acute phase reactant. *Vet. Imm. and Immunephatology* , 70:309-316.
16. Norup, L. (2007). An essay for measuring the mannan-binding lectin pathway of complement activation in chickens. *Poult. scie.* , 86:2322-2326.
17. Ratchiff, J. (2000). antibiotic bans: a European perspective. *Proceedings 47th Maryland Nut. Conf. for Feed Man.* , March 22-24.
18. Seibold, F. (2007). Association of deficiency for mannan-binding lectin with anti-mannan antibodies in Chron´s disease: a family study. *Gut doi:10.1136/gut.2010.208348* .
19. Spurlock, M. (1997). Regulation of metabolism and growth during immune chalange: an overvirew of cytoquine function. *J. Anim. Scie.* , 75:1773-*1783.*
20. *Spurlock, M. (1997). Regulation of metabolism and growth during immune challenge: an overview of cytokine function. Journal of Animal Scie. , 75:1773-1783.*
21. *Standnyk, A. (1990). The acute-phase protein response in parasite infection. Immnunology , 69(4):588-595.*
22. *Wang, K.-Y. (1986). Identification of hte mayor mannose-binding proteins from chicken egg yolk and chicken serum as immunoglobulins. Proc. Natl. Acad. Sci , 83:9670-9674.*

Figura 1. Comparación de Pesos Iniciales (g) y Ganancia total de peso (g) entre Grupos altos y bajos productores de cLLM.



. **Figura 2. Comparación de concentración sérica de cLLM a 17 días entre Grupos altos y bajos productores de cLLM..**

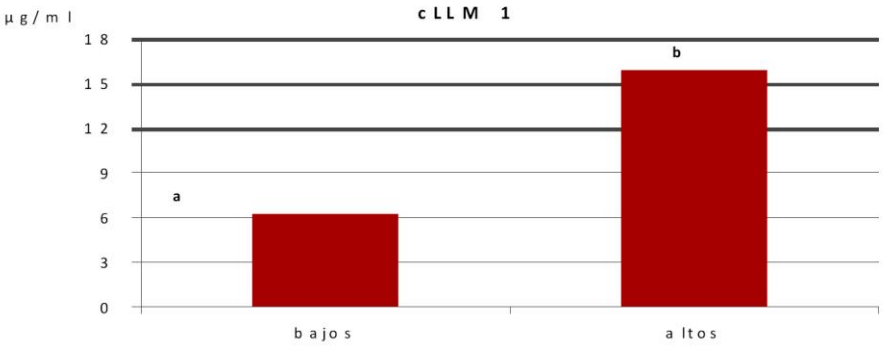


Figura 3 Comparación de valores séricos de LLM por grupos en relación al tiempo de muestreo

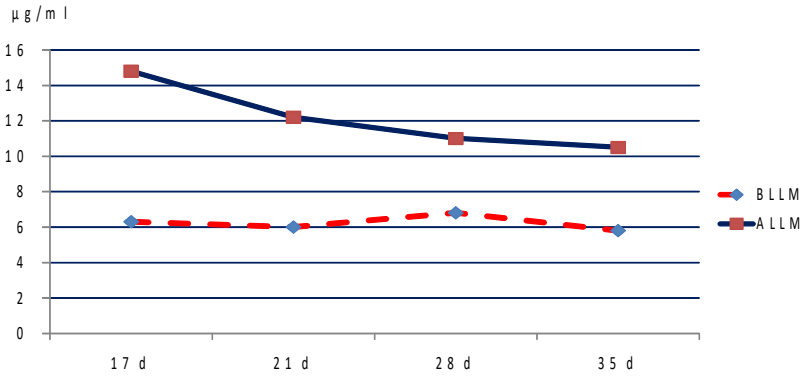
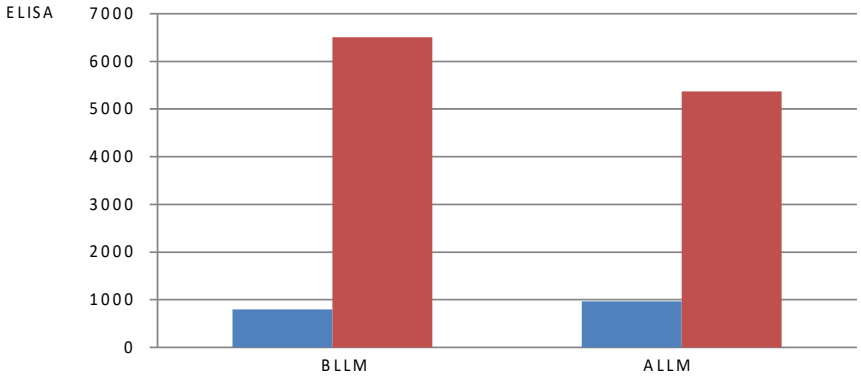


Figura 4. Comparación de concentración sérica de Ac NDV a 17 y35 días entre Grupos altos y bajos productores de cLLM..



Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN DE DOS ACEITES ACIDULADOS DE SOYA EN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN HUEVO

Jennifer Pérez Martínez[1]; J. Manuel Cuca García[1]; Arturo Pro Martínez[1]; Gustavo Ramírez Valverde[1]; Silvia Carrillo Domínguez[2]; Ernesto Ávila Gonzales[3].*

[1]Programa en Ganadería, Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados Texcoco, Estado de México. Tel: 015 9595 20200. Ext. 1725.
[2]Instituto de nutrición Salvador Subirán.[3] FMVZ.UNAM.
*jmcuca@colpos.mx

RESUMEN

Los aceites son ingredientes que se usan en la alimentación animal, por su alto contenido de energía. Por lo que se evaluaron dos aceites acidulados de soya (AAT y AAY) y el aceite crudo de soya (ACS) en las variables producción, calidad y composición de ácidos grasos en huevo. Se utilizaron 240 gallinas Bovans White de 30 semanas de edad, en seis tratamientos, con cinco repeticiones, con ocho gallinas cada una. El aceite crudo de soya y los aceites acidulados de soya se incluyeron en dos niveles 2 % y 4 %. Se evaluaron las variables consumo de alimento (CON), conversión alimenticia (CONV), peso huevo (PH), masa de huevo (MH), porcentaje de postura (PP) y perfil de ácidos grasos en huevo. Para las variables evaluadas no hubo diferencias ($p>0.05$); en PP, PH, MH, CON y CONV. En la evaluación de la composición lipídica del huevo se encontró que la cantidad de ácidos grasos fue afectada por los tratamientos, en doce semanas de experimentación. Se concluye que los aceites acidulados, como fuente de EM, son una alternativa para usarse en la formulación de dietas para gallinas, y que la variación que hay en su composición de ácidos grasos no afecta los parámetros productivos.
Palabras clave: Aceite crudo de soya, composición lipídica, energía metabolizable, gallinas.

INTRODUCCIÓN

Las necesidades de energía de las aves de postura son un factor económico importante que influye en el precio del alimento y en la rentabilidad de la explotación, por lo que es conveniente utilizar ingredientes de bajo costo y alto contenido de energía que permita formular dietas más económicas y adecuadas a las necesidades energéticas de las aves, con el objeto de obtener mayores ganancias.

En las dietas para gallinas, se utiliza el aceite crudo de soya por su alto contenido de ácido linoleico (Zumbado *et al*., 1999; Leeson y Summers, 2005) y de otros ácidos grasos insaturados, los cuales son más digeridos por las aves en comparación con las grasas de origen animal que contienen más ácidos grasos saturados (Sklan, 1979) lo que reduce su digestión (Wiseman y Salvador, 1991). Una alternativa como fuente de energía para las aves es el aceite acidulado de soya que tiene un precio inferior al aceite crudo se soya, sin embargo su composición de ácidos grasos es muy variable, ya que depende del tipo y calidad del aceite crudo del cual se obtengan así como de las condiciones del proceso de refinación (Woerfel, 1983), el cual está basado en procesos físicos y químicos. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue

evaluar si la composición lipídica de los aceites acidulados cambia la composición lipídica del huevo y la producción de las gallinas ponedoras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 240 gallinas Bovans White de 30 semanas de edad, las cuales se distribuyeron en grupos homogéneos, en seis tratamientos, con cinco repeticiones, con ocho gallinas cada una, se alojaron dos gallinas por jaula de. El diseño experimental fue completamente al azar, el periodo experimental fue de 16 semanas, donde se evaluaron tres aceites (ACS, AAT y AAY), a dos niveles 2 % y 4 % en dietas a base de sorgo - pasta de soya. Las gallinas recibieron 16 h luz por día. Las características productivas evaluadas fueron peso del huevo (PH) pesado todos los días, consumo de alimento (CON), conversión alimenticia (CONV), masa de huevo (MH), porcentaje de postura (PP).Las dietas fueron isocalóricas a base sorgo – pasta de soya (Cuadro 1), cubriendo los requerimientos de aminoácidos, energía, vitaminas y minerales para gallinas señalados por NRC (1994) y Cuca *et al* (2009). El agua y alimento se ofrecieron *ad libitum*.

Cuadro 1. Análisis calculado de las dietas experimentales (%)

Análisis calculado	T1	T2	T3	T4	T5	T6
EM (Kcal/kg)	2800	2800	2800	2800	2800	2800
Proteína cruda (%)	15.53	15.23	15.55	15.37	15.55	15.37
Calcio (%)*	4	4	4	4	4	4
Fósforo disponible (%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Lisina (%)	0.83	0.83	0.82	0.83	0.82	0.83
Metionina+Cistina (%)	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
Triptófano (%)	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
Treonina (%)	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61
Àcido linoleico (%)	1.88	2.9	1.42	1.98	0.94	1.02

*18= fósforo y 21=calcio
EM= energía metabolizable.
T1, aceite crudo de soya al 2 %; T2, aceite crudo de soya al 4 %; T3, aceite acidulado de soya T al 2 %; T4, aceite acidulado de soya T al 4 %; T5, aceite acidulado de soya Y al 2 %; T6, aceite acidulado de soya Y al 4 %.

Composición de ácidos grasos en huevo

Para conocer el contenido de ácidos grasos en huevo, se tomaron 4 huevos por repetición, se mezclaron con la yema (pool); mediante la técnica lípidos totales AOAC (2000) método 923.07 y perfil de ácidos grasos AOAC (2000) método 969.33.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se muestran en el (Cuadro 2), donde se aprecia que no hubo diferencias ($p>0.05$) entre aceites y niveles para PP, PH, MH, CON y CONV. El PP no disminuyó, lo cual se podría atribuir a que las dietas eran isocalóricas, ya que la producción de huevo aumenta al incrementar la energía (Leeson, 1996). Mientras que Brake (1990) reporta que la adición de aceites a niveles de 2 % (2943 Kcal/kg), 4 % (3043 Kcal/kg) y 6 % (3140 Kcal/kg) en la dieta de

gallinas en producción no disminuye la producción de huevo. El PH no se afectó por el porcentaje de la composición de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados del aceite crudo y los aceites acidulados a pesar de que el ACS contenía 16.50 % de poliinsaturados, el AAT 16.97 % y el AAY 4.88 %, datos parecidos a los encontrados por Pardio *et al* (2005) quienes no encontraron diferencia en el peso del huevo al utilizar el aceite acidulado de soya al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de aceite acidulado de soya.

Algunos autores atribuyen el peso del huevo a un ácido graso en específico, Wiseman (1994) menciona que el ácido linoleico (AL) es importante para obtener huevo de mayor tamaño. Sin embargo, en esta investigación realizada el contenido de AL era diferente en las dietas (Cuadro 2) lo cual no influyó en el PH, ya que es la composición de todos los ácidos grasos de los aceites lo que incrementa el tamaño del huevo (Whitehead *et al*., 1993).
El CON no fue diferente, ya que las concentraciones de EM en las dietas fue igual (2800 Kcal/kg), se sabe que las aves ajustan su consumo de alimento de acuerdo a la concentración de energía de la dieta, (Cuca *et al*., 2009) cuando la concentración energética de las dietas aumenta comen menos, y con dietas de baja concentración energética comen más (Leeson *et al.,* 2000). Harms *et al* (2000) mostraron que las gallinas alimentadas con dietas que contenían 2519 Kcal de EM/kg, consumían 8.5 % más alimento, que gallinas alimentadas con dietas que contenían 2798 Kcal de EM/kg, y 3.0 % menos con gallinas alimentadas con dietas que contenían 3078 Kcal de EM/kg. La MH y la CONV tampoco fueron diferentes ya que el PH y el CON tampoco lo fueron respectivamente.
Por otra parte el haber adicionado hasta un 4 % de aceite acidulado de soya no afectó la producción en las gallinas.

Cuadro 2. Variables productivas durante 16 semanas de experimentación en gallinas Bovans White

Tratamiento*	PP(%)	PH(g)	MH(g) Ave/día	CON(g) Ave/día	CONV
T1	96.1	58.9	56.6	103.2	1.84
T2	93.5	60.3	56.3	102.3	1.83
T3	95.1	59.6	56.6	103.3	1.83
T4	95.6	59.2	56.6	102.4	1.82
T5	94.0	59.1	55.4	102.7	1.81
T6	93.8	59.1	55.3	101.9	1.86
EE	0.43	0.21	0.25	0.22	0.07

*No son significativas (p>0.05). EE, error estándar.
PP, Porcentaje de postura; PH, Peso de huevo; MH, Masa de huevo; CON, Consumo de alimento; CONV, Conversión alimenticia.
T1, aceite crudo de soya al 2 %; T2, aceite crudo de soya al 4 %; T3, aceite acidulado de soya T al 2 %; T4, aceite acidulado de soya T al 4 %; T5, aceite acidulado de soya Y al 2 %; T6, aceite acidulado de soya Y al 4 %.

En la evaluación de la composición lipídica del huevo se encontró que la cantidad de ácidos grasos fue afectada por los tratamientos, en las semanas 4, 8 y 12 modificándose la composición total de AGS, AGM y AGP del huevo según el aceite del cual procedían (Cuadro 3) (Van Elswyk, 1997) (Figura 1).

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos (% del total de ácidos grasos) en huevo, en gallinas ponedoras alimentadas durante 12 semanas con diferentes aceites acidulados, y a diferentes niveles de inclusión

Ácido graso	T1	T2	T3	T4	T5	T6	EE
Saturados							
Palmítico	25.21b	25.02b	25.36b	24.93b	26.30a	25.73ab	0.21
Esteárico	8.29ab	8.98a	8.36ab	7.92b	8.20b	8.26b	0.11
∑AGS	33.5	34	33.72	32.85	34.5	33.99	
Monoinsaturados							
Palmitoleico	2.90bcd	2.33e	3.05bc	2.33e	3.69a	3.23b	0.21
Oleico	39.72de	37.85e	42.74abc	42.00bcd	43.55ab	44.82a	1.05
∑AGP	42.62	40.18	45.79	44.33	47.24	48.05	
Poliinsaturados							
Linoleico	15.57b	17.66a	11.99c	13.15c	10.02d	9.47d	1.3
Linolénico	0.73b	1.02a	0.57c	0.75b	0.30d	0.28d	0.11
Araquidónico	2.05a	1.89ab	1.81ab	1.78ab	1.81ab	1.61b	0.05
DHA	1.01ab	0.85ab	0.62c	1.05a	0.59c	0.47c	0.09
∑AGP	19.32	21.42	14.99	16.73	12.72	11.83	

Valores con distinta letra en la misma columna son diferentes estadísticamente ($p<0.05$); EE, error estándar. T1, aceite crudo de soya al 2 %; T2, aceite crudo de soya al 4 %; T3, aceite acidulado de soya T al 2 %; T4, aceite acidulado de soya T al 4 %; T5, aceite acidulado de soya Y al 2 %; T6, aceite acidulado de soya Y al 4 %.

La concentración de AGS (C16:0 y C18:0) fue afectada por los tratamientos. La concentración de C16:0 fue mayor en el huevo de las gallinas que recibieron el T5 con respecto a aquellas que recibieron los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T6 en el huevo. Para la concentración de C18:0 cuando las gallinas fueron alimentadas con los diferentes tratamientos el T2 fue el más alto seguido del tratamiento T3, T1 y T6 y finalmente el T4 y T5. De los AGS, el palmítico es un ácido de fácil absorción comparado con el AGS esteárico (Renner y Hill, 1961), lo cual podría explicar que el AAY al contener mayor cantidad de C16:0 se deposite mayor cantidad de éste en el huevo. Mientras que el ácido C18:0 se deposito en mayor concentración en los tratamientos del huevo que contenían menor cantidad este ácido, pero que el contenido total de AGI del ACS y AAT era mayor, lo cual ayudó a la absorción de este AGS con respecto al AAY que contenía mayor cantidad de AGS. Lo anterior concuerda con un estudio realizado por Renner and Hill, (1961) quienes encontraron que la absorción del ácido C18:0 en el ACS es del 78 % mientras que en grasas más saturadas como el sebo y la manteca es de 22 % y 36 % respectivamente, ya que está relacionado con el grado de AGI que contenga el aceite.

La composición de AGM (C16:1 y C18:1) fue modificada cuando las aves fueron alimentadas con los diferentes tratamientos. El nivel de C16:1 fue mayor en las aves que recibieron el T5, con respecto a los tratamientos T2 y T4, mostrándose intermedios T6, T3 y T1. Al igual que en el AAY el ácido C16:1 fue mayor en las aves del T5, lo cual podría indicar que el ácido C16:1 facilita la síntesis de lipoproteínas y su transporte en la deposición del huevo, mientras que Pardio *et al*., 2005, no encontraron diferencias en el huevo con el ácido C16:1 en 15 semanas al utilizar el aceite acidulado de soya. Mientras que el AGM C18:1, fue mayor en los huevos que

recibieron el tratamiento T6 con respecto al T1, T2 y T4 pero no en relación a los tratamientos T3 y T5. El ácido C18:1 se incrementa a expensas de los ácidos C16:0, C16:1 y C18:0 lo cual podría explicar que el huevo del T6 contenga mayor ácido C18:1 ya que el AAY es el que contiene en mayor proporción estos ácidos (Grobas *et al*., 1996). Con respecto a los AGP (C18:2, C18:3 Y DHA), la cantidad del ácido graso C18:2 varió de 9.47 % a 17.66 %. El valor más alto (17.66 %) se presentó en los huevos del T2, seguido del los tratamientos: T1 (15.57 %), T4 y T3 (13.15 % y 11.99 % respectivamente), y los tratamientos T5 y T6 (10.02 % y 9.47 % correspondientemente). La composición lipídica del huevo en relación al ácido graso C18:3 fue mayor en el tratamiento T2 con respecto a los demás tratamientos. Mientras que la menor concentración de C18:3 fue para los huevos de los tratamientos T6 y T5 con respecto al T4, T1 y T3.

El ácido C18:2 y el C18:3 se encuentran en mayor proporción en el T2 ya que al aumentar la inclusión del ACS aumentó la concentración de ambos ácidos en la dieta y en el huevo (Sell *et al.,* 1968). Indicando que al ser ácidos grasos insaturados aumenta la formación de micelas y su absorción (Freeman *et al*., 1968). El AGM C20:4 fue mayor en el huevo del tratamiento T1 con respecto al T6, siendo intermedios el T2, T3, T4 y T5. Es importante mencionar que el ácido C20:4, no se encontró en los aceites acidulados pero sí en huevo ya que el ácido C18:2 y C18:3 son precursores del C20:4 (Scaife *et al*., 1994). El ácido graso DHA fue superior en los huevos del tratamiento T4 con respecto al T6, T5 y T3 pero no con los tratamientos T1 y T2. Lo cual podría ser atribuible a que los aceites de los tratamientos T4, T1 y T2 contienen mayor cantidad de AGP.

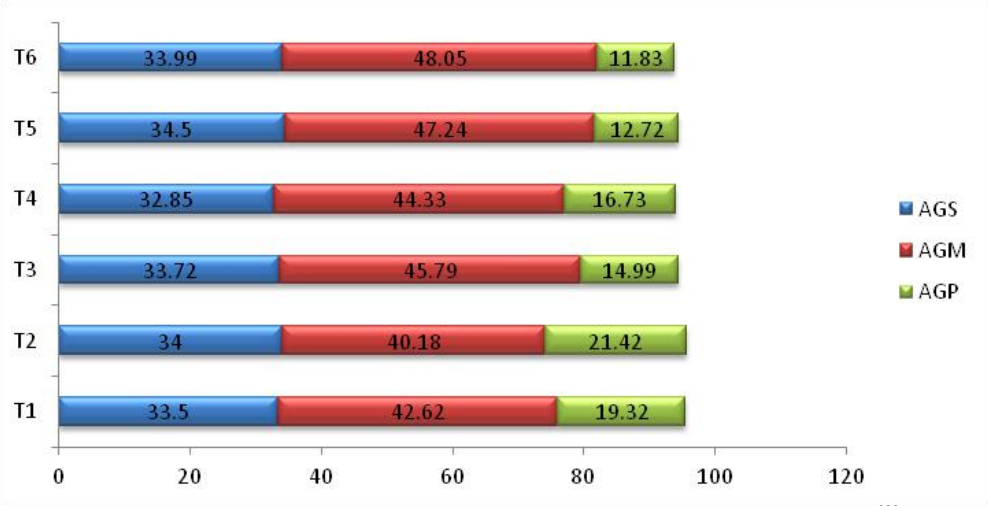


Figura 1. Composición total de ácidos grasos en huevo

T1, aceite crudo de soya al 2 %; T2, aceite crudo de soya al 4 %; T3, aceite acidulado de soya T al 2 %; T4, aceite acidulado de soya T al 4 %; T5, aceite acidulado de soya Y al 2 %; T6, aceite acidulado de soya Y al 4 %.

CONCLUSIONES

Se concluye que el uso de aceites acidulados de soya, como fuente de EM, son una alternativa factible al formular dietas para gallinas ponedoras. Hay variación en la composición de ácidos

grasos de los aceites acidulados, lo cual no afecta los parámetros productivos y calidad del huevo. La composición lipídica del huevo varia con la constitución de los aceites acidulados administrados en la dieta de las gallinas ponedoras, cabe mencionar que hay que realizar varios estudios de la composición lipídica del huevo ya que existe gran variación entre los aceites acidulados y no son constantes.

REFERENCIAS

1. AOAC 2000. Official Methods of Analysis. 18th rev. ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA. pp. 41-42.
2. Brake, J. 1990. Effect of four levels of added fat on broiler breeder performance. Poultry. Science. 69(10): 1659-1663.
3. Cuca, G. M., E. Ávila G. y A. Pró M. 2009. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo. Edo. De México. pp. 154.
4. Freeman, C.P., D.W. Holme, and E.P. Annison. 1968. The determination of the true digestibilities of interesterified fats in young pigs. Journal of Nutricion. 22 (4): 651-660.
5. Harms, R., G. Russell, and D. Sloan. 2000. Performance of four strains of commercial layers with major changes in dietary energy. Poultry Science. 9: 535-541.
6. Lesson, S., J. D. Summers, and L J. Caston . 2000. Net energy to improve pullet Growt whith low protein amino acid-fortified diets. Journal Applied Poultry Research. 9: 348-392.
7. Leeson, S., and J.D. Summers. 2005. Comercial poultry nutrition. 3 th ed. University Books, Guelph, Ontairo, Canadá. pp. 80-171.
8. National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. National Academy of Sciences. Washington, National Academy Press 2101 Constitution Avenue, NW Washington, D.C. 20418, U.S.A.
9. Pardío, V.T., L. A. Landín, K. N. Waliszewski, F.G. Pérez, L. Díaz, and B. Hernández. 2005. The Effect of Soybean Soapstock on the Quality Parameters and Fatty Acid Composition of the Hen Egg Yolk. Poultry Science. 84: 148-157.
10. Scaife, J.R., J. Moyo., H. Galbraith., W. Michie., and V. Campbell. 1994. Effect of different dietary supplemental fats and oils on the tissue fatty acid composition and growth of female broilers. Poultry Science. 35: 107-118.
11. Sell, J. L., R. Angel, and F. Escribano, 1987. Influence of supplemental fat on weights of eggs and yolks during early egg production. Poultry Science. 66: 1807–1812.
12. Sklan, D. 1979. Digestion and absorption of lipids in chicks feed triglycerides of free fatty acids: Synthesis of monoglyceridos in the intestine. Poultry Science. 58: 885-889.
13. Van Elswyk M. 1997. Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality: a review. Journal of Nutrition 78 (Suppl. 1), S61-S69.
14. Whitehead, C. C., A. S. Bowman, and H. D. Griffin, 1993. Regulation of plasma oestrogen by dietary fats in the laying hen: Relationship with egg weight. Poultry Science. 34: 999-1010.
15. Wiseman, J. and Salvador, F., 1991. The influence of free fatty acid content and degree of saturation on the apparent metabolizable energy value of fats fed to broilers. Poultry Science 70: 573-582.
16. Wiseman, J.1994. Full fat soya, oils and fats in poultry nutrition. American Soybean Association. Bruselas, Bélgica. pp. 16.
17. Woerfel, J.B. 1983. Alternatives for processing of Soapstock. Journal of the American Oil Chemists' Society. 60: 310-313.
18. Zumbado, E., C. Scheele, and C. Kwarernaak.1999.Chemical composition, digestibility and metabolizable energy content of different fat and oil by-products. Poultry Science. 8: 263-271.

Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DE LA INCORPORACIÓN DE FLORFENICOL EN REPRODUCTORES PESADOS

C. Fiora1, A. Sugesky1, M. Córdoba2, M. I. Farias3

[1]Laboratorio Vetanco SA, [2]Universidad de ciencias veterinarias de la facultad de Buenos Aires, [3]Instituto Nacional de Neurocirugía

cfiora@vetanco.com

RESUMEN

El florfenicol es un antibiótico de amplio espectro utilizado en la clínica aviar. Se ha observado que la administración de florfenicol a dosis terapéuticas posee efectos adversos sobre algunos parámetros productivos y reproductivos en reproductores pesados. El objetivo del siguiente trabajo fue estudiar el efecto del florfenicol sobre los índices productivos de reproductores pesados tratados a dosis terapéuticas. Se utilizaron dos unidades experimentales independientes. *Unidad Hembras*: compuesta por 6 planteles de 10 gallinas y 1 gallo cada uno de la misma estirpe genética. El ensayo se extendió durante 19 semanas donde se realizaron 4 medicaciones, se suministró una dosis de 20 mg/kg a la semana 3 (machos y hembras), semanas 8 y13 (hembras); y una dosis de 40 mg/kg en la semana 15. Las variables evaluadas fueron Fertilidad (F) y Muerte Embrionaria Temprana (MET). *Unidad Machos*: se utilizaron 12 gallos de la misma estirpe genética. El ensayo se extendió durante 5 semanas y se realizó una única medicación en la segunda semana. Se evaluó Color (C), pH, Motilidad Progresiva (MP) y Vigor (V), Concentración Espermática (CE) y Viabilidad Espermática (VE). La CE y el pH no mostraron diferencias significativas entre los gallos sin tratar y las muestras seminales post tratamiento. La MP y la VE disminuyeron un 26% y 32% respectivamente. La F y la MET no mostraron diferencias significativas. A su vez se realizó el examen histopatológico de testículos de gallos sin medicar, medicados con 20 mg/kg y 40 mg/kg sin evidenciarse diferencias entre los grupos. Los resultados obtenidos indican que la administración a dosis terapéuticas de florfenicol en pollos reproductores pesados afecta los parámetros reproductivos de los machos pero no los de las hembras. Esta alteración es solo temporal sin producir atrofia del tejido tubular testicular.

Palabras claves: Florfenicol, parámetros reproductivos, reproductores pesados.

INTRODUCCION

El Florfenicol es un antibiótico de amplio espectro obtenido por síntesis química. Es un compuesto fluorinado análogo al tianfenicol y cloranfenicol, que en la actualidad es utilizado en clínica aviar como antibiótico de amplio espectro, no solo por su acción antimicrobiana, sino también por sus propiedades farmacocinéticas. Tiene el mismo efecto que el clorfenciol pero no posee la restricciones que tiene este ultimo para su uso, puesto que el grupo nitro unido al anillo bencenico es sustituido por un grupo sulfometilo, disminuyendo así su efecto sobre la síntesis proteica de las células eucariotas, principal mecanismo de acción responsable de sus efectos tóxicos. Se ha observado en la práctica diaria que la administración de florfencol utilizado a dosis terapéuticas de 20 mg/kg por periodos de 3 a 5 días, posee efectos adversos sobre algunos parámetros productivos y reproductivos en reproductores de líneas pesadas utilizadas en la Argentina. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del florfenicol sobre los índices productivos de reproductores pesados tratados a dosis terapéuticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una experiencia donde se trabajo sobre dos unidades experimentales en forma independiente, los mismos fueron denominados como: MACHOS y HEMBRAS.

UNIDAD HEMBRAS: Se utilizaron 6 planteles constituidos cada uno por 10 gallinas y 1 gallo, enumerados del 1 al 6. Todos los animales fueron de la misma estirpe genética. Los mismos fueron seleccionados de un pool productivo

de la granja experimental CHALO-CHALA de Vetanco SA, estos fueron ubicados dentro de la misma granja experimental, distribuyéndose aleatoriamente en corrales de 4,5 m2 cada uno.
El ensayo se extendió durante 19 semanas de postura, en donde se realizaron 4 medicaciones a lo largo del ciclo productivo variando entre cada una, la dosis administrada y la variante de aplicación entre machos y hembras. Las mediciones determinadas fueron: FERTILIDAD Y MUERTE EMBRIONARIA TEMPRANA, dichas mediciones se realizaron a los 12 días de incubación.

Las semanas de medicación fueron:

- Semana 3 (dosis: 20 mg/kg).
- Semana 8 (dosis: 20 mg/kg).
- Semana 13 (dosis: 20 mg/kg).
- Semana 15 (dosis: 40 mg/kg).

Donde:

- La semana 3 se medicaron machos y hembras.
- La semana 8 y 13 se medicaron las hembras.
- La semana 15 solo se medicaron a los machos.

UNIDAD MACHOS: se utilizaron 12 gallos de la misma estirpe genética. Todos los animales fueron seleccionados de un pool productivo de la granja experimental CHALO-CHALA de Vetanco SA, estos fueron ubicados dentro de la misma granja experimental, distribuyéndose aleatoriamente en corrales de 4,5 m2 cada uno. El ensayo se extendió durante 5 semanas, en donde se realizó una única medicación en la segunda semana. Los parámetros evaluados fueron: Color, pH, motilidad progresiva y vigor, concentración espermática y viabilidad.

RESULTADOS

UNIDAD MACHOS: En los gallos sin tratar la concentración fue de 2.04 x10^9/mL y no mostró diferencias significativas con respecto a las muestras seminales postratamiento. (Figura1). El pH seminal del estado control se mantuvo estable respecto al estado tratado de los 7 y 15 días post tratamiento. (Figura2). La motilidad progresiva y la viabilidad disminuyeron significativamente después del tratamiento y se mantuvo esta diferencia a los 15 días post tratamiento. (Figura 3 y 4). A los 7 días se produjo una disminución del 26 % de la motilidad progresiva y un 25 % de viabilidad espermática mientras que a los 15 días se observó una descenso del 22% de la motilidad progresiva y un 32 % en la viabilidad haciendo en ambos casos que la muestra seminal se mantenga por debajo de parámetros seminales óptimos según la establecido en la bibliografía para esta especie.

Figura 1

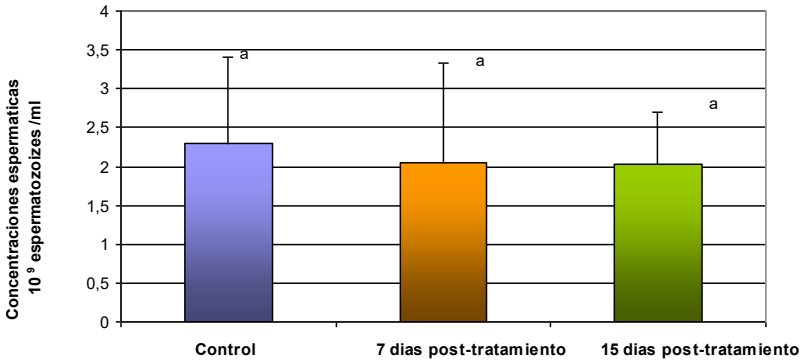


Figura 2

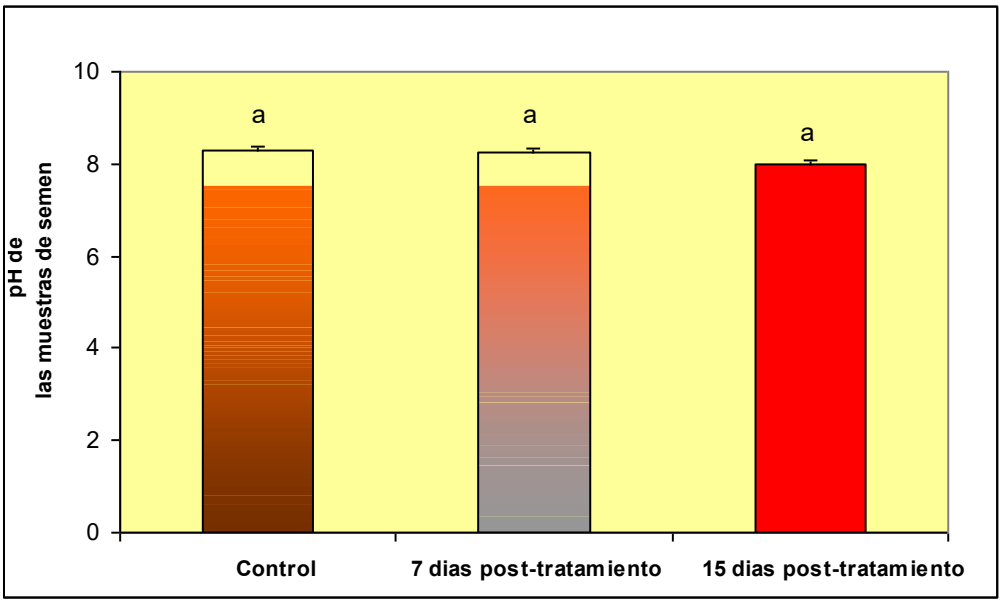


Figura 3

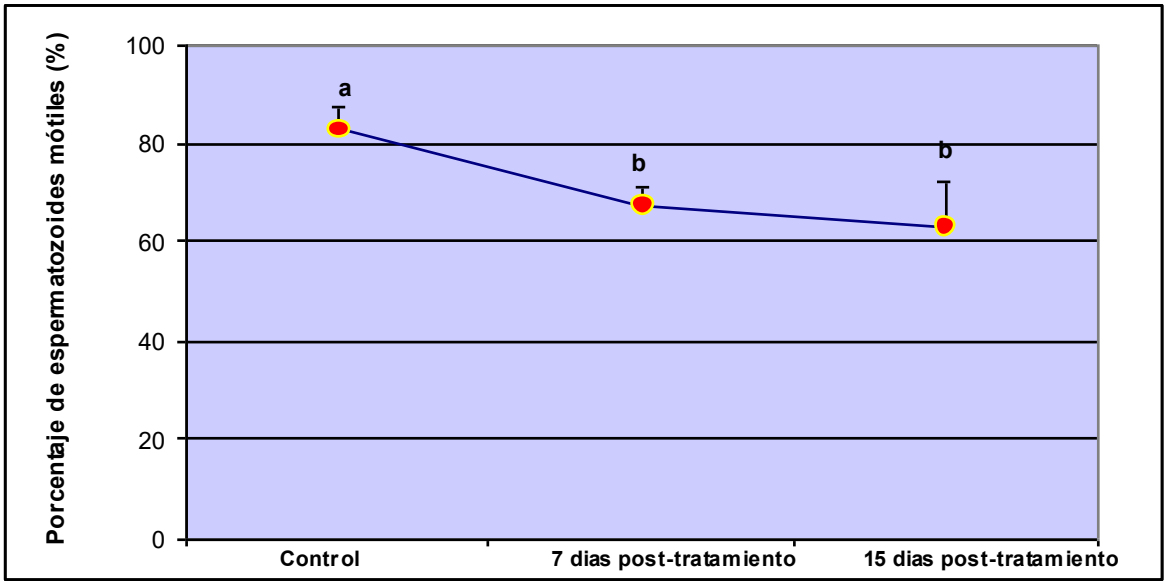
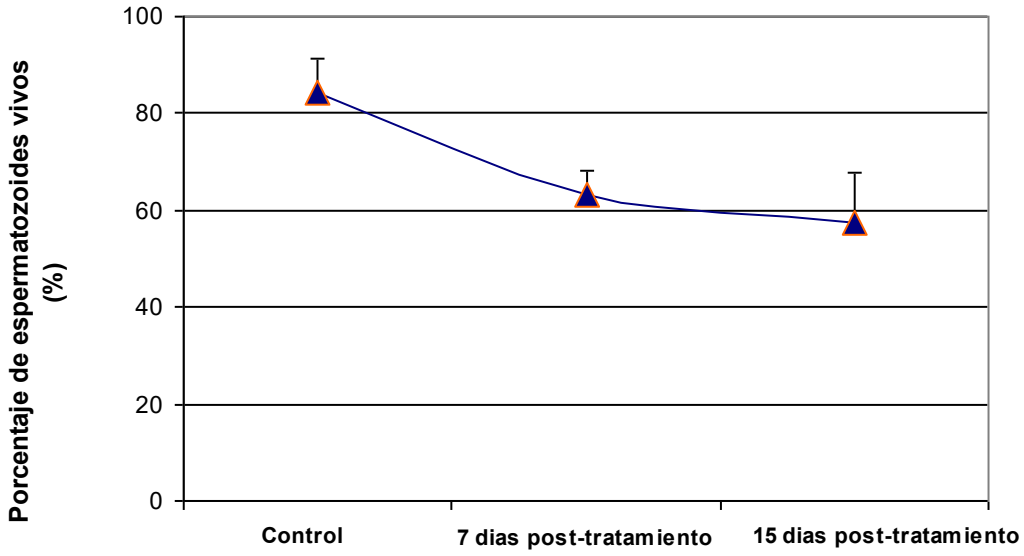


Figura 4



A este trabajo se le sumó el histopatológico de testículos de gallos sin medicar, medicados con 20 mg/kg y medicados con 40 mg/kg. No se pudo evidenciar diferencias a nivel microscópico entre los testículos de gallos sin medicación y con medicación.

Figura: 5

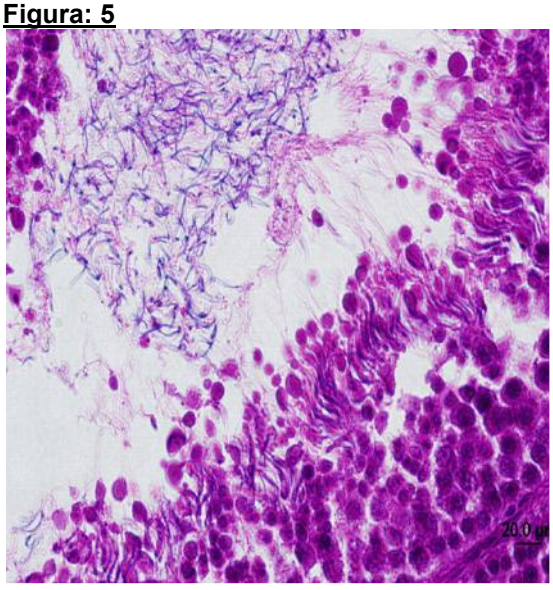


Figura: 6

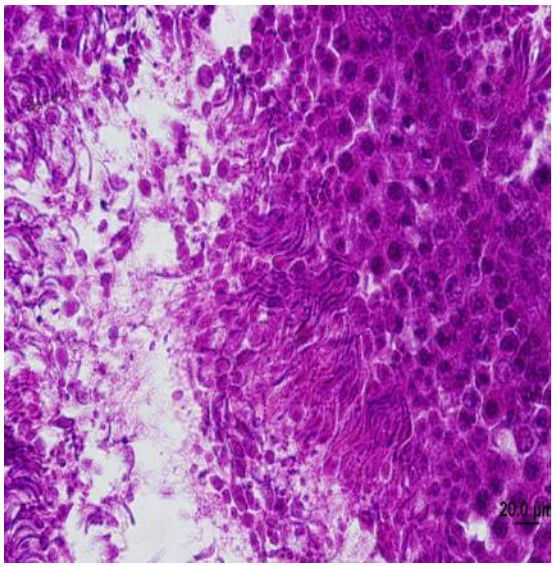
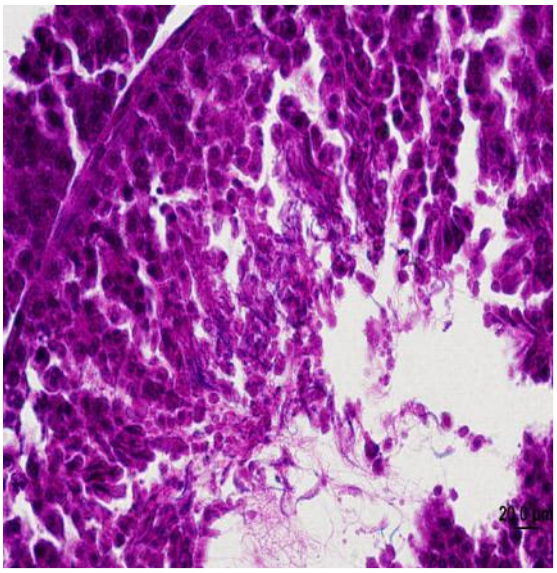
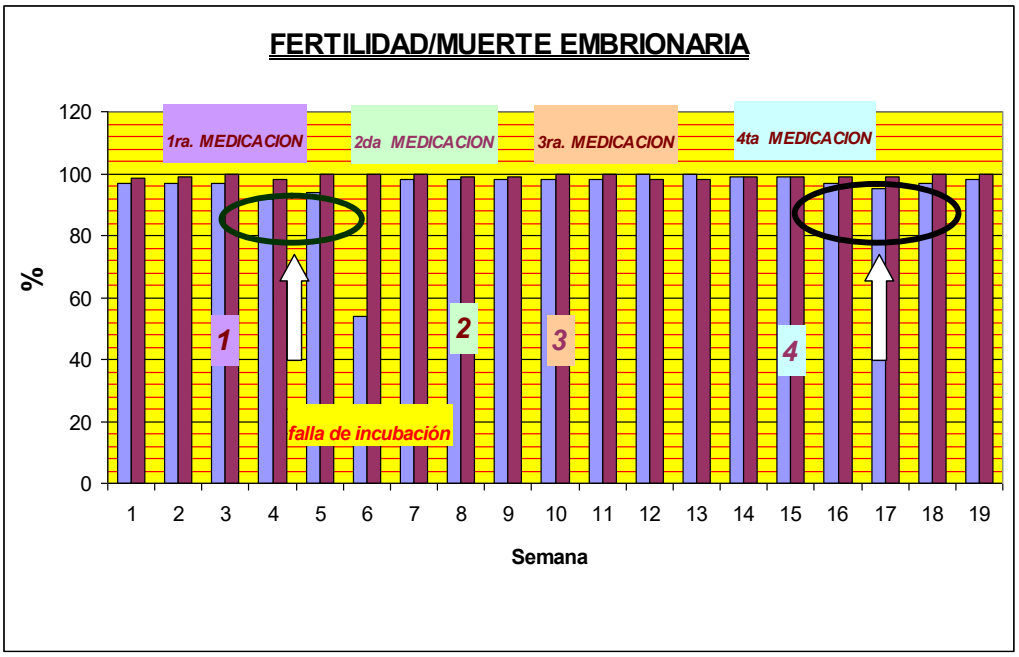


Figura: 7



UNIDAD HEMBRAS:

Cuadro 1 -Fertilidad-viabilidad embrionaria al día 12-



p-valor=0,6779 ***Fertilidad*** ***Viabilidad al día 12***

Las semanas donde la viabilidad embrionaria fue inferior al 95/100 fueron:

1. Semana 4.
2. Semana 5.
3. Semana 17.

DISCUSIÓN

En los gallos sin tratar la concentración no mostró diferencias significativas con respecto a las muestras seminales postratamiento. El pH seminal del estado control se mantuvo estable respecto al estado tratado de los 7 y 15 días post tratamiento. La motilidad progresiva y la viabilidad disminuyeron significativamente después del tratamiento y se mantuvo esta diferencia a los 15 días post tratamiento. A los 7 días se produjo una disminución del 26 % de la motilidad progresiva y un 25 % de viabilidad espermática mientras que a los 15 días se observó una descenso del 22% de la motilidad progresiva y un 32 % en la viabilidad haciendo en ambos casos que la muestra seminal se mantenga por debajo de parámetros seminales óptimos según la establecido en la bibliografía para esta especie.

Es importante destacar que con un nivel de significación del 0,05% no se observo diferencia significativa ni para fertilidad ni para viabilidad embrionaria. De todas formas el grafico denota cierta variación en la viabilidad embrionaria luego de la administración de florfenicol a los machos, no sucediendo lo mismo al momento de tratar unicamente a las hembras. Para el caso de la variable fertilidad no se observa ningún desvió en el grafico.

CONCLUCION

Según los datos recopilados en este trabajo, se deja en evidencia el efecto de la medicación de planteles de pollos reproductores con florfenicol, en donde se ve claramente que a dosis terapéuticas esta droga afecta directamente a los machos, sin poder probar daño alguno en las hembras, a nivel reproductivo. Por otro lado es claro que el efecto adverso producido por el florfenicol a dosis terapéuticas no produce un daño permanente en el tejido gonadal, siendo esta una droga que afecta directamente a los espermatozoides fuera de la etapa de espermatogenesis, pudiendo así demostrar que no existe secuelas por la utilización del florfenicol en pollos reproductores, refutando la hipótesis de atrofia del tejido tubular testicular. Cabe aclarar que este trabajo se baso en la recomendaciones de los laboratorios veterinarios para las dosis administradas, no trabajando con dosis mas altas a las recomendadas es por esto que no se puede asegurar que con sobre-dosificaciones el daño de las gónadas siga siendo irreversible, es por esto que la administración de florfenicol parece segura, siempre que se respeten la dosis recomendadas.

REFERENCIAS

1 L M BOTANA. Sección 5 "Quimioterapia del las enfermedades bacteriana". Editorial Mc Graw-Hill, Interamericana, Madrid-Buenos Aires. Pags. 475-477.

2 B SAUVEUR. Sección 7 "Aparato Genital Masculino y Producción de espermatozoides". Editorial Mundi-Prensa, Madrid. 1992. Pags. 192-236.

Regresar a lista de contenidos

ESTUDIO PARA VALORAR LA PROTECCIÓN GENERADA A DIFERENTES EDADES CON UNA VACUNA VECTORIZADA CONTRA EL VIRUS DE LA LARINGOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA EN GALLINAS CRIADAS EN GRANJA Y DESAFIADAS EN LABORATORIO

S Higuera[1], M Lechuga[1], G Mercado[2]*
[1]Ceva Salud Anima México, [2]Asesor Avícola.
*sergio.higuera@ceva.com

SUMMARY

Infectious Laryngotracheitis (ILT) in an endemic disease in Mexico, and modified live ILT vaccines are widely used to control it. However, they have some disadvantages for this vaccines a strong respiratory reaction, increase in virulence after bird to birds passage and a latency stage. A vector or recombinant vaccine has been used successfully in broilers to control ILT, but there is not any data or trials in long live birds or they come from outside Mexico. This work was aimed to assess the immunity generated by a ILT recombinant vaccine against the ILTv challenge in a commercial egg type breeders. Thirty commercial egg-type breeders previously vaccinated at 10 weeks of age of 30, 40 and 55 weeks of age were taken and held in isolators. All of them were challenged using a local ILTv strain. The results shown the vector vaccine is protective in the three ages and showing a maximum of protection at 40 weeks.
Key Words: Laryngotracheitis, Vector Vaccine, Protection

RESUMEN

La LAringotraqueitis Infecciosa (LTI) es una enfermedad endémica en México, y para su control se han utilizado vacunas con virus activo-modificado, sin embargo, estas han mostrado algunas desventajas, como fuertes reacciones respiratorias, reversión a virulencia y estado de latencia. Una vacuna vectorizada o recombínate se ha utilizado para el control de la LTI con éxito en pollo de engorda, pero no existen datos en aves de larga vida, o estos se han hecho fuera del país. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inmunidad generada por una vacuna recombinante contra el desafío con el vLTI en gallinas reproductoras ligeras. Treinta reproductoras ligeras previamente vacunadas contra la LTI con una vacuna recombinante, de 30, 40 y 55 semanas de edad fueron llevadas a unidades de aislamiento para ser desafiadas con una cepa local del vLTI. Los resultados mostraron que la vacuna vectorizada generó inmunidad suficiente en las tres edades, con un máximo de protección a las 40 semanas.
Palabras Clave:. Laringotraqueitis, Vacuna vectorizada, protección

INTRODUCCIÓN

Las vacunas vectorizadas contra la Laringotraqueitis Infecciosa (LTI) son producto de la ingeniería genética en la que se ha desarrollado a partir de la inserción de genes del virus de la LT en un vector viral, que en este caso es el virus de la Viruela Aviar. El desarrollo de una vacuna con estas características tuvo entre otros objetivos, el de generar un nivel de inmunidad suficiente para que las aves vacunadas fueran capaces de resistir el desafío por el vLTI. Además, también se tomó en cuenta durante su desarrollo, evitar las reacciones postvacunales que se tienen con los virus vivos, pero uno de los aspectos que más sobresalen es que con una vacuna recombinante contra la LTI se evita la latencia del virus, vacunal o de campo, cuando se aloja en el nervio trigémino que provoca la enfermedad cuando sale de ese estado latente.

La vacunación contra la LTI con vacunas vectorizadas se inició en México en el 2006 y aunque se han corrido varios ensayos para demostrar su eficacia, estos se han realizado en los Estados Unidos principalmente (Davison *et al*., 2006; Godoy *et al*., 2008). Poco se ha estudiado en México al respecto, además de que todos las investigaciones se han realizado en pollo de engorda (Etcharren, 2009; Lechuga, 2010, comunicación personal).
Los objetivos de este estudio fueron evaluar la protección conferida por una vacuna vectorizada contra la LTI en gallinas reproductoras ligeras contra el desafío con el vLT, y valorar el nivel de inmunidad generado en las diferentes edades de la vida productiva de las aves.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aves

Se utilizaron 30 reproductoras ligeras Hy Line provenientes de granjas comerciales: 10 gallinas de 30 semanas, 10 gallinas de 40 semanas y 10 gallinas de 55 semanas de edad, vacunadas con una vacuna vectorizada viruela-LTI a las 10 semanas de edad por punción en el pliegue del ala a dosis completa. Cinco aves SPF (Aves Libres de Patógenos Específicos, S. A. de C.V., Tehuacán Pue.) fueron usadas como grupo control y se alojaron junto con las aves de 30 semanas. Las aves tuvieron acceso al agua y alimento balanceado *ad libitum* durante todo el período que duró la prueba.

Desafío

El desafío se realizó con una cepa del virus de la LTI aislado en la zona de Tehuacán, Puebla, de un caso clínico en aves de postura comercial, sin que tenga este ningún nombre de referencia. Cada ave recibió la inoculación de 0,2 ml por vías intranasal, intraocular e intratraqueal del vLT conteniendo un título de $10^{4.0}$ $DIE_{50\%}$/ml.

Diseño experimental

Las aves se alojaron en tres grupos divididos por edad, en unidades de aislamiento con aire filtrado a presión negativa tipo Horsfall-Bauer. Adicionalmente, junto con las gallinas de 30

semanas, se alojaron cinco aves SPF como grupo control para toda la prueba. De cada grupo se sangraron el total de las aves al principio y al final para realizar la prueba de Inmunoensayo enzimático (ELISA) de LT utilizando el kit comercial CIVTEST-AVI-ILT (Hipra). Después del desafío, las aves fueron observadas diariamente durante 14 días reportando si se presentaban o no signos clínicos de LT (cabezas hinchadas, blefaroconjuntivitis, exudado nasal, y disnea). Al día 14 postdesafío, las aves fueron sacrificadas y revisadas a la necropsia, valorando la presencia de lesiones sugestivas de LT (moco, exudado caseoso o hemorragias en laringe y tráquea). De todas las aves, se extrajo la tráquea para histopatología. El criterio de protección principal fue la ausencia de signos clínicos y de lesiones a la necropsia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Signos clínicos

El criterio de protección para este parámetro, según el Code of Federal Regulations (9CFR) Animals and products; part 113.328, es la presencia o ausencia de signos y lesiones características de LT (Blefaroconjuntivitis, lagrimeo, exudad nasal y expectoración en un período de 14 días (9CFR 113.328). A la necropsia, exudados en tráquea y hemorragias), de tal manera que el porcentaje de protección del grupo tratado debe ser igual o mayor que el 80%, y el grupo control desafiado debe mostrar lesiones en el 90% de las aves. En el cuadro 1 se resumen los resultados de la observación clínica. En el grupo SPF control hubo un ave muerta durante el período de observación. Sin embargo, ésta no tuvo relación con la LT.

Cuadro 1. Resultados de la observación de presencia de signos clínicos de LT realizada en dos etapas de la prueba, de 1 a 6 días postdesafío y del 7 al 14 postdesafío. El cuadro muestra las aves positivas/aves probadas

Grupo	Nº Aves con signos en los días 1 al 6/Nº aves totales	Aves con signos en los días 7 al 14/Nº aves totales	% de protección
SPF Control	0/5	4/4	0
30 semanas	0/10	0/10	100
40 semanas	0/10	0/10	100
55 semanas	0/10	0/10	100

Lesiones macroscópicas

El cuadro 2 resume lo encontrado a la necropsia, donde se puede observar que la protección del grupo control fue de 0 (cero), los grupos de 30 y 55 semanas de 80% y el grupo de 40 semanas alcanzó el 100% de protección. En todas las aves que se reportaron lesiones macroscópicas presentaron exudado mucoso a mucopurulento moderado.

Cuadro 2. Nº de aves con lesiones en tráquea y el porcentaje de protección después de la infección con virus de Laringotraqueitis infecciosa.

Grupo	Nº Aves con lesiones en tráquea/nº aves totales	% de protección
SPF Control	3/4	0
30 semanas	2/10	80
40 semanas	0/10	100
55 semanas	2/10	80

Lesiones histológicas

Se realizó el análisis histológico de todas las aves de los diferentes grupos que conformaron la prueba. En el cuadro 3 se reportan el número de aves que resultaron positivas con lesiones de LT por grupo. En el grupo control, 2 aves presentaron cambios significativos: áreas de metaplasia con pérdida de cilios. En la lámina propia presentaron moderado infiltrado linfocítico, y se apreciaron células epiteliales en el lumen. El grupo de gallinas de 30 semanas presentó metaplasia con pérdida de cilios e hiperplasia moderada en el epitelio y moderado infiltrado linfocítico en dos aves. El diagnóstico morfológico fue de traqueitis linfocítica moderada difusa. Para el grupo de 40 semanas, ninguna de las aves presentó lesiones significativas. Por otro lado, el grupo de 55 semanas tuvo 3 aves con lesiones microscópicas, metaplasia con pérdida de cilios. En la lámina propia se observó moderado infiltrado linfocitario y solamente en una de las aves se presentó áreas de hemorragia y desprendimiento de células epiteliales. El diagnóstico morfológico para este caso fue de traqueitis linfocítica moderada difusa.

Cuadro 3. Número de aves que presentaron lesiones microscópicas después de la infección con virus de Laringotraqueitis infecciosa.

Grupo	Nº Aves con lesiones histológicas en tráquea/Nº aves totales
SPF Control	3/4
30 semanas	2/10
40 semanas	0/10
55 semanas	3/10

Serología

En el cuadro 4 se resumen los resultados de serología

Cuadro 4. Se muestran los resultados de serología obtenidos antes y después del desafío marcados como inicial (día 1 de la prueba) y final (día 14 post-desafío-PD-). Las dos primeras columnas marcan el índice SP (Sample positive), y las dos columnas restantes marcan la media geométrica del título de ELISA y entre paréntesis el coeficiente de variación

Grupo	Índice SP inicial	Indice SP PD	Título ELISA inicial	Título ELISA PD
SPF control	0/5	3/4	1.0 (0%)	1,252 (10.4%)
30 semanas	4/10	10/10	601 (37%)	1,989 (11.1%)
40 semanas	7/10	8/10	761 (9.9%)	953 (10%)
55 semanas	2/10	10/10	420 (8.9%)	1,915 (11.1%)

PD=Post-desafío

De acuerdo al 9CFR 113.328 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés), en el que se considera que en este tipo de desafíos contra el vLTI, por lo menos el 80% de las aves del grupo control deben presentar signos clínicos o morir por LT; y que por lo menos el 80% de las aves vacunadas deben mostrar ausencia de signos clínicos de LT, el resultado de esta prueba de desafío se consideró satisfactorio, puesto que ninguna de las aves incluidas en los grupos de 30, 40 o 55 semanas de edad presentaron signos de LT. Con respecto a las lesiones macroscópicas, las aves de 30 y 55 semanas presentaron un 80% de protección según el 9CFR, y aún se considera aceptable. El mejor nivel de protección en términos de signos y lesiones se obtuvo en el grupo de 40 semanas, que sumado a las pruebas de histopatología y serología, tenemos elementos para creer que la consolidación de la respuesta inmune es un proceso que se genera desde la aplicación de la vacuna y que alcanza su máximo nivel a las 40 semanas de edad, o 30 semanas postvacunación, para después mostrar un descenso a las 55 semanas de edad pero manteniendo el nivel protectivo contra el desafío del vLTI.

La protección que es generada por las glicoproteínas del vLT han sido ampliamente estudiada, y entre estas sobresale la glicoproteína gB, pues tiene una participación determinante en la protección contra los herpes-virus (Riviere *et al*., 2002, Tong et al 2001), aunque también se ha demostrado que la inmunidad mejora considerablemente cuando se le agrega otra glicoproteína como la UL-32 entre otras (Lee *et al*., 2003, Tong et al, 2001), proveyendo un nivel de inmunidad que oscila entre el 80 y 100% (Godoy *et al*., 2008; Davison *et al*., 2006). La vacuna evaluada contiene los genes que codifican las glicoproteínas gB y UL-32, y los resultados obtenidos en nuestra prueba de desafío contra el vLT coinciden con los obtenidos en trabajos similares, con la adición del factor de protección en términos de tiempo, pues se demostró un nivel de inmunidad suficiente contra el desafío desde las 30 semanas y hasta las 55 semanas de edad, equivalente a las 20 y 35 semanas posvacunación.

Las lesiones histológicas no han sido un parámetro a medir en las pruebas de desafío contra el vLTI, sin embargo, se incluyeron en este estudio para confirmar si tienen éstas alguna relación con las lesiones macroscópicas y los resultados de serología. Según nuestros resultados, no existe una correlación directa con la presencia de signos clínicos, ya que todas las aves del

grupo control mostraron signos de LTI pero sólo tres presentaron lesiones microscópicas significativas. Por otro lado, las lesiones microscópicas si mostraron tener relación con las lesiones macroscópicas y resultados de serología según nuestro criterio (ver cuadros). Para esta prueba, queremos resaltar que el grupo de 40 semanas no presentó ningún tipo de lesión.

De igual manera que la histología, las pruebas de serología tampoco se han tomado como parámetro para medir la protección en pruebas de desafío con el vLTI, e incluso esta es una percepción que se extiende a nivel de producción avícola comercial, aclarando que las pruebas que se han utilizado son Virus neutralización y de Western-Blot. Adicionalmente, se ha demostrado que la protección contra el vLTI es más atribuible a la respuesta celular de tipo T-cooperadoras (Chan *et al*., 1985). Sin embargo, también se ha demostrado que las glicoproteínas del vLTI estimulan la respuesta inmune, tanto celular como humoral (York *et al*., 1991). La respuesta de anticuerpos contra LT no garantiza protección, sin embargo, está relacionada con la presencia o ausencia del antígeno (Chan *et al*., 1985) y su comportamiento en cuanto a replicación en la tráquea, donde una menor presencia de antígeno generará una menor respuesta serológica y por lo tanto la prevención de la forma clínica de la LT (York & Faher, 1991). La respuesta del grupo control a la presencia del antígeno fue clara al ser positivas postdesafío el 75% de las aves, también se reflejó este efecto en los grupos de 30 y 55 semanas, pero el grupo de 40 semanas mostró un comportamiento muy distinto. Esto es, si índice SP es el mayor de los tres grupos experimentales, pero después del desafío no se vuelven positivas todas las aves, indicando que muy probablemente el virus no se replicó tan eficientemente o tan libremente como en los otros grupos. El efecto observado en el índice SP se repite de una manera similar en el título de ELISA; el título del grupo de 40 semanas es el más alto de todos los grupos antes del desafío, y posteriormente es el que seroconvierte más bajo. Otra manera de resaltar este punto, es decir que el grupo SPF control aumentó su respuesta serológica 1,252 veces, el grupo de 30 semanas aumentó 2.3 veces su respuesta serológica, y el grupo de 55 semanas aumentó 3.56 veces su respuesta serológica, mientras que el grupo de 40 semanas aumentó su título de ELISA 0.25 veces. Será importante repetir este tipo de desafíos para confirmar este comportamiento reportado.

El objetivo de este estudio fue el de valorar el nivel de inmunidad y de protección generado por una vacuna recombinante contra la LTI en aves reproductoras ligeras de 30, 40 y 55 semanas de edad. En base a los resultados obtenidos se concluye que la inmunidad generada por la vacuna vectorizada contra la LTI fue suficiente para resistir el desafío de un vLTI y por lo tanto, es factible su utilización a nivel de producción comercial de reproductoras ligeras

REFERENCIAS

1. Chan WL, Lu-King ML, Liew FY. Helper T cells induced by an inmunopirified herpes simplex virus type 1 (HSV-1) 115 kilodalton glycoprotein (gB) protect mice against HSV-1 infection. Journal Experimental Medicine 162:1304-1318. 1985
2. Code Federal of Regulations, title 9.- Animals and animal products, Chapter I. Animal and plant health inspection service, department of agriculture.
3. Davison S, Gingerich E, Casavant S, Croade E . Evaluation of the efficacy of a live Fowl Pox-vectored infectious laryngotracheitis/avian encaphalomyelitis vaccine against ILT viral challenge. Avian Diseases 50:50-54. 2006
4. Godoy A, Flegg P, Oldoni I, García MC, Dorsey KM. Efficacy of a Vectormune Fowl Pox-Laryngotracheitis vaccine and sequence comparison of recent ILTV field isolates. In the American Association of Avian Pathologist Meeting, New Orleans, LA. 2008
5. Lee LF, Witter RL, Reddy SM, Wu P, Yanagida N, Yoshida S. 2003. Protection and synergism by recombinant Fowl Pox vaccine expressing multiple genes from Marek's Disease virus. Avian Diseases 47:549-588. 2003
6. Riviere M, Tartaglia J, Norton EK Bongermino CM, Lacoste F, Duert F. Protection of mice and swine from pseudorabies virus conferred by vaccine virus-based recombinants. Journal of Virology 66:3424:3434. 1991
7. Tong GZ, Zhang SJ, Meng SS, Wang L, Qiu HJ, Wang YF, Yu L, Wang M. Protection of chickens from Infectious Laryngotrachitis with a recombinant Fowl Pox virus expressing glycoprotein B of Infectious Laryngotracheitis virus. Avian Pathology 30:143-148. 2001
8. York JJ & Faher KJ. Vaccination with affinity-purified glycoproteins protects against Laryngotracheitis herpesvirus. Avian Pathology 20:693-704. 1991

Regresar a lista de contenidos

NUEVOS ENFOQUES PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN MEXICO

Mario Lechuga[1], David Dueñas[1], Andres Soto[1], Fernando Lozano[2], Pascal Paulet[3], Yannick Gardin[3]

[1]Ceva Animal Health-Mexico; [2]Ceva Animal Health-United States; [3]Ceva Animal Health-France
mario.lechuga@ceva.com

Resumen

La enfermedad de Newcastle (EN) es una de las mayors preocupaciones para la industria avícola en México. Con el fin de evaluar la protección del pollo de engorda vacunado con programas de vacunación convencionales o con vacuna vectorizada (rHVT+EN), se corrieron cuatro desafíos en laboratorio con virus virulento de EN. Grupos de 10 pollos de engorda de 35 días de edad siguiendo diferentes programas de vacunación, incluyendo la vacuna rHVT-EN, fueron llevados a unidades de aislamiento y alojados junto con 5 aves SPF de la misma edad y desafiados con el virus de la EN cepa Chimalhuacan a una dosis de 10^6 $DIEP_{50}$ por vía ocular. Los parámetros medidos fueron: Signos clínicos, viabilidad, respuesta serológica, excreción viral usando RT-PCR y ganancia de peso. Todas las aves mostraron 100% de protección contra signos clínicos y mortalidad, y todas las aves SPF murieron. La excreción viral fue significativamente disminuida en los grupos vacunados con rHVT-EN. La Vacuna HVT-EN en combinación con virus vivos puede ser aplicada en condiciones de producción de pollo de engorda, generando igual protección que un programa convencional pero disminuyendo sustancialmente la excreción viral.

Keywords: Newcastle, vector, vaccine

Introducción

La Enfermedad de Newcastle (EN) es sin duda alguna una de las mayores preocupaciones de la industria avícola en México debido a las grandes pérdidas económicas que causa cuando se presenta de manera clínica o subclínica (8). El vEN fue reportado por primera vez en México en 1946 (10), aunque es muy probable fuera introducido al país mucho tiempo atrás, sin embargo, como la avicultura en esa época consistía en pequeños gallineros, las pérdidas nunca se consideraron de gran magnitud. A partir de los años 50's, la avicultura mexicana se desarrolló como una industria de alta producción, y desde entonces se volvió imprescindible proteger a cada parvada contra la EN (4).

Además de las buenas prácticas de bioseguridad, el control de la EN consiste en la vacunación preventiva, utilizando la combinación de vacunas vivas e inactivadas (6); los tipos de vacuna y programas de vacunación varían dependiendo de la amenaza potencial, esto es, de la virulencia de la cepa presente, fin zootécnico de las aves y calendario de producción.

Aunque la vacunación contra la EN es una práctica normal de manejo, las cepas velogénicas son endémicas y responsables de importantes pérdidas directas e indirectas (8). Con las estrategias actuales de vacunas y vacunación, la mortalidad y morbilidad se han reducido pero

no han eliminado la infección ni la excreción viral, lo cual es crítico para el control de la EN (5). Estos brotes en parvadas vacunadas sugieren que el nivel de cobertura de la vacunación es bajo, o que la vacunación no provee inmunidad perfecta permitiendo al virus diseminarse entre poblaciones. También es importante notar que en regiones donde no circula o aparentemente no circula el virus virulento, las empresas prefieren usar programas de vacunación que epidemiológicamente son no-óptimos debido a los efectos colaterales negativos de la vacunación (7), aunado al hecho de que la infección, diseminación y transmisión de la EN velogénica se puede presentar sin signos clínicos aparentes (3,7). Finalmente, no se puede ignorar que la presencia de altos niveles de anticuerpos maternos interfiere con el desarrollo de una inmunidad sólida después de la vacunación (1,9) al día de edad. Por lo tanto, los brotes continuos en parvadas comerciales vacunadas contra la EN demuestran que las estrategias actuales no son totalmente eficaces, éstas pueden ser mejoradas por una nueva generación de vacunas como son las vacunas vectorizadas.

La vacuna vectorizada de la Enfermedad de Marek HVT que expresa al gen de la proteína F del vEN (rHVT-NDV) han mostrado eficacia al aplicarse dentro de un programa de vacunación contra la EN (2). La protección que estas vacunas ofrecen se basa en la fuerte respuesta de tipo celular que el HVT induce y que adicionalmente, al expresar la proteína F del vEN, genera anticuerpos neutralizantes. Tan solo los anticuerpos contra la proteína F evitan la transmisión de célula a célula. La eficacia de la vacuna rHVT-NDV ha sido probada en desafíos con cepas velogénicas en laboratorio (5), y también en condiciones de producción comercial en diferentes partes del mundo (Y. Gardin, comunicación personal) con considerable éxito.

El objetivo de éste trabajo es demostrar el nivel de protección generada por la vacuna rHVT_NDV incluida en programas de vacunación de pollos de engorda criados en condiciones comerciales y desafiadas en laboratorio con una cepa velogénica de la EN (Chimalhuacan) en términos de viabilidad y excreción viral, con la finalidad de mostrar que es factible su utilización en condiciones de producción propias de México.

Material y método

Para el desarrollo de este trabajo se corrieron cuatro experimentos con el mismo diseño, comparando parvadas vacunadas con rHVT-NDV y virus vivos con parvadas con programas de vacunación que incluyen virus vivos e inactivos.

Aves. Se tomaron 80 pollos de engorda de 30 días de edad provenientes de 8 granjas distintas, ubicadas en cuatro zonas geofiguras diferentes. De cada zona se tomaron 10 pollos de una granja vacunados contra la EN con rHVT-NDV más virus vivos y 10 pollos de otra granja diferente que fueron vacunados con virus vivos e inactivados **(Cuadro 1).** Cada grupo de 10 aves se alojó en unidades de aislamiento con aire filtrado tipo Horsfall-Bauer junto con 5 aves SPF de la misma edad.

Vacunas. La vacuna rHVT-NDV (Vectormune® HVT_NDV) fue producida por Ceva-Biomune (USA). En todas las pruebas, la vacuna que se aplicó al día de edad fue la cepa PHY-LMV 42. La revacunación con virus vivos se realizó con: Prueba 1: PHY-LMV 42; Prueba 2: LaSota rND-AI; Prueba 3: LaSota y; Prueba 4: LaSota. Las vacunas inactivadas que se aplicaron en las

pruebas 1, 2 y 3 son elaboradas con la cepa LaSota, provenientes de diferentes laboratorios comerciales.

Cuadro 1. Programas de vacunación contra la Enfermedad de Newcastle por prueba

No. Prueba	Programa de vacunación experimental	Programa de vacunación control
1	rHVT-NDV, 1 día Virus vivo, 1 y 12 días	Inactivada, 1 días Virus vivo, 1 y 12 días
2	rHVT-NDV, 1 día Virus vivo, 1 y 12 y 23 días	Inactivada, 1 y 12 días Virus vivo, 1, 12 y 23 días
3	rHVT-NDV, 1 día Virus vivo, 1 y 12 y 28 días	Inactivada, 1 y 12 días Virus vivo, 1,12 y 28 días
4	rHVT-NDV, 1 día Virus vivo, 1, 12 y 28 días	rHVT-NDV, 1 día Virus vivo, 1, 12 y 25 días

Desafío. A cada ave, incluyendo las aves SPF, se les aplicó 0.3 ml vía ocular de la cepa velogénica de la EN cepa Chimalhuacán con un título de 10^6 $DIEP_{50}$. El virus de desafío fue originalmente aislado en México, y pertenece a la clase II, genotipo V, con un IPIC de 1.89.

Parámetros: Las aves fueron observadas por 14 días postdesafío (PD) por signos clínicos y mortalidad. El día que en que las aves fueron inoculadas se tomaron muestras de sangre para correr las pruebas de ELISA (IDEXX) y de HI (diluciones decimales seriadas) con 4 UH. A los siete días PD, se tomaron muestras de hisopos cloacales para medir la excreción viral por medio de la prueba de Reacción en cadena por la Polimerasa de Tiempo Real (PCR-TR). La técnica de PCR-TR es la que se realiza en el laboratorio de diagnóstico de Investigación Aplicada, S. A. de C.V., Tehuacán Puebla). De cada grupo se tomaron 10 hisopos, mismos que se dividieron en dos pool.

Resultados

Viabilidad. Ninguno de los cuatro grupos experimentales ni de los grupos control tuvo mortalidad, e incluso tampoco se presentaron signos clínicos que reportar. Con respecto a las aves SPF, todas murieron entre 3 y 6 días PD.

Serología. En el **cuadro 2** se presentan los resultados de las pruebas de HI y de ELISA Los títulos de HI obtenidos por los grupos vacunados con rHVT-NDV fueron bajos como se esperaba, dado que es la proteína F del vEN el que genera la respuesta inmune protectiva y no la Hemaglutinina, aunque tampoco ésta prueba fue capaz de detectar los anticuerpos generados por los virus vivos administrados en el mismo programa de vacunación. En los grupos vacunados con rHVT-NDV, el título HI inicial es el mínimo, excepto en la prueba 3 que probablemente se debió a que la aplicación de un virus vivo es la más reciente en comparación

con otras pruebas. En todas las pruebas, el grupo control tuvo títulos de HI inicial más alto, y después del desafío mostraron una respuesta más alta con excepción de la prueba cuatro, debido a que en ésta ambos grupos recibieron la vacuna rHVT-NDV.

Cuadro 2. Títulos de HI y de ELISA obtenidos antes del desafío y 14 días después

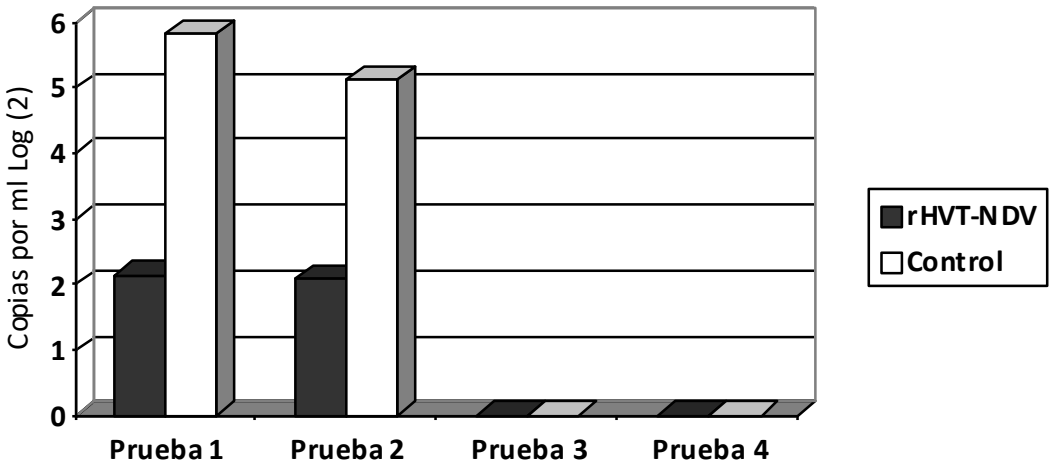
		Inhibición de la Hemaglutinación		ELISA	
Prueba	Grupo	Antes desafío	Postdesafío	Antes desafío	Postdesafío
1	rHVT-NDV	3.32±0.00[c]	5.72±1.71[c]	125±109[c]	1799±1008[c]
	Control	4.65±0.71	8.92±1.43	552±443	5608±4105
2	rHVT-NDV	3.32±0.00[c]	8.02±1.64[c]	253±248[a]	2865±1862[c]
	Control	4.82±1.27	10.02±0.67	467±374	20039±6499
3	rHVT-NDV	5.82±1.27[a]	5.02±1.06[c]	697±383[c]	2588±1757[c]
	Control	6.42±2.08	9.72±0.84	608±983	14293±8764
4	rHVT-NDV	3.32±0.00	9.52±1.69[c]	84±63[c]	24760±8061[c]
	Control	5.72±1.07	8.82±2.22	999±719	18245±8462

C=Diferencia estadísticamente significativa p≤0.01 por la prueba t-Letus 123.
Los resultados de HI se presentan en Log 2.

En este trabajo que se presenta, la prueba de ELISA-IDEXX no fue sensible para detectar los anticuerpos generados por la proteína F, y tampoco fue muy sensible al estímulo generado por los virus vivos aplicados en los mismos programas de vacunación.

Excreción viral. Los resultados de prueba de excreción viral medida por PCR-TR se muestran en la **figura**. Las barras de la figura se agrupan en pool 1 y pool 2 de cada grupo.

Figura. Excreción viral medida por PVR-TR y expresada en copias por ml Log2



La dosis inoculada expresada en copias/ml Log 2 fue de 5.93

Como se puede observar en la figura 1, solo se detectó excreción viral en las pruebas 1 y 2, muy probablemente relacionado con el programa de vacunación utilizado. La reducción en la excreción viral en éstas pruebas fue significativamente menor en los grupos que recibieron la vacuna rHVT-NDV. En las mismas pruebas, las aves que recibieron vacuna inactivada, prácticamente no redujo la excreción viral, o la reducción de de menos de un logaritmo.

Discusión

La vacuna rHVT-NDV es una vacuna vectorizada que utiliza al virus Herpes de Pavo HVT para expresar al gen de la proteína F del virus de la EN que se aplica en la incubadora al día de edad, o que pude aplicarse también in ovo para genrar inmunidad contra las enfermedades de EN y de Marek. Después de correr cuatro pruebas de desafío en unidades de aislamiento con un virus velogénico de la EN cepa Chimalhuacan en pollos de engorda criados en granja, se pudo observar que:

Hubo 100% de protección contra signos clínicos y mortalidad en todos los grupos probados, tanto los experimentales vacunados con rHVT-NDV como en los grupos control. Si bien es cierto que no hubo diferencias en este punto de análisis, es importante para el objetivo del estudio hacer notar que la coincidencia en el resultado demuestra que todas las vacunas actuaron en tiempo y forma de acuerdo a su diseño, generando inmunidad suficiente. La norma mexicana para este tipo de desafíos indica que por lo menos el 80% de las aves desafiadas deben estar protegidas, y que por lo menos el 80% de las aves testigo deben moris o mostrar signos de la EN; en este caso la protección de los grupos probados fue de 100%, y así mismo, la mortalidad de todos los grupos de aves SPF murieron mostrando signos y lesiones de la EN, por lo que las cuatro pruebas se consideran satisfactorias.

El grupo de aves que recibieron la vacuna rHVT-NDV más virus vivos no generaron una respuesta serológica detectable por la prueba de HI y tampoco por la prueba de ELISA-IDEXX. Es conocido que la respuesta inmune la genera la proteína F y no la proteína HN, así que se esperaba este resultado. Aunque también es importante mencionar que las dos pruebas serológicas tampoco fueron sensibles para detectar la respuesta generada contra las vacunas con virus vivos a los 35 días de edad. Así mismo, debido a la ausencia de respuesta serológica a la prueba de ELISA_IDEXX, se asume que es necesario contar con una prueba que detecte anticuerpos contra la proteína F del vEN. Como la respuesta serológica generada por el programa que recibió rHVT-NDV no es detectable por la prueba de HI, ésta prueba puede utilizarse como sistema DIVA (Differenciate Infected from Vaccinated Animals) para detectar infecciones por virus de campo.

En estos estudios, la respuesta serológica no estuvo relacionada con la protección como se ha mostrado en otros estudios donde se utilizan vacunas vivas e inactivadas. Este punto será importante para la interpretación de resultados serológicos cuando se utilice la vacuna rHVT-NDV en explotaciones comerciales.

En las pruebas de excreción viral con la prueba de PCR-TR, solo se detectaron virus en las pruebas 1 y 2, y aunque no tenemos una explicación o pruebas contundentes, especulamos que el tipo de vacunas con virus vivo que se usaron en estos programas incidieron en el resultado pues en las pruebas 3 y 4 se utilizaron vacunas conteniendo la cepa LaSota mientras que en las pruebas 1 y 2 se utilizaron vacunas apatógenas y LaSota recombinante, sin embargo, es necesario hacer pruebas complementarias para poder afirmarlo. Una observación importante es, que las aves vacunadas con rHVT-NDV en las pruebas 1 y 2 excretaron una cantidad significativa menor que las que recibieron vacunas inactivadas. La excreción viral de los grupos rHVT-NDV en las pruebas 1 y 2 redujeron en un 60-65% y totalmente en las pruebas 3 y 4, por lo que podemos afirmar que ésta vacuna tiene un fuerte potencial para reducir significativamente la transmisión del vEN velogénico de una manera más eficiente que los programas con vacunas inactivadas, ofreciendo un método de control de la EN más eficaz que lo que se utiliza actualmente.

Finalmente, el objetivo de este trabajo es conocer el potencial de la vacuna rHVT-NDV para ser utilizada dentro de un programa de vacunación contra la EN en condiciones de producción comercial de pollo de engorda en un medio ambiente propio de las principales zonas avícola de México, de tal manera que concluimos que ésta vacuna puede ser incluida en programas de vacunación esperando un mejor desempeño que los programas convencionales.

Referencias

1. Guittet B., Picault J., Bouquet J., Devaux B., Gaudry D. and Moreau Y. Vaccination of one day old chicks against Newcastle Disease using inactivated oil adjuvant vaccine and/or live vaccine. Avian Pathol. 7:15-27. 1978
2. Heckert R., Riva S., Cook J., McMillen J. Schwartz J. Onset of protective immunity in chickens after vaccination with a recombinant Herpesvirus of Turkeys vaccine expressing Newcastle Disease virus Fusion and Hemaglutinin-Neuroaminidase antigens. Avian Dis. 40 (4):770-7. 1996
3. Kapczynski D., King D., Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle Disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle Disease outbreak. Vaccine 23:3424-33. 2005
4. Moreno R. La Enfermedad de Newcastle y algunos avances recientes de diagnóstico. Ciencia Veterinaria (FMVZ-UNAM) 6:49-72. 1994
5. Rauw F., Gardin Y., Palya V., Anabari S., Lemarie S., Boschmans M. Improved vaccination against Newcastle Disease by in ovo recombinant HVT-NDV combined with an adjuvanted live vaccine at day old. Vaccine 28:823-833.2010
6. Senne D., King D., Kapczynski D., Control of Newcastle by vaccination. Dev. Biol. 119:165-70. 2004
7. VAnBoven M., Bouma A. Fabri T., Katsma E., Hartug L. and Koch G. Herd immunity to Newcastle Disease virus in poultry by vaccination. Avian Pathol. 37(1):1-5. 2008
8. Villegas P. Viral Diseases of respiratory syatem. Poultry Sci. 77:1143-45. 1998
9. Westbury H. Comparison of the immunogenicity of Newcastle Disease virus strains V4, Hitchner B1 and LaSota in chickens. Australian Veterinary J. 61:10-3. 1984
10. World Organization for Animal Health (OIE). International Animal Health Code, Paris In: OIE. 2003

Regresar a lista de contenidos

RESULTADOS ZOOTÉCNICOS DE TRES PARVADAS DE AVES DE ABASTO, MEDICADAS CON TRATAMIENTO HOMEOPÁTICO

Ma. de Lourdes González Anaya, Jorge Hernández Bautista, Amos Palacios Ortíz*
Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
*lugoay@yahoo.com.mx

RESUMEN

La Homeopatía es una corriente médica que tiene su propia estructura de investigación del estado alterado llamado "enfermedad" y de las substancias utilizadas como medicamentos. En los tratamientos se utilizaron tres medicamentos homeopáticos siendo estos: Tratamiento 1 *Pulsatilla,* Tratamiento 2, *Hydrocyanic acidum (Ha)* y Tratamiento 3, *Antimonium tartaricum (At)*. El objetivo fue probar si la medicina homeopática es aplicable a las aves de abasto en explotación intensiva. Se usaron potencias decimales (x) y centesimales (CH). Los resultados en la productividad, se valoraron en los grupos de tratamiento contra los controles, no presentando significancia estadística ($p<0.05$). Pero si, en el valor aritmético; el Tratamiento 1 con la potencia 6x acusó en el peso final +0.173kg, para el consumo +0.126kg y el IC -0.100kg; El Tratamiento 2 con la potencia 6CH acusó para los mismos indicadores +0.124kg, +0.645kg y +0.140kg; El Tratamiento 3, con la potencia 6CH acusó -0.055kg,+0.120kg y +0.060kg. Conclusiones: Los resultados presentados en los tres tratamientos, no tuvieron significancia estadística, se reitera la tendencia a obtener mejores parámetros entre los grupos tratados con medicamentos homeopáticos contra sus respectivos controles, esto permite suponer que la homeopatía sería aplicable extrapolando de las Materias Médicas* existentes, los signos más importantes de los remedios y correlacionarlos con la signología clínica o los rasgos productivos de interés avícola.

Palabras clave: Repertorización, Materia Medica, Potencia, Parámetro, Productividad.

ABSTRACT

Homeopathy is system of medical practice that has its own research structure to approach the alterated state of health and the administration of the substances used for medication. For the tests were used three of these; on the test 1*, Pulsatilla; Test 2, Hydrocyanic acidum (Ha); ** Documentos que contiene la descripción clínica de los medicamentos homeopáticos.*Test 3, Antimonium tartaric.* The purpose was to test if the homeopathic pharmacopeia isuseful to commercial fowl that are subject intensive exploitation. Therefore the potential use was measured in decimals (x) and centesimal (CH). The productivity results, validated by groups did not yield statistical importance ($p<0.05$). It was otherwise for the arithmetical value: For test 1, with potency 6x, the final weight was +0.173kg, and IC –0.100kg. For test 2, at 6CH yields the same indicators +0.124kg, +0.645 and+0.140kg. Test 3, with the 6CH potency yield -0.055kg, +0.120kg and +0.060kg. Conclusions: The results presented in these or the productive trends for the fowl interest.

Key words: Repertory, Medical Matter, Potency, Parameter, Productivity.

INTRODUCCIÓN

La avicultura moderna ha puesto énfasis en la atención en la demanda de alimentos de alto valor nutricional para la población humana, este resultado se debe a la conjunción de factores como son; la mejoría en las potencialidades de los animales, el manejo más eficiente y la implementación de estrategias novedosas o revisión de las ya probadas, para resolver los problemas frecuentes en esta actividad. Un dilema frecuente para la productividad pecuaria es el costo de los insumos de producción, cuestión relevante en el estado de Oaxaca, donde la falta de materias primas producidas o maquiladas localmente para la producción del pollo de abasto, lleva en consecuente el arrastre por la vía terrestre de los mismos. Y hace de la actividad avícola cualesquiera que sea la escala de inversión y tecnificación alcanzada una situación difícil, ya que la inversión frecuentemente es al menos igual al valor comercial del producto. Sin embargo, la investigación de recursos que permitan optimizar más el desarrollo de las aves, permitiendo a los productores lograr una mayor productividad de las parvadas sin incrementar sustancialmente su inversión, es una opción interesante, razón que motivo los trabajos realizados en la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca en los cuales se escudriña de manera incipiente la posibilidad de utilizar la corriente medica- homeopática, como un recurso promisorio.

Origen de la Homeopatía.

La Homeopatía es una corriente médica que tiene su propia estructura de investigación del estado alterado llamado "enfermedad" y las substancias utilizadas como medicamentos. Está corriente se hace publica en el año de 1810, con la publicación de la1ª edición del "Organón de la Medicina Racional" (1) siendo el resultado de múltiples acontecimientos que ocurrieron en la vida y practica profesional del Dr. Samuel Hahneman también fundamento la Farmacología Homeopática, la cual inicio con sustratos usados como medicamentos en esta época. El origen de los substratos homeopáticos pertenecen principalmente al Reino Vegetal y Reino Mineral, en menor grado aunque su uso va en marcado incremento al Reino Animal y los Imponderables, los sustratos provenientes del primero y tercer reino, cuando son fisiológicos se les llama *sarcodes* y cuando son secreciones patológicas *nosodes.* Los minerales su uso es amplio habiendose incorporado sustratos orgánicos e inorgánicos (2).

Para la extracción de los sustratos los principios activos se utilizan el método de la triturar, macerar y/o destilar y otros procedimientos según sea el caso. A este primer producto se le llama Tintura Madre (TM) cuando tienen origen vegetal o animal. Sustancia Madre (SM) si éste es mineral. Posteriormente las TM o SM son la materia prima para desarrollar los Preparados Homeopáticos; los cuales han sido *Dinamizados* o sea diluidos y procesados según el método en los vehículos más frecuentes, siendo estos alcohol o agua, hasta llevarlos a la potencia indicada con lo que se determina el grado de energía lograda en cada una de estas *dinamodilusiones*; esta condición sólo se logra mediante un procedimiento único de la homeopatía llamado *Sucusión* ejemplo 1x, 10x, 1CH, 10CH etc.

Procedimiento de investigación Homeopático, la Experimentación Pura.

La investigación médica homeopática y el método homeopático han sido objeto de la aplicación, revisión, ampliación y complementación desde la época del autor y se continua al presente ya

que ambos componentes son indispensables para llegar al objetivo medico de curar a los enfermos, con el menor sufrimiento y de manera holística.

La investigación parte de los preparados homeopáticos (anunciados anteriormente) ejemplo 10x, 10CH etc, (los cuales en la actualidad es posible obtener de manera comercial). Se inicia el procedimiento con la administra de la sustancia de interés por un tiempo determinado en una población de prueba (experimentadores) bajo condiciones controladas por él o los responsables de la comprobación del sustrato, a este procedimiento se le conoce como "Experimentación Pura o en el Hombre Sano", después de este etapa las historias clínicas se conjuntan en un sólo documento, resaltando los síntomas y los signos constantes, originando la información incluida en las Materias Medicas. En lo subsecuente a estas sustancias se les reconoce como **Medicamentos Homeopáticos.** Entendiéndose por medicamento homeopático a toda "sustancia convenientemente experimentada de la que se conoce claramente las alteraciones patológicas que ha producido en el hombre sano, y que es capaz de hacer desaparecer estas en el hombre enfermo" Por lo tanto el procedimiento para curar del medico homeópata es la indagación del cuadro clínico del paciente y relacionado con las descripciones medicamentosas encontradas en las Materias Medicas, al procedimiento se la conoce como Repertorización (2).

Principios Médicos Homeopáticos y de la Terapéutica Homeopática

Principio de la similitud. ***Similia Similibus Curentur.*** También llamada Ley de los Semejantes, refiriendo lo siguiente "Una enfermedad solo puede ser curada en la forma más natural con el medicamento que experimentalmente en el hombre sano produce alteraciones o síntomas semejantes a los de esa enfermedad". Así el medicamento similar lo será con respecto a siguientes puntos: a los síntomas, a la patología del enfermo, a la dosis, a la vitalidad del enfermo, a la intención curativa (3,1,4,5).

Experimentación pura o experimentación en individuos sanos. La experimentación pura es el método mediante el cual se realiza la indagación controlada en individuos lo más sano posibles, sobre los efectos que estos manifiestan por la administración de una droga o sustancia en su estado más simple o puro, o sea natural. El resultado de esta indagación se le conoce como patogénesis o enfermedad generada artificialmente (3,1,4,5).

Individualización morbosa cada individuo tiene una forma particular de enfermar en este caso se debe diferenciar entre la personalidad habitual del enfermo y la manifestada como enfermo, teniendo muy en cuenta las peculiaridades. Dicho de otra manera hay enfermos no enfermedades (3,1,4,5).

Individualización medicamentosa esta es el resultado entre la sintomatología del paciente y la patogénesia (3,1,4,5).

Terreno el concepto de "terreno" Hanhneman lo desarrolla en el Organón y podría equipararse al concepto alopático de susceptibilidad hereditaria, que en el caso del Síndrome Ascítico (SA) de los pollos sería circunscrito al desequilibrio orgánico existente en el desarrollo del aparato

cardio-pulmonar y al potencial de crecimiento desarrollado en los híbridos comerciales (3,1,4,5).

Repertorización es el proceso de indagación clínica que realiza el médico homeópata, en la(s) Materia(s) Médica(s), para encontrar el medicamento semejante a la patología presentada por el paciente o sea la potogenesia (3,1,4,5).

La práctica médica homeopática

Esta se inicia con el conocimiento lo más exacto posible del caso a ser atendido por el médico, sin embargo en el caso del médico homeópata este procedimiento debe llevarse a cabo con mucha atención y profundidad. Qué quiere decir esto que hay que obtener los signos y síntomas dichos por el paciente o responsable. Además de poner cuidado con la actitud y comportamiento observado por éste durante la consulta. La historia clínica de ser posible se remontara a los progenitores y familiares cercanos, y la propedéutica no sólo debe dar valor a las constantes fisiológicas, sino a otras informaciones como son olores, texturas, secreciones, hábitos y manías observables en el paciente.

La homeopatía en la Veterinaria.

En la práctica medica veterinaria, es obvio la omisión de los síntomas, sin embargo la individualización de cada caso, es posible sólo con los animales de alto valor económico o genético como sucede con los equinos, caninos y aves de ornato entre otras, como lo muestra las Materias Medicas Veterinarias (6,7). Sin embargo la avicultura es una actividad productiva que siempre trabaja con poblaciones y que dependiendo del estrato productivo puede incidir en poblaciones homogéneas o heterogéneas, lo que hace casi imposible la individualización de cada caso.

La investigación homeopática llevada a cabo en la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia (EMVZ) inicio con el propósito de determinar si la homogeneidad genética propia de las aves utilizadas en la avicultura comercial moderna, *Líneas avícolas* permitía considerar a un colectivo o sea una parvada, como un individuo, esto con el fin de aplicar de la manera más exacta posible la metodología homeopática. En los casos presentados, se repertorizo los cuadros clinicos mostrados por las aves, para llegar al semejante y la dinamodilución apropiada así como la posología del medicamento elegido para cada una de las pruebas (8).

Los trabajos referidos por motivos propios de la investigación veterinaria, no podían iniciarse con la investigación en individuos sanos, a fin de obtener la signología propia al medicamento en prueba, sino fue planteado cada medicamento ha probar partiendo de cuatro puntos:

El primero, la entidad clínica o enfermedad elegida fue en razón de la importancia que está tiene en la avicultura comercial.

El segundo, después de realizar la repertorización y por lo tanto la extrapolación signológica más significativa en las Materias Medicas, que son obviamente para humanos a la signología avícola al caso a tratar, se eligió el medicamento que se considero idóneo.

En tercer lugar, la evaluación homeopática de las parvadas fue llevada a cabo en razón de los signos presentados por las aves y la zootécnica por la productividad lograda.

El cuarto punto, las pruebas sólo se llevaron a cabo en aves de abasto y por lo tanto los parámetros productivos fueron; mortalidad, % de mortalidad, consumo/aves, peso final, ganancia de peso e índice de conversión. El corte de la parvada como es lo usual en la avicultura comercial se llevo a cabo al finalizar cada semana vida de está.

Enfermedades consideradas para las pruebas: ECRC y SA.
Enfermedad Crónica Respiratoria Complicada, es la afectación del aparato respiratorio y otros, por el *Mycoplasma spp,* el cual tiene transmisión vertical y horizontal, en asociación con bacterias del genero *E. coli* y otras enterobacterias, el deterioro de la parvada se hace evidente sobre la 2ª a la 4ª semana pos infección y las perdidas van del 2 al 20%. Esta patología se ve favorecida por el factor predisponente que es la infección trasovárica, el factor desencadenante resumido como fallas en el manejo y el factor complicante que son las asociaciones bacterianas (9).

Síndrome ascítico, esta no es una enfermedad, sino una manifestación patológica del organismo cuyo rasgo más impactante es la acumulación de líquido en la cavidad abdominal; es una entidad que transcurre con epizootiología, signos clinicos y patología constante. Afecta principalmente a aves de abasto y sus progenitores, y de estos son los machos los que presentan mayor incidencia presentándose la mortalidad sobre la 6ª a 7ª semana, la muerte que sobreviene por falla cardiaca y pulmonar. Los factores desencadenantes se encuentran compendiados así: factores genéticos, de manejo, nutricionales, ambientales, tóxicos y clinicos. El efecto aditivo de más de uno de estos factores lleva al ave a un estado hipóxico y con ello a desencadenamiento de los mecanismos compensatorios de tipo hematico, que en mucho tienen que ver con el daño orgánico múltiple (9,10).

Objetivo
Probar si la medicina homeopática es aplicable clínica y/o zootecnicamente a las aves de abasto en explotación intensiva.

MATERIAL Y MÉTODOS
Estas pruebas fueron llevadas a cabo en la nave avícola ubicada en la EMVZ, la Escuela se encuentra dentro del campús en la ciudad de Oaxaca, la temperatura promedio es de 24ºC, y la altura es de 1550 msnm, está es de tipo NAN , la fuente de calor fue con criadoras de gas, los bebederos fueron manuales o automáticos tipo campana esto se determino según la etapa en que se administro el medicamento, la alimentación fue controlada (sólo se ponía el alimento calculado según las tablas de consumo para la edad y el numero de animales alojados), el alimento fue de marca comercial en las fases de Iniciador y Finalizador, y estuvo disponible en el horario diurno, la atención de las parvadas fue realizada por los alumnos que cursaban las materias de Zootecnia y Clínica Avícola.

Tratamiento 1
- Medicamento usado: *Pulsatilla* (Flor de viento).
- Potencia: 6x, 30x
- Grupos: 6x, 30x y el control
- Objetivo: Desarrollar el cuadro clínico de la *Pulsatilla* o el de ECRC en aves de abasto.
- Edad para administrar la *Pulsatilla:* 4ª y 5ª semana de edad
- Forma de administración: dos gotas directo al pico, tres veces al día.
- Enfermedad a comprobar: ECRC.
- Línea usada: Cobb 500
- Peso inicial: 40 gr.
- Temporalidad de la prueba: 52 días
- Observación de las aves: se llevo a cabo tres veces al día durante la prueba, por un periodo de 50 min.

Variables a observar.
- Signos inherentes a la *Pulsatilla:* tos, estornudos, moqueo, traqueobronquitis, inquietud, friolentas, disminución en el consumo de alimento, disminución en el consumo de agua, evacuaciones cambiantes, andar dolorido.
- Cambios en la conducta: ejemplo hurañas, no beber,
- Modificación de los parámetros.

Tratamiento 2
- Medicamento usado: *Hydrocyanic acidum* (Ácido prúsico).
- Potencia: 6CH, 30CH
- Grupos: 6CH, 30CH y el control, con 4 repeticiones y cada una consto de 7 animales.
- Objetivo: *Hydrocyanic acidum,* administrado durante las primeras dos semanas de vida en las potencias 6CH y 30CH es capaz de prevenir la presentación del síndrome ascítico en pollos de abasto.
- Edad para administrar *Hydrocyanic acidum:* 1ª y 2ª semanas de edad
- Forma de administraciones: dos gotas directo al pico, tres veces al día.
- Enfermedad a comprobar: SA
- Línea usada: Cobb 500
- Peso inicial: 40 gr.
- Temporalidad de la prueba: 42 días

Variables a observar.
- Signos inherentes al *Hydrocyanic acidum:* tos seca, respiración ruidosa, debilidad por la noche, cianosis de las extremidades.
- Cambios en la conducta ejemplo: agitado, furioso, cambio en la postura constantemente.
- Modificación de los parámetros.

Tratamiento 3
- Medicamento usado: *Antimonium tartaricum* (Tartrato de antimonio y potasa).
- Potencia: 6CH, 30CH
- Grupos: 6CH, 30CH y el control. Con 4 repeticiones y cada una con 8 animales.
- Objetivo: Administrar el *Antimonium tartaricum* durante la 1ª y 2ª semanas de vida a las potencias señaladas, cómo tratamiento preventivo al SA.
- Edad para administrar el *Antimonium tartaricum:* 2 primeras semana de edad
- Forma de administración: 20 ml del medicamento más 60 ml de agua. Se pusieron 20 gotas del medicamento a cada uno de los tres bebederos individuales, colocados en cada una de las 8 repeticiones.
- Enfermedad a comprobar: SA.
- Línea usada: Cobb 500
- Peso inicial: 40 gr.
- Temporalidad de la prueba: 42 días
- Observación de las aves: se llevo a cabo tres veces al día durante la prueba, por un periodo de 50 min.

Variables a observar.
- Signos inherentes al *Antimonium tartaricum:* debilidad, temblores, parálisis de los miembros, estertores, respiración ruidosa.
- Cambios en la conducta: somnolencia constante, agotamiento, tos después de ingerir alimento.
- Modificación de los parámetros.

RESULTADOS

Zootécnicos

En los tratamientos se utilizaron tres medicamentos siendo estos: Tratamiento 1 *Pulsatilla,* Tratamiento 2 *Hydrocyanic acidum (Ha)* y Tratamiento 3 *Antimonium tartaricum (At),* los resultados de los tres, se compararon con el control de cada prueba. En la Tratamiento 1 las potencias fueron 6x y 30x (decimal) y en las dos últimas las potencias fueron 6CH y 30CH (centesimal). Tratamiento 1, la *Pulsatilla* se repertorizo para la ECRC. Se observo el comportamiento y signos de los animales en prueba y el control. No habiendo presentados signos de ECRC ni de experimentar al medicamento señalado. Los parámetros productivos (cuadro 1) no se vieron afectados ($p<0.05$), más si en el valor aritmético*, donde el peso final del tratamiento 6x fue +0.173kg, el consumo fue +0.126kg y el índice conversión -0.100kg, el tratamiento 30x con respecto a los mismos valores acuso +0.033kg, +0.066kg, IC fue igual al control. Tratamiento 2 el *Ha* se repertorizó para SA. No habiendo presentados signos de SA ni de experimentar el medicamento señalado ni durante la administración o posteriormente, sin embargo en las necropsias de los animales muertos de los grupos tratados si se encontraron lesiones de SA, siendo estas exudado hialino en los pulmones. Los parámetros productivos no se vieron afectados ($p<0.05$) (cuadro 1), más si en el valor

*mencionado en el cuadro 1 como Diferencia.

aritmético, donde el peso final del tratamiento 6CH fue +0.124kg, el consumo fue +0.645kg y el índice conversión +0.140kg, y la mortalidad +2.08%, el tratamiento 30CH con respecto a los

mismos valores acuso +0.100kg, +0.330kg, 0.040kg y la mortalidad +5.95%. Tratamiento 3 se administro *At* en las potencias señaladas, Se observo el comportamiento y signos de los animales en prueba y el control. No habiendo presentados signos de SA ni de experimentar el medicamento señalada ni durante la administración o posteriormente. Los parámetros productivos no se vieron afectados ($p<0.05$) (cuadro 1), más si en el valor aritmético, donde el peso final del tratamiento 6CH fue -0.055 kg, el consumo fue +0.020kg y el índice conversión +0.060kg, el tratamiento 30CH con respecto a los mismos valores acuso +0.040kg, +0.433kg y +0.180kg, la mortalidad se presento durante la 1ª semana de edad y se debió a onfalitis.

Cuadro 1. Resultados y Diferencias Zootécnicas entre las tres parvadas.

Indicador	Prueba 1 (P)		Diferencia	Prueba 2 (*Ha*)		Diferencia	Prueba 3 (*At*)		Diferencia
Peso en Kg	6x	2.4396	+0.173	6CH	2.733	+0.124	6CH	1.890	-0.055
	30X	2.296	+0.033	30CH	2.709	+0.100	30CH	1.985	+0.040
	Control	2.263		Control	2.609		Control	1.945	
Consumo en kg	6X	4.652	+0.126	6CH	5.680	+0.645	6CH	3.310	+0.020
	30X	4.592	+0.066	30CH	5.365	+0.330	30CH	3.723	+0.433
	Control	4.526		Control	5.035		Control	3.290	
I.C	6X	1.900	-0.100	6CH	2.070	+0.140	6CH	1.750	+0.060
	30X	2.000	0.000	30CH	1.970	+0.040	30CH	1.870	+0.180
	Control	2.000		Control	1.930		Control	1.690	

Clínicos

Con los tres tratamientos se mostró que las aves de abasto no dan signos específicos y/o característicos a ninguno de los medicamentos homeopáticos usados. Sin embargo con el tratamiento 2 en el grupo 30CH, esté presento mayor mortalidad sin evidenciar signos y lesiones de SA, no obstante el hematocrito tuvo un valor mayor en 3% con respecto al control, la proteína plasmática tuvo el valor 5% arriba del grupo control, lo que permite suponer el efecto somático del medicamento usado. Por lo que podemos suponer que el medicamento homeopático *Hydrocyanic acidum* 30 CH, si fue capas de reproducir el colapso clínico del SA, no obstante que las aves no presentaran durante el tiempo de medicación y posteriormente las sobrevivientes alguna signología propia al medicamento. Este resultado se puede interpretar como "Efecto de Experimentador" y de ser cierto, entonces es probablemente que el *Hydrocyanic acidum* 30 CH si pueda ser un medicamento adecuado para curar el SA en aves afectadas.

Con el tratamiento 3, se escudriño la posibilidad de manejar la administración del medicamento homeopático de manera más operativa para el manejo comercial o sea administrado en el agua de bebida, y aunque esta parvada tuvo los resultados más bajos, no obstante del ciclo haber sido igual al tratamiento 2 Se confirman dos cosas la primera la medicación homeopática si se puede realizar vía agua de bebida y dos los parámetros son mejores en los grupos tratados vs el su control.

DISCUSIÓN

- Los resultados presentados en los tres tratamiento, no tuvieron significancia estadística ($p<0.05$) sin embargo si aritmética, razón por lo que son los valores referidos en el Cuadro 1 y en el apartado resultados zootécnicos. Es importante señalar la tendencia a obtener mejores parámetros entre los grupos tratados con medicamentos homeopáticos vs el control que no recibió ningún tratamiento.
- La investigación médica homeopática o mejor dicho experimentación pura en aves de abasto es poco prometedora, esto hace poco probable el desarrollar la materia medica propia.
- La medicina homeopática si es posible de ser utilizada en la avicultura de poblaciones genéticamente homogéneas, requiriéndose para esto: extrapolar de la(s) Materia(s) Médica(s) los signos más importantes de los medicamentos y correlacionarlos con los signos o los rasgos productivos de interés.
- Los medicamentos homeopáticos tienen un costo menor aun en presentaciones para el uso humano, de esto se desprende la posibilidad de que al incrementarse la demanda por parte de la industria avícola, los laboratorios se interesaran en desarrollar presentaciones más apropiadas para la avicultura.
- Para la administración del medicamento homeopático a una parvada objetivo, se debe disolver el preparado farmacéutico (comercial) en agua sin clorar o yodar, vertiéndola al tinaco correspondiente y mezclar, el cual contendrá la cantidad de agua para ser agotada por las aves en no más de 4 horas y en las mismas condiciones que se requirió para llevar a cabo la disolución inicial.
- En el tratamiento 2 en la cual se administro *Hydrocyanic acidum,* las aves de ambos grupos en tratamiento (*Ha* 6 y 30CH), presentaron parámetros productivos inferiores al control y en las necropsias se encontró exudado hialino intrabronquial. Esta evidencia se puede interpretar como efecto de experimentador y es probable que pueda ser el medicamento adecuado en un episodio de SA real.

RECOMENDACIONES

- Sería útil probar los medicamentos homeopáticos que están en la categoría de constitucionales ya que es posible que tengan un efecto favorable sobre sus parámetros productivos como los mencionados por Briones
- También sería conveniente probar medicamentos que pueden mejorar los resultados durante el faenado, al promover la reabsorción y eliminación de la sangre extravasa, acelerando la recuperación en los músculos o vísceras y para controlar los estados de excitación efecto mencionado por el laboratorio Boiron para guajolotes.

REFERENCIAS

1. Hanhnemann, S: Órganon de la Medicina. 3ª. Ed. Porrúa, México, D. F., 1984. Pp. 157-178.
2. Morales, R L: Síntesis de Farmacia Homeopática., Número de Registro 7365/90, libro 10, foja 363, México D.F. 3 abril de 1990 pp 5 - 75.
3. Jiménez SE: Efecto de *Apocynum cannabinum* 200c como aditivo para la prevención d el síndrome ascítico sobre cardiopatías en pollos de engorda de la estirpe Arbor-Acress (Tesis de Licenciatura). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de México. México 2007 pp. 5-15.

4. Rodríguez HA y Solórzano SC: "Aplicación de la *Pulsatilla* para reproducir el cuadro clínico de la ECRC, que se presenta en la avicultura intensiva" (Tesis de Licenciatura). Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. México 2006 pp.13 -44.
5. Sánchez OP: Introducción a la Medicina Homeopática. Teoría y Práctica. Biblioteca de Homeopatía de México. Tlaxcala No. 58 Col. Roma ISBN 970- 92000-0-3, 2ª ed 1997. pp125 –227.
6. Silva C E: Homeopatia Veterinária. Primera Edición abril de 2008, ISBN en trámite. Ed. Propulsora Homeopática SA de CV. Tel 015555479483. pp 111- 393.
7. De Medio HO: Veterinaria Homeopática. 1ª ed. Editorial Kier. pp 359-406.
8. Morfin LL: Tratamiento homeopático del síndrome ascítico.- Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, Departamento de Ciencias Pecuarias División de Ciencias Agropecuarias. Volumen 64 Nov Dic. 1995 No 579 pp20 -25.
9. González A L: "Enfermedades Comunes de las Aves en Explotación Intensiva" Apuntes para los cursos de Clínica de Aves y Medicina y Zootecnia de Aves 1, 2011. UABJO-EMVZ PP 3-6 y 62-73.
10. Consejo Norteamericano de Granos Forrajeros: Manual del Productor para el control del Síndrome Ascìtico II. Ed Grupo Editorial Códice SA de CV. 1989.
11. Muñoz R del CR: "Efecto comparativo de *Calcarea, Silicea terra* y Avepareina como promotores del crecimiento en pollos de engorda". Vol. 64, No 575 Universidad de Guadalajara. XVI Congreso Nacional de Medicina Homeopática, San Miguel de Allende, Guanajuato. Gto., julio de 1994 pp 18- 25.

Regresar a lista de contenidos

EVALUACION DE PARAMETROS PRODUCTIVOS EN POLLO DE ENGORDA EN FUNCIÓN DE LA INTEGRIDAD INTESTINAL E INMUNIDAD EN EL APARATO DIGESTIVO

José Ortega Sánchez de Tagle, Ariel Ortiz Muñiz, y Miguel Ángel Carmona Medero
Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, UNAM.
unamfescjosdt@hotmail.com, arielm@unam.mx

Resumen
En el presente trabajo se revisan los mecanismos de defensa, especialmente aquellos relacionados con la respuesta inmune específica. También se abordan las alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento (APC), entre, las que encontramos el uso de protectores de la integridad intestinal, como los promotores ionizantes (PI) de uso discontinuo, cuyos efectos benéficos sobre la productividad y salud animal han sido demostrados. Se presentan y analizan los resultados de un experimento de campo con un producto de este tipo.

Introducción
Las modernas técnicas de producción y alimentación del pollo de engorda requieren el uso constante de aditivos, coccidiostatos y promotores de crecimiento que controlen la disbacteriosis y sinergia entero patógena que afecta parámetros productivos como ganancia de peso e índice de conversión alimenticia, además de la pigmentación que nos sirve como herramienta de carácter no arancelario basado en los usos y costumbres de este país. Dado que el costo del alimento, representa aproximadamente el 70 % de los costos totales en la producción de carne de pollo, es razonable considerar que el futuro de la industria de pollo de engorda dependerá de la integridad y funcionalidad de 60 cms. de intestino de las aves con productos que sean económicos, eficientes, amigables con el medio ambiente, y controlando la flora entero patógena, sin crear resistencia y a precios económicos.

La preocupación mundial por la presencia de resistencia bacteriana y la consecuente prohibición del uso de antibióticos en la alimentación animal llevarán a la búsqueda de protectores de la integridad intestinal con mecanismo de acción natural que puedan sustituir a los antibióticos promotores de crecimiento (APC) en la producción avícola. Entre estas alternativas está el uso de protectores de la integridad intestinal de uso discontinuo, cuyos efectos benéficos sobre la productividad y salud animal han sido comprobados a través de investigaciones científicas realizadas en diferentes países.

El aparato digestivo por su naturaleza misma está en permanente contacto con agentes y sustancias del medio externo. Además de cumplir con la función de procesamiento, selección y absorción de nutrientes, el sistema digestivo debe evitar que agentes o sustancias extraños logren incorporarse en el organismo.

El ambiente del aparato digestivo es en general hostil para la mayoría de los agentes infecciosos. Sin embargo, algunos microorganismos han logrado adaptarse y el sistema

digestivo les resulta favorable. Estas circunstancias lo convierten en una de las más probables puertas de entrada y desafío por parte de muchos agentes infecciosos tanto primarios como secundarios. Esta presentación esta dirigida a revisar los mecanismos de defensa, especialmente aquellos específicos, relacionados con el sistema inmune. Sin embargo, no podemos dejar de mencionar las defensas inespecíficas, ya que los mecanismos como los no específicos son interdependientes y actúan en forma sinérgica.
Algunos mecanismos de protección que no son específicos están directamente relacionados con la estructura básica y el funcionamiento mismos del sistema digestivo. Otros mecanismos de defensa más especializados y específicos dependen más del sistema inmune adaptativo del ave.

Mecanismos inespecíficos
Están relacionados con la estructura y funcionamiento propios del aparato digestivo. Algunos de estos mecanismos son:
Barreras físicas: Están representados por la estructura misma del tubo digestivo, la presencia de moco y la motilidad permanente.
Condiciones fisicoquímicas: La función digestiva requiere de la presencia de condiciones diversas y cambios a veces bruscos. El pH del medio digestivo cambia desde condiciones extremas de acidez en el proventrículo, hasta alcalinidad en el duodeno.
Las presencia de agentes tensoactivos (en la bilis) y de enzimas diversas hacen del medio ambiente del aparato digestivo un sitio difícil para muchos de los agentes infecciosos.
El medio digestivo no es estéril, por el contrario en un animal sano, la presencia de una flora bacteriana equilibrada es un factor muy eficaz en mantener alejados a muchos agentes infecciosos. Si un antígeno sobrevive la degradación físico-química en el lumen intestinal, todavía debe sobrepasar otras barreras. El peristaltismo mantiene los antígenos en movimiento, disminuyendo el tiempo de contacto y posible adhesión al epitelio. La presencia de una capa de moco secretada en el epitelio representa otra barrera que impide el contacto y la adhesión. El moco contiene además moléculas de glicoproteínas semejantes a las de la membrana epitelial que pueden "engañar" a las bacterias para que se adhieran en falso. La película de moco además sirve como una estructura física para mantener las Inmunoglobulinas A (IgA) cerca del epitelio.

Alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento (APC)
La preocupación mundial por la presencia de resistencia bacteriana y la consecuente prohibición del uso de APCs en la alimentación animal llevarán a la búsqueda de protectores de la integridad intestinal de mecanismo de acción natural que puedan sustituir los antibióticos en la producción de aves en todo el mundo.

Entre estas alternativas para los APC, está el uso de protectores de la integridad intestinal, como los promotores ionizantes (PI) de uso discontinuo, cuyos efectos benéficos sobre la productividad y salud animal han sido comprobados a través de investigaciones científicas realizadas en diferentes países.

Material y métodos

Se evaluó un P.I., en 60,000 aves de engorda tratadas Vs 60,000 no tratadas en condiciones simétricas para ambos lotes en una granja comercial con buenos controles y condiciones de bioseguridad de 200,000 aves de engorda en el Estado de Jalisco, México. Se utilizó pollo de incubadora propia y alimento elaborado por la misma empresa en cuatro fases, con cálculo de energía metabolizable similares al experimento de la primera etapa.Temperatura promedio exterior mínima 1 /máxima 29 grados centígrados en noviembre-diciembre 2010. Seis casetas de 10,000 aves cada una Vs Seis casetas de 10,000 aves no tratadas. Dos tratamiento, vía agua de bebida, tratamiento No 1, Tres días tratamiento con P.I/. día 21,22,23 edad-Tratamiento No 2 tres días edad 34,35,36 días de edad con la dosis óptima obtenida en la fase uno de este trabajo.

Resultados

Resultados del experimento en la etapa en la etapa industrial.

Los parámetros productivos de las aves en la etapa industrial demuestran que los resultados con P.I. fueron estadísticamente mejores (Cuadros No 1 No 2, No 3 ,No 4)

El costo por tratamiento en el agua de bebida se redujo a "costo cero" es decir los beneficios superaron a el costo de los tratamientos con promotores de uso discontinuo ionizantes.

El peso promedio por ave en los lotes que recibieron el tratamiento, supera de manera estadísticamente significativa ($p<0.05$) al grupo control incrementándose el peso promedio por ave en 3 %, lo cual representaría una ganancia de 805 Kg más por caseta de 10000 aves.

b) No hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) de que el peso promedio por ave sea diferente en los grupos que recibieron T 0.50 ó T 0.25

c) No hay diferencia estadísticamente significativa ($p>0.05$) de que el índice de conversión con mortalidad sea diferente en los grupos que recibieron T 0.50 ó T 0.25 respecto al grupo testigo.

d) El nivel de pigmentación no mostró diferencia entre los seis grupos experimentales

El comportamiento promedio en cada variable, es mejor en el grupo de aves tratadas.

El promedio de viabilidad por caseta fue mayor en el grupo de aves tratadas. ($p<0.05$) Aumentó 2.74% comparada con el testigo.

El promedio de mortalidad fue menor en el grupo de aves tratadas. ($p<0.05$) Disminuyó 2.8% respecto al testigo.

El consumo de alimento estadísticamente ($p>0.05$) fue igual en ambos grupos

El Peso total por caseta fue mayor en el grupo de aves tratadas. ($p<0.05$) Se obtuvieron 940.771 Kg más por caseta.

El peso promedio por ave estadísticamente ($p>0\text{-}05$) fue igual en ambos grupos.

La conversión sin mortalidad fue menor en el grupo tratado. ($p<0.05$) (1.847 vs 1.924).

La conversión con mortalidad fue también menor en el grupo tratado. ($p<0.05$) (1.973 vs 2.052).

Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren mejora en parámetros productivos, mortalidad, ganancia de peso, índice de conversión alimenticia, y pigmentación en piel con la utilización del P.I

La velocidad de crecimiento y conversión alimenticia de las aves de engorda del futuro en base a dietas de alta energía será la integridad intestinal y será el factor más crítico, a resolver en función de diferentes opciones de mejoradores de la función intestinal.

Es importante explorar nuevas formas de tratamiento y prevención en base a mejorar el programa de reducción de patógenos y la sinergia que se establece entre la micro flora entero patógena y la asociada.

Los tratamientos en base a mecanismos ionizantes son una opción adicional y parece razonable utilizar esta estrategia en función de los beneficios demostrados en este trabajo y una opción más para mejorar la producción avícola.

Se requiere más información de los promotores ionizantes sobre su evaluación microscópica en la integridad intestinal en términos de calidad de las vellosidades intestinales, así como el comportamiento comparados con otros tratamientos preventivos y la evaluación de su efecto en la microflora asociada.

REFERENCIAS

1 Aho, Paul.(1977).Situación Actual y Perspectivas de la Avicultura Mundial y La Producción de Granos. Memorias ANECA 1997 México
2 Alonso, P.F.(1977). Perspectivas de la Avicultura Nacional ante las fuertes asimetrías a favor de la Avicultura Estadounidense
3 Amerah, A.M., V. Ravindran, R.G. Lentle and D.G. Thomas. (2007). Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. World's Poultry Science Journal. 63: 439-455
4 Havenstein, G.B., P.R. Ferkel, S.E. Scheideler and D.V. Rives (1994b) Carcass composition, and yield of 1991 vs 1957 broilers when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. Poultry Science 73:1795-1804.
5 Jin, S.H., A. Corless and J.L. Sell (1998) Digestive system development in post hatch poultry. World Poultry Science Journal 54:335-345.
6 Langhout, D.J. (1998) The role of the intestinal flora as affected by non-starch polysaccharides in broiler chicks. Ph.D. thesis, Agricultural University Wageningen, the Netherlands.
7 Leeson, S. (2008) Predictions for commercial poultry nutrition. Journal of Applied Poultry Research 17:315-322.
8 Lott, B.D. (1989) The effect of corn particle size on water consumption and broiler performance. Ph.D. dissertation, Mississippi State University, Mississippi State, MS.
9 Smulders, A.C.J.M., A. Veldman and H. Enting (1999) Effect of anti-microbial growth promoter in feeds with different levels of undigestible protein on broiler performance. Proceedings 12th European Symposium on Poultry Nutrition: 177-182.
10 Wijtten, P.J.A., R. Prak, A. Lemme and D.J. Langhout (2003) Effect of different dietary ideal protein levels on broiler performance. *British Poultry Science*
11 Wijtten, P.J.A., A. Lemme and D.J. Langhout (2004) Effects of Different Dietary Ideal Protein Levels on Male and Female Broiler Performance During Different Phases of Life: Single Phase Effects, Carry-Over-Effects, and Interactions Between Phases. *Poultry Science*
12 Williams, R.B. 2005. Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. Avian Pathology. Volumen 34, número 3, páginas 159 a/ 180.
13 WEB http://apps.fao.org/faostat Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de Carne de Pollo
14 www.siap.sagarpa.gob.mx Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP, SIACON, SAGARPA. Consulta de Indicadores de Producción Nacional y Márgenes de Comercialización de Carne de Pollo

ANEXOS

CUADRO 1

PESO PROMEDIO AVE RESUMEN

TRATAMIENTO	LOTE 1	LOTE 4	TOTAL PESO
O PPM	2.645	2.721	5.366
TRATAMIENTO	LOTE 2	LOTE 5	
0.25 PPM	2.712	2.788	5.500
TRATAMIENTO	LOTE 3	LOTE 6	0
0.50 PPM	2.751	2.803	5.554

CUADRO 2

PESO PROMEDIO POR AVE.					
Análisis de varianza correspondiente a un diseño en bloques al azar.					
RESUMEN	*Cuenta*	*Suma*	*Promedio*	*Varianza*	
T0.50	2	5.554	2.777	0.0014	a
T0.25	2	5.500	2.750	0.0029	a
T0	2	5.366	2.683	0.0029	b
B1	3	8.108	2.703	0.0029	
B2	3	8.312	2.771	0.0019	

CUADRO 3

CONVERSION PROMEDIO AVE RESUMEN			
TRATAMIENTO	LOTE 1	LOTE 4	TOTAL PESO
O PPM	2.284	1.938	2.111
TRATAMIENTO	LOTE 2	LOTE 5	
0.25 PPM	1.924	2.054	1.989
TRATAMIENTO	LOTE 3	LOTE 6	
0.50 PPM	1.888	1.764	1.826

.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO EN EL DESEMPEÑO DE GALLINAS PONEDORAS CON DIETAS ADICIONADAS CON ENZIMA XILANASA

Gomes GA[1], Rubio JV[1], Santos TT[1], Abarca KG[2], Souza KMR[1], Faria DE[1]*
[1]AB Vista Feed Ingredients, y [2]Tryadd SA de CV

Resumen
Las xilanasas son enzimas utilizadas en la nutrición de monogástricos para potencializar la digestión de polisacáridos contenidos en el interior de las células vegetales y que no son accessibles al "ataque" de las secreciones endógenas debido a la falta de capacidad de las aves y de los cerdos en romper las paredes celulares vegetales.
El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño y los parámetros de digestibilidad de gallinas ponedoras Hy-Line variedad W36 de 40 a 80 semanas de edad sometidas a dietas con xilanasa.
Las aves alimentadas con xilanasa tuvieron una mejor producción de huevos, masa de huevo y conversión alimenticia (P <0,05) en comparación con las aves sometidas a un tratamiento de control negativo. Los resultados del estudio de digestibilidad mostraron una mejoría en la digestibilidad de la proteína bruta, EMAn y de la retención de nitrógeno (P <0,05) de las aves que recibieron la xilanasa en la dieta, en comparación con las aves alimentadas con la dieta control negativo. La suplementación con la enzima xilanasa puede reducir el nível de energía metabolizable de la dieta para las gallinas ponedoras, en el período de 40 a 80 semanas de edad, sin modificar los resultados zootécnicos.
Palabras clave: enzimas, xilanasa, polisacáridos no amiláceos, digestibilidad, energía.

Introducción

El grupo de enzimas denominado genericamente "enzimas para polisacárídos no-amílaceos" (siglas em inglês NSP¨s) están siendo incorporadas gradualmente en formulaciones, las cuales son incluídas como produtos enzimáticos aislados (xilanasas, glucanasas, etc..) ó mezcladas con otras enzimas. Las xilanasas son enzimas utilizadas en la nutrición de monogástricos para potencializar la digestión de polisacárídos contenidos en el interior de las células vegetales y que no son accessíbles al "ataque" de las secreciones endógenas debido a la falta de capacidad de las aves y de los cerdos en romper las paredes celulares vegetales. La utilización de enzimas como aditivos en la formulación de raciones para gallinas ponedoras comerciales, posibilita a que las aves aumenten la liberación de nutrientes presentes en los ingredientes de la dieta, reduciendo así la necesidad de aporte de ingredientes que generan un alto costo por su inclusión en la formulación, como por ejemplo, el aceite de soya. De esta forma, la inclusión de enzimas en la ración para gallinas ponedoras posibilitaría reducir el costo de producción, a través de la reducción del costo de las raciones ofrecida a los animales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño y los parámetros de digestibilidad de gallinas ponedoras en el periodo de 40 a 80 semanas de edad sometidas a dietas con xilanasa.

Material y Métodos

Fueron utilizadas 240 gallinas ponedoras Hy-line variedad W36 de 40 a 80 semanas de edad, alojadas en jaulas metálicas de comedero frontal externo y bebederos con niple. Las aves fueron distribuídas al azar con las que se realizaron 3 tratamientos con 10 repeticiones de ocho aves cada uno. Los tratamientos fueron: control positivo (dieta balanceada de acuerdo a la edad); control negativo (dieta con reducción de 100 kcal/kg en la EM); control negativo+enzima. Las dietas en harina a base de maíz y pasta de soya fueron formuladas para satisfacer las necesidades nutricionales recomendadas por Rostagno *et al.* (2005), excepto para el nível de energia de las dietas de los dos tratamientos de control negativo (con o sin la inclusión de enzima). El agua fue ofrecida *ad libitum*, la cantidad de alimento ofrecida fue limitada a 95 g/ave/dia. La enzima xilanasa (ECONASE® XT 25) fue adicionada a las dietas en una cantidad de 75 g/ton, siendo equivalente a una actividad enzimática de 12.000 BXU/Kg. Las aves fueron mantenidas en un régimen de luz de 16 h 30 min durante todo período experimental. Cada cuatro semanas las aves y los resíduos de la dietas fueron pesadas a fín de obtener valores para peso corporal, ganancia de peso y consumo voluntario. La cantidad de huevos producidos fue registrada diariamente. En los dos últimos dias de cada período de evaluación, se recogieron 4 huevos por repetición al azar, identificándolos y pesándolos. La masa de huevos se calculó multiplicando el porcentaje de la producción de huevos por peso de los huevos. La alimentación se obtuvo por la relación entre el consumo de alimento / ave / día y la masa de huevos. A las 60 semanas de edad de las aves, 2 gallinas de cada repetición fueron seleccionadas por el peso medio de repetición, y luego se utilizaron para el ensayo de digestibilidad, totalizando 20 aves por tratamiento. Se llevó a cabo la recolección total de las excretas. Las raciones fueron pesadas antes y después de los periodos de recolección para la determinación de la ingesta de alimento y marcadas con óxido de hierro para determinar el comienzo y el final del muestreo. Durante el período de recolección, las excretas fueron recolectadas dos veces al día. Se determinaron los valores metabolizables de las proteínas, grasas y energía de la dieta, el balance de nitrógeno y la energía metabolizable aparente corregida por la retención de nitrógeno (EMA n). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza con la ayuda del programa estadístico SAS y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados y Discusión

No hubo diferencias ($P > 0,05$) entre los tratamientos para el peso corporal al inicio y al final del experimento, ni para los coeficientes de digestibilidad de la grasa y la energia (Cuadro 1). Las aves alimentadas con xilanasa tuvieron una mejor producción de huevos, masa de huevo y conversión alimenticia ($P < 0,05$) en comparación con las aves sometidas a un tratamiento de control negativo. Lázaro *et al.* (2003) observaron una mejor conversión de alimento ($P < 0,05$) en gallinas ponedoras con la suplementación de enzimas (xilanasa + β-glucanasa) en el período de 20 a 44 semanas de edad, independientemente del tipo de dieta ofrecida (a base de trigo, centeno o cebada). Sin embargo, Novak *et al*. (2008) no encontró diferencias ($P > 0,05$) entre los tratamientos de consumo de alimento, ganancia de peso y producción de huevos de las gallinas ponedoras sometidas a dietas con una reducción del 3% de la energía metabolizable y la inclusión del complejo enzimático (amilasa + xilanasa + proteasa) en relación a la dieta sin la adición de enzimas. Sin embargo, estos autores informaron que la adición de las enzimas ha reducido el peso y la masa de huevo de gallinas ponedoras de edades comprendidas entre 39 y 50 semanas.

Los resultados del estudio de digestibilidad mostraron una mejoría en la digestibilidad de la proteína bruta, EMAn y de la retención de nitrógeno (P <0,05) de las aves que recibieron la xilanasa en la dieta, en comparación con las aves alimentadas con la dieta control negativo (Cuadro 1). Novak *et al.* (2008) encontraron que la interacción entre los factores de la suplementación de la enzima y el nivel de energía de la dieta resultaron en diferencias en el porcentaje de retención de energía a las 38 semanas de edad. Los mismos autores también informaron que las gallinas sometidas a dietas con niveles de energía recomendados para su edad y la suplementación de enzimas (amilasa + proteasa + xilanasa) mostraron una reducción en el porcentaje de retención de la proteína a la edad de 38 semanas.

Cuadro 1 - Valores promedio para las variables de desempeño y digestibilidad de gallinas ponedoras sometidas a dietas conteniendo xilanasa en un período de 40 a 80 semanas

	Control Positivo	Control Negativo	CN+xilanasa
	Parámetros de Desempeño		
Peso inicial a las 40 semanas (g)	1546	1534	1517
Producción de huevo (%)	83.6[a]	80.3[b]	84.2[a]
Peso de huevo (g)	64.6[a]	64.2[ab]	63.6[b]
Masa de huevo (g/dia)	54.0[a]	51.5[b]	53.1[a]
Conversión Alimenticia (g/g)	1.77[b]	1.86[a]	1.80[b]
Peso final a las 80 semanas (g)	1626	1562	1570
	Ensayo de digestibilidad a las 60 semanas		
Dig. de Proteína Bruta (%)	57.2[a]	50.1[b]	56.3[a]
Dig. de Grasa (%)	90.4	92.2	91.4
Dig. de Energía Bruta (%)	82.8	81.2	83.0
EMAn (kcal/kg)	3222[a]	2972[c]	3043[b]
Retenção de Nitrogeno (g N/dia)	2.70[a]	2.01[b]	2.65[a]

[a-b] P<0.05

Conclusiones

La suplementación con la enzima xilanasa puede reducir el nível de energía metabolizable de la dieta para las gallinas ponedoras, en el período de 40 a 80 semanas de edad, sin modificar los resultados zootécnicos.

Implicaciones. El uso de estrategias para mejorar la digestibilidad de los nutrientes de la dieta es beneficioso no sólo en el sentido económico, sino también para reducir la contaminación producida por los residuos. En este sentido, el uso de la xilanasa en las dietas de gallinas ha demostrado ser muy eficaz.

Referencias.

1. Lazaro R *et al.* 2003. British Poultry Science, 44:256-265;
2. Novak CL*et al.* 2008. JournalofAppliedPoultryResearch, 17:17-33;
3. RostagnoHS *et al.*2005. Tabelas brasileiras de alimentos e exigências nutricionais deaves e suínos. 2.ed. Viçosa: UFV, p.146.

Regresar a lista de contenidos

DESEMPEÑO DE UN ADITIVO ALIMENTICIO NUTRACÉUTICO TOTALMENTE NATURAL VS. 3-NITRO EN POLLO DE ENGORDA

Reuben Walker*[1], Ruben Bustos[2] y Javier Delgado[2]
[1]Performance Plus International Inc. y [2]Tryadd SA de CV.
ReubenDWalker@aol.com

RESUMEN
Optima 115 es un aditivo alimenticio 100% NATURAL que mejora el desempeño productivo en pollo de engorda a través del complejo interactivo de metionina, cisteína, colina y ácido fólico. Una serie de cinco (5) evaluaciones experimentales controladas en pollo de engorda fueron documentadas obteniendo en promedio una mejora de + 38 gramos y una mejora en la conversión alimenticia estandarizada (igual al peso final del grupo control) en promedio de -3.4 puntos. El nivel de respuesta en desempeño aparentemente se relaciona al nivel de consumo de metionina, cisteína y colina de las aves. Optima 115 adicionado en una dosis de 500 gramos por tonelada de alimento fue comparada con 3-Nitro en dosis de 50 gramos por tonelada de alimento durante las fases de iniciación y crecimiento (29 días). La eliminación de 3-Nitro de la dieta del grupo control basal positivo redujo la ganancia de peso a los 42 días en -156 gramos, incrementó la conversión alimenticia estandarizada en +7.3 puntos Optima 115 incrementó el peso vivo a los 42 días en +94 gramos y mejoró la conversión alimenticia estandarizada en -4.9 puntos al ser comparado con la dieta del control negativo. Optima 115 reemplazó el 67% el desempeño perdido por la eliminación del 3-Nitro.
Palabras clave: alimento funcional, metionina, cisteína, colina, ácido fólico.

INTRODUCIÓN
Optima 115 es un aditivo alimenticio patentado 100% NATURAL producido a partir de semillas de *Trigonella foenum graceum L*., una leguminosa la cual es cultivada anualmente como especia en la parte mediterránea de Europa y Asia. En Europa y América del Norte la *Trigonella foenum graceum L* es utilizada como un agente aromatizante en los sabores maple, vainilla, ron y caramelo. La *Trigonella foenum graceum L* se encuentra clasificada por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) y la Asociación Americana de Oficiales de Control Alimenticio (AAFCO por sus siglas en inglés) como Reconocido Generalmente como Seguro (GRAS por sus siglas en inglés) tanto para consumo humano como consumo animal. La *Trigonella foenum graceum L* es un aditivo alimenticio que se encuentra aprobado tanto en Canadá como en Europa. En México, SAGARPA ha aprobado el uso de Optima 115.

Diverso trabajos experimentales utilizando Optima 115 en pollos de engorda han demostrado una mejoría estadísticamente significativa en la ganancia de peso, conversión alimenticia, conversión alimenticia estandarizada y disminución en la mortalidad. Cuando tanto el aumento de peso como la conversión alimenticia se ven afectadas por un aditivo alimenticio, la tasa de conversión alimenticia posee una base biológica que debe ser considerada para evaluar el verdadero efecto del aditivo. Las aves de mayor tamaño poseen requerimientos de mantenimiento más elevados debido a su tamaño corporal, y por lo tanto son menos eficaces al momento de realizar la conversión alimenticia que un ave de menor peso. En base a las curvas de crecimiento de varios miles de pollos de engorda, Pesti y Rodgers (2008) de la Universidad de Georgia desarrollaron una ecuación matemática para estandarizar las tasas de conversión alimenticia de los pollos en igualdad de peso final, proporcionando una evaluación imparcial de los efectos de un aditivo alimenticio en la conversión alimenticia de los pollos.

La revista World Poultry (2011, No. 10, vol. 27, pp 6-9) publicó datos sobre el costo actual de producción de pollos de engorda, encontrando que la alimentación representa el 71.6% del total de la producción. Es por esto que la tasa de conversión alimenticia estandarizada es la medida más importante en la evaluación de los beneficios de un aditivo en la alimentación de pollos de engorda.

Los efectos de Optima 115 en la tasa de conversión alimenticia estandarizada en cinco (5) diseños experimentales con pollos de engorda son presentados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Efectos de Optima 115 en las tasa de conversión alimenticia estandarizada.

Diseño #	Control	Optima 115	Puntos de diferencia
1	1.823	1.772	- 5.14
2	1.840	1.799	- 4.08
3	1.741	1.711	- 3.00
4	1.752	1.725	- 2.70
5	1.863	1.814	- 4.87
Promedio	1.804	1.764	- 3.96

Óptima 115 mejoró la tasa de conversión alimenticia estandarizada en un promedio de -3.96 puntos. El nivel de respuesta de Optima 115 puede variar dependiendo del potencial genético de las aves, la tasa de crecimiento promedio y la composición de la dieta.

La forma de actuar de Optima 115 está relacionada con el complejo nutricional interactivo de metionina, cistina, colina y ácido fólico. Una regresión lineal del consumo total en gramos de metionina, cisteína y colina contra la ganancia de peso de aves alimentadas con una dieta control y una con Optima 115, mostró que las aves alimentadas con Optima 115 tuvieron una mayor ganancia de peso por gramo consumido de metionina, cisteína y colina que las aves alimentadas con la dieta control. Las pendientes de estas ecuaciones de regresión lineal son

las mismas tanto para las aves alimentadas con Optima 115 que para las aves alimentadas con la dieta control, lo que indica la utilización metabólica o celular de la metionina, cisteína y colina no se ve alterada por Optima 115. Si la utilización metabólica o celular de metionina, cisteína y colina no se altera, y las aves alimentadas con Optima 115 presentaron una mayor ganancia de peso por unidad de consumo de metionina, cisteína y colina, podemos inferir que las aves alimentadas con Optima 115 absorben mayor cantidad de metionina, cisteína y colina de la dieta que las aves que consumieron la dieta control. Entender el mecanismo exacto por el cual Optima 115 incrementa la absorción (digestibilidad) de la metionina, cisteína y colina requiere una investigación adicional.

El compuesto 4-Hidroxi-3-nitrobenzoato ácido, comúnmente llamado 3-Nitro, es un compuesto organoarsénico reportado por primera vez en 1923 en una patente británica. Este compuesto ha sido utilizado ampliamente en la industria del pollo de engorda como promotor de crecimiento, coccidiostato y para mejorar la pigmentación. Diversos reportes han cuestionado del uso del 3-Nitro ya que lo consideran como una fuente de contaminación con arsénico al alimento que será consumido por lo humanos. El 8 de junio del 2011, la FDA dio al fabricante del 3-Nitro 30 días para retirar el producto del mercado. En Canadá, México y otros países, se han tomado medidas similares para restringir la venta del 3-Nitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 750 pollos machos de un día de edad de la estirpe CobbXCobb fueron asignados al azar en 15 corrales con 50 pollos cada uno. Se realizaron tres tratamientos con cinco replicaciones cada uno, dispuestos en cinco bloques de tres corrales. Todas las aves recibieron el programa de inmunización de rutina en la incubadora. La superficie de suelo fue de 0.08 m^2 por ave. El agua y el alimento fueron ofrecidos *ad libitum* durante todo el estudio.

Las dietas experimentales fueron las mismas que las dietas basales, excepto por la adición de Optima 115 (500 g/MTon) y 3-Nitro (45.4 g/ton). Las dietas basales y los días de alimentación de cada una de las fases están acorde al programa de alimentación comercial de un productor de pollos.

Cuadro 2. Dieta basal ofrecida a las aves

Ingrediente	Iniciador	Crecimiento	Finalizador
Maíz	58.29	65.12	71.19
Pasta de soya	32.67	25.51	20.36
DDGS demaíz	2.50	2.50	2.50
Grasa	1.04	1.16	1.42
Ampro 55	2.50	3.75	2.50
Fosfato dicálcico	0.69	0.32	0.41
Carbonato de calcio	0.95	0.65	0.82
Sal	0.36	0.41	0.41
Minerales traza	0.075	0.075	0.04
Colina 60	0.066	0.084	0.05
DL Metionina	0.31	0.18	0.13
Lisina 78	0.18	0.06	0.07
Treonina 98.5%	0.07	0.0125	0
Lysoforte	0.05	0	0
Salinomicina 60	0.05	0.05	0
Bacitracina 50	0.05	0.05	0
Vitaminas	0.05	0.05	0.025
PC-T Fitasa	0.0185	0.0185	0.0185
Hemicell	0.0125	0.0125	0.0125
Virginamicina 20	0.0	0	0.05
Sulfato de cobre	0.05	0	0
Total, %	100.00	100.00	100.00
Análisis Calculado			
ME, kcal/lb	1400	1445	1475
Proteína Cruda, %	22.5	20.00	17.25
P, disponible	0.43	0.41	0.37
Lisina, %	1.35	1.09	0.92
Met + Cis, %	1.003	0.820	0.695

Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN DE LA SEGURIDAD CON DOBLE DOSIS DE UNA VACUNA EMULSIONADA CON LOS SEROTIPOS A, B Y C DE *Avibacterium paragallinarum*, EN AVES LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS POR VIA SUBCUTÁNEA EN CUELLO Y VIA INTRAMUSCULAR PIERNA Y MÚSCULO PECTORAL

Julio Cesar Franco Garcia; Nadia Romero Gallegos, José Francisco Robles González, Carlos González Hernández
Boehringer Ingelheim Vetmedica S.A. de C.V
Julio.franco.ext@boehringer-ingelheim.com

Resumen
El objetivo fue demostrar que una sola vacunación a doble dosis de una vacuna emulsionada de AC es segura al administrarse a pollos de 4 semanas, esto por 3 distintas vías de vacunación. Este estudio clínico fue realizado en unidades de aislamiento de acuerdo a las regulaciones internacionales. Después de la vacunación los pollos fueron observados diariamente durante 14 días registrando mortalidad, signos clínicos, lesiones en el sitio de aplicación tanto macro como microscópicas así como el grado de absorción de la vacuna, todos los datos fueron comparados contra un grupo placebo. Con base a los resultados registrados se puede concluir que el producto no induce reacciones sistémicas, solo en un pollo fueron observadas algunas alteraciones menores en el sitio de aplicación tanto macroscópicamente como microscópicamente (en la vía subcutánea). En todos los parámetros usados para evaluar el estado general de salud (parámetro primario) posterior a la vacunación no se encontró diferencia estadística entre el grupo vacunado y el grupo placebo. Por lo tanto, la vacuna puede ser considerada como segura en lo que respecta a la condición general del estado de salud, la presencia de reacciones locales y la presencia de lesiones en el sitio de aplicación, aplicada a 4 semanas de edad.

Abstract
The objective was to show that a single vaccination with double doses of emulsified vaccine of AC, is safe when the administered is for chickens of 4 weeks of age through 3 different routes of immunization (subcutaneously in the posterior third of the neck, deep intramuscular in the pectoral muscle and in the leg). This clinical study was conducted in isolation units according to international regulations. After vaccination the chicks, were observed daily for 14 days to record mortality, clinical signs, lesions on the application site (macro and microscopic), extent of absorption of the vaccine. All data were compared against a placebo group. Based on the results reported it can be concluded that the product does not induce systemic reactions, only in one chicken some minor alterations were observed at the site of application like macroscopically and

microscopically (in the subcutaneous). The Primary parameter was the general state of health and in all measures used to assess the general state of health, after vaccination; there were no statistical difference between the vaccine group and the placebo group. Therefore, the vaccine can be considered safe with respect to the general condition of health status, in chickens of 4 weeks of age, and the absence of lesions in the site of application.
Palabras Clave: seguridad, vacuna, Coriza aviar, subcutánea, intramuscular.

Introducción

Las infecciones causadas por *Avibacterium paragallinarum* (antes denominada *Haemophilus paragallinarum)* en pollos son de distribución mundial y son causa importante de pérdidas económicas en la industria avícola, sobre todo al disminuir la producción de huevo. *A. paragallinarum* infecta al pollo por vía respiratoria y luego de un corto periodo de incubación, que varía entre 1 a 3 días, produce una enfermedad que se manifiesta por inflamación catarral de los senos paranasales. En la Coriza clásica no complicada las lesiones generalmente quedan confinadas al tracto respiratorio superior. La sinusitis puede estar asociada a inflamación de barbillas, conjuntivitis o queratitis. Debido a la resistencia de antibióticos se recomienda en zonas endémicas el control de la enfermedad con el uso de vacunas (Terzolo, H. R., 2000).

Dentro de las prácticas que se han descrito como auxiliares para lograr reducir las pérdidas que coriza ocasiona a las parvadas se encuentran la bioseguridad, medicación, y vacunación; siendo esta última el mejor método para prevenir la afectación de las parvadas no por detener la infección, sino por disminuir la presencia de signos clínicos y reducir dramáticamente la excreción y dispersión de la bacteria. De acuerdo al VICH (Target Animal Safety For Veterinary Live And Inactivated Vaccines) en el desarrollo de las vacunas inactivadas se deben de demostrar que el producto sea seguro y no cause alguna reacción adversa atribuible a su administración. Es importante señalar que en la actual regulación de la 9CFR (Código Federal de Regulaciones 9) y en la farmacopea europea veterinaria no existe nada establecido para vacunas contra este microorganismo, por lo que se usará como base lo establecido como generalidad para la producción de bacterinas inactivadas.

Por lo tanto, este estudio pretende demostrar la seguridad con doble dosis de la vacuna emulsionada de AC ya que es un requisito indispensable de acuerdo a las regulaciones internacionales. El objetivo del estudio fue demostrar la seguridad de acuerdo a las regulaciones internacionales de esta vacuna emulsionada de AC por vía subcutánea e intramuscular a doble dosis (1 X 1 ml) en pollos libres de patógenos específicos de 4 semanas de edad.

Materiales y Métodos

Este fue un estudio clínico en pollos libres de patógenos específicos (SPF) de 4 semanas de edad. El estudio se condujo bajo condiciones controladas de laboratorio (siguiendo los

lineamientos de las buenas prácticas de laboratorio- GLP), con diseño aleatorio y ciego para demostrar la seguridad de la vacuna emulsionada de AC, se tuvo además un grupo Placebo como control.

Los pollos son la especie blanco para la vacunación con estos productos, el volumen de dosis recomendado es de 0.5 ml pero en este estudio de seguridad se evaluó el uso de la doble dosis (1.0 ml por pollo). En cada estudio se incluyeron 24 pollos en total los cuales se dividieron en 2 grupos (12 pollos por grupo experimental) esto, para evaluar cada una de las vías de vacunación, los pollos fueron alojados en 3 Unidades de Aislamiento de tal manera que cada Unidad de Aislamiento contenía 4 pollos correspondientes a cada grupo: un grupo fue vacunado con 1 ml de la vacuna Emulsionada contra AC (PIV). Además, se contó con un segundo grupo (placebo) al cual se le administró 1 ml de solución salina estéril. (Ver diseño experimental cuadro 1) Esto para la evaluación de cada una de las vías de administración Subcutánea, Intramuscular en pechuga e intramuscular pierna.

Las vías de administración del PIV y el placebo fueron:
-Subcutánea en el tercio medio posterior del cuello
-Intramuscular profunda en el musculo pectoral (pechuga)
-Intramuscular en la parte posterior de la pierna.

Cuadro 1: Resumen del diseño experimental

<table>
<tr><th>Grupo</th><th>No. de pollos</th><th>Edad de Vacunación</th><th>PIV</th><th>Dosis</th><th>Vía de administración</th></tr>
<tr><td>1</td><td rowspan="6">12</td><td rowspan="6">4 semanas</td><td rowspan="3">Vacuna emulsionada formulada con los serotipos A, B, C contra AC</td><td rowspan="6">1 ml</td><td>Subcutáneo cuello</td></tr>
<tr><td>2</td><td>Intramuscular pechuga</td></tr>
<tr><td>3</td><td>Intramuscular Pierna</td></tr>
<tr><td>4</td><td rowspan="3">Solución salina estéril</td><td>Subcutáneo cuello</td></tr>
<tr><td>5</td><td>Intramuscular pechuga</td></tr>
<tr><td>6</td><td>Intramuscular Pierna</td></tr>
</table>

Para asegurar que el estudio fuera ciego, la persona que aplicó el PIV y el placebo no fue la misma persona responsable de la observación clínica.

Después de la vacunación, los pollos fueron observados diariamente durante 14 días (el día 0 a la hora y a las cuatro horas; posteriormente cada 24 horas) registrando mortalidad y signos clínicos y lesiones en el sitio de aplicación. Después de la eutanasia se realizó la necropsia y evaluación del sitio de aplicación de la vacuna de una manera más profunda y así determinar si

existió daño en el sitio de aplicación. En caso de encontrar lesiones se realizó una toma de muestra de los tejidos u órganos afectados, las muestras sospechosas de granulomas se enviaron para realizar un análisis histopatológico mas profundo y confirmar el hallazgo.

Cada grupo se consideró como una unidad experimental y los parámetros analizados fueron: A) parámetro primario, determinado por las reacciones sistémicas debidas a la vacunación estas fueron evaluadas a través de la presencia de mortalidad y signos clínicos; B) parámetro secundario, evaluación de las reacciones locales debidas a la vacunación estas fueron evaluadas a través de la comparación de la observación macroscópica del sitio de aplicación. Todos los parámetros evaluados para mostrar la seguridad del PIV fueron analizados en comparación con el grupo tratado con el PC (Placebo).

El conjunto de datos validados por doble captura fueron electrónicamente enviados al estadístico externo, quién realizó la evaluación mediante la prueba estadística correspondiente a cada variable, con un nivel de probabilidad de ≤0.05. El estudio fue un diseño de grupos completamente al azar con 2 tratamientos, cada uno con 12 pollos (se realizó un análisis estadístico por cada vía de administración). Los 12 pollos fueron divididos en 3 Unidades de aislamiento de tal manera que en cada Unidad de aislamiento estuvieron recluidos 4 pollos de cada grupo experimental; la unidad experimental fue cada grupo.
Las variables primarias **(cuadro 2)** para la evaluación de seguridad fueron:

Cuadro 2. Variables primarias

Variable a ser evaluada	**Sistema de evaluación**
Afectación general de salud (si/no)	Prueba exacta de Fisher
Reacciones sistémicas (si/ no)	Prueba exacta de Fisher

Las variables secundarias **(cuadro 3)** para la evaluación de seguridad fueron:

Cuadro 3. Variables secundarias

Variable a ser evaluada	**Sistema de evaluación**
Reacciones locales (si/no)	Prueba exacta de Fisher
Daño a la evaluación macroscópica del sitio de aplicación (si/ no)	Prueba exacta de Fisher
Evaluación de lesiones en el sitio de aplicación	Prueba de Kruskal Wallis

La hipótesis nula (H0) fue que no existe diferencia estadística significativa a nivel de signos clínicos, muerte o reacciones locales por causas atribuibles a la vacuna entre ninguno de los 2

grupos experimentales (vacunado con el PIV, y PC por cada una de las tres vías). La hipótesis alterna (H1) fue que entre los grupos experimentales se presentaran diferencias estadísticas significativas en alguno de los parámetros antes mencionados. Los resultados fueron usados como soporte para la discusión sobre la seguridad.

Todas las pruebas de diferencias entre grupos fueron diseñadas como prueba de 2 colas. Para todas las pruebas, diferencias fueron consideradas como estadísticamente diferentes solo si $p< 0.05$. No se aplicó ningún ajuste del error debido a que se trata de una prueba de seguridad. Los análisis estadísticos fueron realizados usando el programa SAS software release 8.2 (SAS Cary North Carolina: SAS Institute Inc.), los datos fueron resumidos a manera de cuadro.

Resultados

Prueba de seguridad en cuello

Los resultados muestran que respecto a la evaluación de reacciones sistémicas después del tratamiento y condiciones generales de salud (parámetro primario) ningún pollo de ningún grupo experimental mostró problemas en cuanto a los parámetros de conducta, respiración, digestión o muerte en el transcurso de todo el estudio, el único parámetro en donde se observaron hallazgos fue en sitio de aplicación a nivel de piel; sin embargo, el resumen de los resultados obtenidos del análisis muestra que no existe diferencia estadística significativa ($p> 0.05$) entre el grupos experimental en comparación con el grupo control placebo durante los 14 días del estudio lo que demuestra que el producto de investigación veterinaria es seguro cuando es administrado por vía subcutánea. **Cuadro 4**

Cuadro 4. Número de pollos normales (sin ningún hallazgo a nivel sistémico) por cada grupo experimental

Día estudio	PIV	PC	Diferencia estadística PIV vs PC
DS 0-1/DS0-4	6	11	0.0686 ns
1/4	12	11	1.00 ns
5/10	12	12	---
11/14	11	12	1.00 ns

Prueba Exacta de Fisher donde se Prueba H_o:p_1=p_2 (Bilateral, dos colas siendo el nivel de decisión una Prob = 0.05, con valores mayores se acepta la H_o).
--- Sin estimación de probabilidad debido a valores de cero

En lo que respecta al parámetro secundario (observaciones clínicas en el sitio de inyección a nivel de piel incluyendo reacciones locales, coloración de la piel, inflamación y secreción) los resultados muestran que enrojecimiento y presencia de absceso, así como ocasionalmente

inflamación y presencia de coágulo, fueron los hallazgos clínicos registrados en este estudio. Sin embargo, el análisis estadístico muestra que no existe diferencia (p> 0.05) entre los grupos vacunado con el PIV en comparación con el grupo placebo desde el día cero hasta el final del periodo de observación (al día 14). **Cuadro 5.**

Cuadro 5. Número de pollos normales (sin ninguna lesión en el sitio de aplicación)

Día estudio	PIV	PC	Diferencia estadística PIV vs PC
DS 0-1/DS04	6	11	0.0686 ns
1-2	10	11	1.00 ns
3-10	12	12	---
11-14	11	12	1.00 ns

Prueba Exacta de Fisher donde se Prueba H_o:p_1=p_2 (Bilateral, dos colas siendo el nivel de decisión una Prob = 0.05, con valores mayores se acepta la H_o)
--- Sin estimación de probabilidad debido a valores de cero

Los resultados obtenidos de la evaluación macroscópica del sitio de aplicación (hemorragia, inflamación, fibrosis y necrosis) muestran que no existió diferencia estadística significativa (p> 0.05) entre el grupo experimental y el grupo control. Todos los pollos de los dos grupos fueron posteriormente evaluados macroscópicamente por medio de una incisión (necropsia) a detalle del sitio de aplicación inmediatamente después de ser eutanasiados, esto con la finalidad de confirmar la presencia o ausencia de posibles abscesos, con base a los hallazgos de la necropsia el análisis estadístico fue realizado tomando como pollos no normales aquellos en los cuales la presencia de absceso fue ratificada (tanto macroscópicamente como por histopatología), los resultados muestran que no existe diferencia estadísticamente significativa a nivel de evaluación macroscópica en el sitio de aplicación (p> 0.05) entre el grupo vacunado con el PIV contra el grupo placebo durante los 14 días del estudio. La escala con la cual se califico esta variable fue la siguiente:

0	Sin cambio en el sitio de aplicación
1	Enrojecimiento o cambio de color en el sitio de aplicación
2	Grado 1+ dolor al tacto en el sitio de aplicación
3	Grado 2 + tumor, engrosamiento y aumento del tamaño en el sitio de aplicación
4	Presencia de granuloma en el sitio de aplicación

Cuadro 6. Registro del grado de lesiones encontrado en cada grupo experimental en los diferentes días de estudio, así como su inferencia estadística.

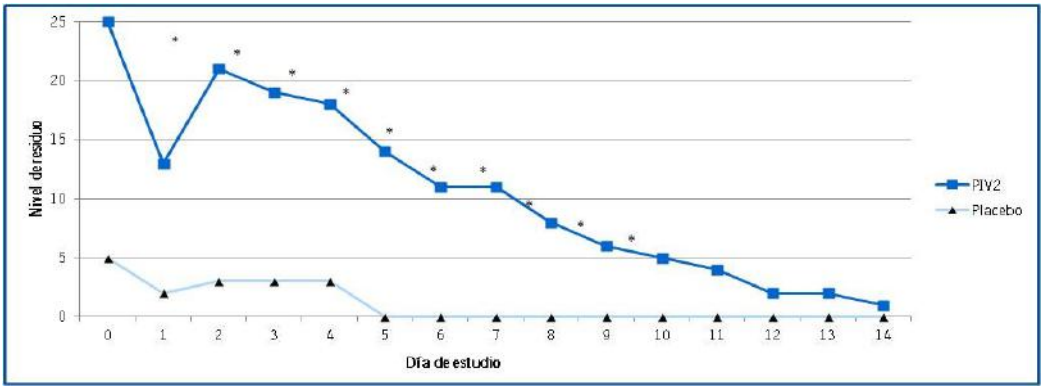
Día estudio	PIV	PC	Diferencia estadística PIV vs PC

DS 0-1/DS0-4	6	1	0.0604 ns
1	2	1	0.8236 ns
2	1	1	1.0 ns
3	0	1	0.4732 ns
4	0	1	0.4732 ns
5-10	0	0	1.0 ns
11-14	4	0	0.4732 ns

Valores de probabilidad mayores de 0.05 aceptan la Ho: Gi=Gi"
--- Sin estimación de probabilidad debido a valores de cero

Adicionalmente se realizó la evaluación de la presencia de residuos del producto de investigación veterinaria administrado, el análisis estadístico muestra que se mostró diferencias hasta el día 10, posteriormente y durante los últimos 4 días de estudio el PIV y el grupo placebo no fueron diferentes. **Figura 1.**

Figura 1. Residuos de vacuna durante los 14 días del estudio



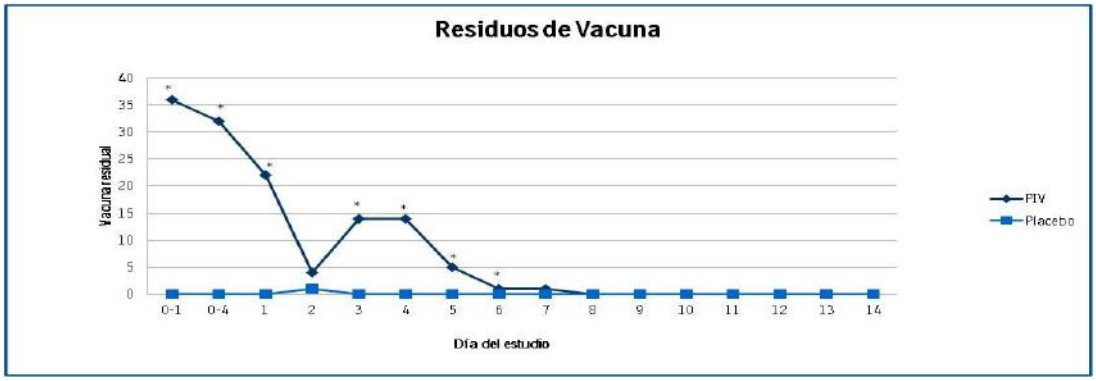
* Estadísticamente diferentes; el nivel máximo de residuo que teóricamente pudiera tener cada grupo es de 36/ día experimental (los 12 pollos del grupo con nivel 3 de residuo).

Prueba de seguridad en Pechuga

Los resultados muestran que respecto a la evaluación de reacciones sistémicas después del tratamiento y condiciones generales de salud (parámetro primario) ningún pollo de ninguno de los grupos experimentales mostró problemas en cuanto a los parámetros de conducta, respiración, digestión, muerte y hallazgos en el sitio de aplicación a nivel de piel en el transcurso de todo el estudio, lo que demuestra que el producto de investigación veterinaria usado en esta prueba es seguro cuando se administra por vía intramuscular en el músculo de la pechuga. Debido que no se encontró ninguna anormalidad visible, se decidió tomar al azar tres aves por cada grupo y realizar una incisión en el sitio de aplicación con la intención de confirmar la ausencia de lesiones, los resultados confirmaron que no existió ninguna anomalía. Adicionalmente se realizó la evaluación de la presencia de residuos del producto de

investigación veterinaria administrado, el análisis estadístico muestra que no existe diferencia estadística significativa (p>0.05) entre el grupo experimental y el grupo control a partir del día 6 de estudio; siendo la absorción del PIV al 100% a partir del día 8 post-vacunación **Figura 2.**

Figura2. Residuos de vacuna durante los 14 días del estudio



*Estadísticamente diferentes; el nivel máximo de residuo que teóricamente pudiera tener cada grupo es de 36/ día experimental (los 12 pollos del grupo con nivel 3 de residuo).

Prueba de seguridad en Pierna

Los resultados muestran que respecto a la evaluación de reacciones sistémicas después del tratamiento y condiciones generales de salud (parámetro primario) ningún pollo de ninguno de los grupos experimentales mostró problemas en cuanto a los parámetros de conducta, respiración, digestión o muerte en el transcurso de todo el estudio (solo un pollo mostro claudicación en un solo día) el único parámetro en donde se observaron hallazgos fue en sitio de aplicación a nivel de piel; sin embargo, el resumen de los resultados obtenidos del análisis muestra que no existe diferencia estadística significativa (p> 0.05) entre el grupo experimental en comparación con el grupo control placebo a partir del día 5 y hasta el final del estudio, lo que demuestra que este producto de investigación veterinaria es seguro cuando se administra por vía intramuscular profunda en la pierna. **Cuadro 7.**

Cuadro 7. Número de pollos normales (sin ningún hallazgo a nivel sistémico) por cada grupo experimental

Día estudio/	PIV	PC	Diferencia estadística PIV vs PC
DS 0-1/ 1	12	12	. ns
2	3	9	0.0123 *
3	6	12	0.0137 *
4	5	12	0.0046 **
5-6	11	12	1.0 ns
7-14	12	12	.ns

Prueba Exacta de Fisher donde se Prueba H_o:p_1=p_2 (Bilateral, dos colas siendo el nivel de decisión una Prob = 0.05, con valores mayores se acepta la H_o).

En lo que respecta al parámetro secundario, tanto a nivel clínico (reacciones locales, coloración de la piel, inflamación y secreción) como en la evaluación macroscópica (hemorragia,

inflamación, fibrosis y necrosis), los resultados muestran que enrojecimiento e inflamación fueron los hallazgos clínicos registrados en este estudio. Sin embargo, el análisis estadístico muestra que no existe diferencia (p> 0.05) entre el grupo vacunado con el PIV en comparación con el grupo placebo desde el día 5 y durante el resto del periodo de observación (14 días). **Cuadro 8**.

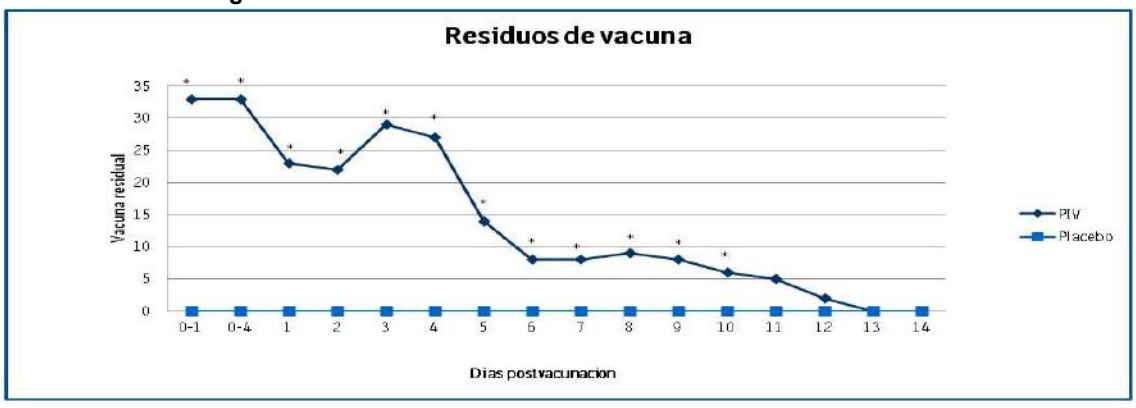
Cuadro 8. Número de pollos normales (sin ninguna lesión en el sitio de aplicación)

Día estudio	PIV	PC	Diferencia estadística PIV vs PC
DS 0-1-1	12	12	. ns
2	3	9	0.0123 *
3	7	12	0.0373*
4	8	12	0.0932 ns
5-14	12	12	. ns

Prueba Exacta de Fisher donde se Prueba H_o:p_1=p_2 (Bilateral, dos colas siendo el nivel de decisión una Prob = 0.05, con valores mayores se acepta la H_o).

Debido que en el último día de observación no se encontró ninguna anormalidad visible, se decidió tomar al azar tres pollos por cada grupo y realizar una incisión en el sitio de aplicación con la intención de confirmar la ausencia de lesiones, los resultados confirmaron que no existió ninguna anomalía. Adicionalmente se realizó la evaluación de la presencia de residuos del producto de investigación veterinaria administrado, el análisis estadístico muestra que no existe diferencia estadística significativa (p>0.05) entre el grupo experimental y el grupo control a partir del día 12 de estudio; siendo la absorción del PIV al 100% a partir del día 13 post-vacunación. **Figura 3.**

Figura 3. Residuos de vacuna durante los 14 días del estudio.



*Estadísticamente diferentes; el nivel máximo de residuo que teóricamente pudiera tener cada grupo es de 36/ día experimental (los 12 pollos del grupo con nivel 3 de residuo).

Discusiones

El objetivo de este estudio fue demostrar que una sola vacunación con el producto emulsionado es seguro al administrarse a pollos de 4 semanas de edad, por tres diferentes vías de administración, énfasis especial se dio al estado general de salud y a la evaluación macroscópica del sitio de aplicación; Este estudio clínico fue realizado en unidades de aislamiento de acuerdo a las regulaciones internacionales. En cuanto a los resultados por la vía subcutánea en el cuello, todos los parámetros usados para evaluar el estado general de salud (parámetro primario) posterior a la vacunación con el PIV fue comparable con el grupo vacunado con el placebo. Por lo tanto la vacuna emulsionada contra AC puede ser considerada como segura en lo que respecta a la condición general del estado de salud, la presencia de reacciones locales y la presencia de lesiones en el sitio de aplicación.

En lo que respecta a la vía intramuscular en pechuga, todos los pollos fueron encontrados sanos inmediatamente antes del tratamiento (día de estudio 0). Ningún pollo de ninguno de los grupos experimentales mostró problemas en cuanto a los parámetros de conducta, respiración, digestión, muerte, observaciones macroscópicas o lesiones en el sitio de aplicación durante los 14 días de observación (esto correspondiente a las variables del parámetro primario y secundario), lo que demuestra la seguridad de la vacuna emulsionada contra AC cuando es administrada por vía intramuscular profunda en el musculo pectoral, con una doble dosis.

En base a los resultados registrados en la administración intramuscular en pierna, se puede concluir que el PIV no induce reacciones sistémicas visibles, solo algunas anormalidades menores fueron observadas en el sitio de aplicación en pollos de ambos grupos experimentales; sin embargo, son parte del parámetro secundario y atribuibles en gran parte a esta vía de administración utilizada y por los pollos de edad joven. Todos los parámetros usados para evaluar el estado general de salud (parámetro primario) posterior a la vacunación con el PIV fueron comparables con el grupo placebo en la mayor parte del estudio, solo mostrando diferencias significativas en 3 días al inicio de la prueba. Por lo tanto el PIV puede ser considerado como seguro en lo que respecta a la condición general del estado de salud, la presencia de reacciones locales y la presencia de lesiones en el sitio de aplicación.

Conclusiones

Todos los parámetros usados para evaluar el estado general de salud fueron comparables con el grupo vacunado con el placebo. Solo algunas anormalidades menores fueron observadas en el sitio de aplicación tanto macroscópicamente como microscópicamente sin embargo son parte del parámetro secundario y estas mismas no tienen un impacto significativo en el análisis estadístico.

Por lo tanto el PIV puede ser considerado como seguro en lo que respecta a la condición general del estado de salud, la presencia de reacciones locales y la presencia de lesiones en el sitio de

aplicación y puede ser administrado a pollos a partir de las 4 semanas de edad como la edad más joven recomendada por estas tres distintas vías de vacunación.

Referencias

1. Terzolo, H. R. Revisión sobre Coriza Infecciosa. Propuestas de investigación para su diagnóstico y control. Revista de Medicina Veterinaria (Bs. As.), 2000, 81 (4): 262-269.
2. USDA.Veterinary services Memorandum 800.201. June 25, 2008.
3. VICH Guideline GL41. Examination of live veterinary vaccines in target animals for absence of reversion to virulence.
4. VICH Guideline GL9. International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medical Products.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO DE DIFERENTES PORCENTAJES DE INCLUSIÓN DE LISINA DIGESTIBLE EN DIETAS SORGO-SOYA-DDGS-CANOLA PARA GALLINAS BOVANS BLANCAS

Tepox PMA, López OL, Vázquez RJ, Jinez MT, Fuente MB, Ávila GE*
Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
angeles_lvqv6@hotmail.com

Resumen
Con la finalidad de obtener el máximo potencial productivo se planteo el presente trabajo en gallinas Bovans White para reevaluar las necesidades de lisina digestible en dietas tipo práctico. Se utilizaron 480 gallinas Bovans White de 40 semanas de edad, las cuales se distribuyeron conforme un diseño completamente al azar en 5 tratamientos con 7 réplicas de 12 aves cada uno. Los Tratamientos empleados fueron los siguientes: 1. Dieta basal con 0.54% de lisina digestible. 2. Dieta basal con 0.63% de lisina digestible. 3. Dieta basal con 0.72% de lisina digestible. 4. Dieta basal con 0.81% de lisina digestible. 5. Dieta basal con 0.90% de lisina digestible. Para el análisis estadístico se empleó un análisis multivariado y para reducir el número de variables se utilizó la técnica de componentes principales y a esta se le realizó una regresión múltiple ($P< 0.05$) con el nivel de lisina digestible. Los resultados obtenidos en 56 días de experimentación muestran como mejoraron los parámetros productivos conforme se incrementaron los niveles de lisina digestible solo hasta el nivel de 0.81%, en donde se obtiene el nivel más alto de postura (90%), el mejor peso de huevo y masa de huevo (62.7 y 56.4 g respectivamente), el menor consumo de alimento y la mejor conversión alimenticia (109.5 g y 1.94 kg:kg respectivamente). Se encontró que el coeficiente mayor corresponde a masa de huevo (0.993), esto significa que al aumentar la postura, el peso de huevo, el consumo de alimento y la masa de huevo, la conversión alimenticia disminuye. Se encontró que un nivel de 0.78% de lisina digestible en la dieta, es el nivel optimo para maximizar las variables productivas. En base a un consumo de 110 g/ave/día, las necesidades de lisina digestible son de 858 mg/ave/día.
Palabras clave**:** nivel de lisina, Bovans White, masa de huevo, DDGs, Canola.

Introducción

La importancia de los aminoácidos en la nutrición se demuestra por las diversas funciones que desarrollan las proteínas en el organismo del animal; son constituyentes de todos los tejidos, sangre, músculos, plumas, además constituyen alrededor de la quinta parte del peso del ave y aproximadamente la séptima parte del peso del huevo. La formulación de dietas para gallinas de postura está basada en el consumo de alimento, consumo de nutrimentos, edad del ave, composición nutricional de los ingredientes, costos de los mismos, ambiente y consideraciones de manejo. Esta información resulta básica para elaborar dietas, con la densidad de nutrimentos deseada y satisfacer las necesidades diarias de aminoácidos esenciales de las aves. En décadas recientes ha aumentado el número de huevos, la masa de huevo y ha mejorado la conversión alimenticia en gallinas de postura; lo que indica que esta pérdida de aminoácidos

tiene que reponerse a través del alimento, lo cual tiene implicancia en los requerimientos de aminoácidos óptimos para las líneas actuales de ponedoras.

Con la finalidad de obtener el máximo potencial productivo, y debido al avance genético de las estirpes productoras de huevo, se reevalúan constantemente las necesidades de nutrimentos, especialmente de lisina y aminoácidos azufrados. Con estos antecedentes se planteo el presente trabajo en gallinas Bovans White para reevaluar las necesidades de lisina digestible en dietas tipo práctico.

Material y métodos

La investigación se llevo a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.A.v) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle de Salvador Díaz Mirón No.89, en la Colonia Santiago Zapotitlán de la Delegación Tláhuac, Distrito Federal, a una altura de 2250 msnm entre los paralelos 19°15´ latitud Oeste. Bajo condiciones de clima templado húmedo Cw, siendo enero el mes más frío y mayo el más caluroso, su temperatura promedio anual es de 16°C, con una precipitación pluvial anual media de 747 mm.

Las aves se alojaron en una caseta de ambiente natural, la luz natural fue complementada con luz artificial para contar con un fotoperiodo de 16h.
El alimento y el agua se ofrecieron a libre acceso.

Previo a la formulación de las dietas el contenido de aminoácidos esenciales fue determinado por NIR. Las aves fueron alimentadas con base a una dieta sorgo+soya+canola+DDGS, con 15% de proteína y 0.54% de lisina digestible, cumpliendo los requerimientos del manual de la estirpe. (Cuadro 1).

Tratamientos empleados:
Tratamiento 1: Dieta basal con 0.54% de lisina digestible
Tratamiento 2: Dieta basal con 0.63% de lisina digestible
Tratamiento 3: Dieta basal con 0.72% de lisina digestible
Tratamiento 4: Dieta basal con 0.81% de lisina digestible
Tratamiento 5: Dieta basal con 0.90% de lisina digestible

El experimento tuvo una duración de 8 semanas. Se llevaron registros semanales para obtener porcentaje de postura, peso promedio del huevo, masa de huevo (ave/día), consumo de alimento (ave/día) y conversión alimenticia.

Para el análisis estadístico de las variables estudiadas se empleó un análisis multivariado con el paquete estadístico SPSS versión 8. Además, con el objeto de reducir el número de variables para su análisis, se utilizó la técnica de componentes principales y a esta se le realizó una regresión múltiple ($P< 0.05$) con el nivel de lisina digestible, finalmente por medio de la derivada de la formula de regresión se buscó el valor de lisina digestible que maximizara al componente principal.

Resultados

Los resultados promedio obtenidos en 56 días de experimentación se muestran en el Cuadro 2, en donde se puede observar como mejoraron los parámetros productivos conforme se incrementaron los niveles de lisina digestible solo hasta el nivel de 0.81%, en donde se obtiene el nivel más alto de postura (90%), el mejor peso de huevo y masa de huevo (62.7 y 56.4 g respectivamente), el menor consumo de alimento y la mejor conversión alimenticia (109.5 g y 1.94 kg:kg respectivamente).

Los coeficientes de la técnica de componentes principales, se muestran en el Cuadro 3 (coeficientes de los componentes principales), donde se aprecia que el coeficiente mayor corresponde a masa de huevo (0.993), y el menor a conversión alimenticia (-0.910), esto significa que al aumentar la postura, el peso de huevo, el consumo de alimento y la masa de huevo, la conversión alimenticia disminuye. Los resultados obtenidos de la regresión múltiple mostraron una respuesta cuadrática ($P< 0.05$) la cual fue explicada por la siguiente ecuación:

$$Y= -4.53 + 11.99 (Lisina) – 7.67 (Lisina)^2$$

Al calcular el nivel máximo de esta ecuación resulto ser que un nivel de 0.78% de lisina digestible en la dieta, fue el nivel optimo para maximizar las variables productivas. En base a un consumo de 110 g/ave/día, las necesidades de lisina digestible son de 858 mg/ave/día. (Figura 1).

Discusión

Un consumo recomendado de lisina digestible de 858 mg/ave/día, puede parecer alto, si se compara con la recomendación hecha por una investigación por Fuente *et al*. (665 mg/ave/día), Coon y Zhang (675 mg/ave/día), Schutte *et al.* (720 mg/ave/día), Evonik (770 mg/ave/día) o incluso con el requerimiento marcado por el NRC (690 mg/ave/día), esta diferencia puede deberse a la línea genética utilizada en cada una de las investigaciones mencionada, la edad de las aves y al contenido de energía metabolizable contenido en la dieta. Sin duda, la gallina actual debido a su mayor producción, requiere mayores cantidades de inclusión de lisina digestible por la formación del huevo.

Hay que indicar también que el coeficiente obtenido en el componente principal fue mayor para la masa de huevo, lo que indica que este parámetro es el mejor criterio para evaluar las necesidades de lisina digestible, según lo reportado con Prochaska *et al*.

Conclusiones

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas podemos inferir que la necesidad de lisina digestible para una máxima producción es de 858 mg/ave/día con base a un consumo de 110 g en dietas tipo práctico.

Cuadro 1. Composición de la Dieta basal experimental empleada para gallinas Bovans White.

INGREDIENTE	CANTIDAD
Sorgo	555.244
Pasta de soya	114.013
Carbonato de calcio	104.737
Granos secos de destileria solubles	100.000
Pasta de Canola	50.000
Aceite vegetal	38.605
Fosfato de calcio	15.606
Sal	4.484
DL-Metionina	1.696
Avelut polvo*	1.000
Secuestrante de micotoxinas	1.000
Premezcla de minerales**	1.000
Avired***	0.800
L-treonina	0.615
Cloruro de colina 60 %	0.500
Bacitracina de Zinc	0.300
Vitaminas****	0.250
Antioxidante	0.150
Mosquicida	5.000
Solkafloc	5.000
Total	**1000**
ANALISIS CALCULADO DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES EMPLEADAS	
NUTRIENTE	**CANTIDAD**
PC%	15.0
Energia Metabolizable Kcal/kg	2800
Calcio%	4.20
Fosforo disponible	0.43
Treonina digestible %	0.50
Lisina digestible %	0.54
Metionina+cistina digestible %	0.60
Triptofano digestible %	0.15
Sodio %	0.19

***PIGMENTO AMARILLO VEGETAL** (avelut): xantofilas amarillas 15 g/kg.

** **MINERALES:** cobre 3,333.350 mg, hierro 23,333.250 mg, manganeso 37,888.820 mg, yodo 333.400 mg, zinc 26,666.640 mg, selenio 100.000 mg, carbonato de calcio 370.000 g, aceite mineral 5.000 g, vehiculo c.b.p 1.000 kg.

***PIGMENTO ROJO VEGETAL** (avired en polvo): colorante de origen vegetal 5g/kg, capsicum.

****VITAMINAS**: Vitamina A 3,833.000 KUI, Vitamina D_3 1,500.00 KUI, Vitamina E 13,333.500 mg, Vitamina K_3 1,333.275 mg, Vitamina B_1 499.560 mg, Vitamina B_2 2,000.000 mg, Vitamina B_6 1,000.400 mg, Vitamina B_{12} 6,670 mg, nicotinamida 15,000.00 mg, acido pantotenico 3,332.700 mg, acido fólico 277.600 mg, biotina 40.00 mg, cloruro de colina 133,333.200 mg, vehiculo c.b.p 1.000 kg.

Cuadro 2. Parámetros productivos en gallinas Bovans White alimentadas con dietas con diferente nivel de lisina digestible.

Lisina digestible %	Postura (%)	Peso del huevo (g)	Masa de huevo (ave/día/g)	Consumo (ave/día/g)	Conversión alimenticia (kg/kg)
0.54	87.7	62.1	53.2	113.2	2.13
0.63	86.3	62.5	54.0	110.8	2.07
0.72	87.9	62.2	54.7	109.5	2.01
0.81	89.9	62.7	56.3	109.4	1.94
0.90	89.9	63.2	56.8	110.0	1.94
Error estandar	1.19	0.20	0.82	0.64	2.73

Cuadro 3. Coeficiente de los componentes principales.

Variable	Coeficiente
Porcentaje de postura	0.953
Peso de huevo	0.623
Consumo de alimento	0.624
Conversión alimenticia	-0.910
Masa de huevo	0.993

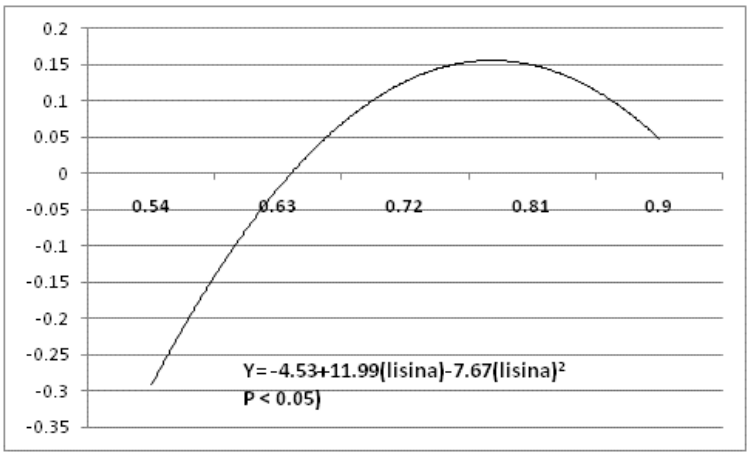


Figura. Nivel de lisina digestible que maximiza los componentes principales.

Referencias:

1. Cuca GM. Ávila GE, Pro MA. 2008. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario. Departamento de Zootecnia.
2. Evonik industries. 2009. Recomendaciones de aminoácidos para gallinas ponedoras. Amino News 13; 1-12.
3. Fuente MB, Díaz CA, Lecumberri LJ, Ávila GE. Digestible lysine and sulfur amino acids requirements in White Leghorn hens. Veterinaria México 2005; 2: 135-145.
4. Novak C. Yakout H. Scheideler S. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Delkab Delta laying hens. Poultry Science 2004; 83: 977-984.
5. Schutte JB, SMINK W. Requirement of laying hen for apparent fecal digestible lysine. Poultry Science. 1998; 77: 697-701.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO PROTECTOR DE ETOXIQUINA CONTRA LA INTOXICACIÓN ALIMENTARIA CRÓNICA POR AFLATOXINAS EN GALLINAS DE POSTURA

M. C. de Luna-López[1], A. G. Valdivia[1], T. Quezada-Tristán[1], A. Martínez-de-Anda[2], R. Ortiz-Martínez[2], F. Jaramillo-Juárez[3] y J. L. Reyes[4]

[1] Departamento de Clínica Veterinaria, Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes

[2] Departamento de Disciplinas Pecuarias, Centro de Ciencias Agropecuarias de la UAA.

[3] Departamento de Fisiología y Toxicología, Centro de Ciencias Básicas de la UAA.

[4] Departamento de Fisiología Celular y Neurociencias, CINVESTAV-IPN.

avaldiv@correo.uaa.mx.

Resumen

Las aflatoxinas afectan negativamente la salud humana y la productividad de los animales, ocasionando importantes pérdidas económicas en la producción animal. En gallinas de postura se ha demostrado que las aflatoxinas inducen un bajo desempeño productivo, disminución en el peso de órganos, inmunosupresión, daño hepático y renal irreversible, morbilidad y mortalidad. Se evaluó la capacidad de etoxiquina para prevenir el efecto tóxico de las aflatoxinas sobre parámetros bioquímicos e histopatológicos en gallinas de postura. Las aves consumieron aflatoxinas (0.00, 0.50, 1.00 y 1.50 mg/kg) con y sin etoxiquina (500 mg/kg de alimento). Se sacrificaron aves a las 0, 14, 20, 46 y 72 semanas de intoxicación. El consumo crónico de aflatoxinas produjo cambios morfológicos y bioquímicos significativos (P<0.05) en hígado y riñones, como disminución de la concentración de proteínas totales y glutatión reducido; cambio de la actividad enzimática de las transferasas de glutatión y gamma glutamiltranspeptidasa. La etoxiquina fue aceptada por las aves y no alteró por si sola la morfología del hígado y riñones. El uso de etoxiquina mitigó los cambios bioquímicos inducidos por las aflatoxinas en las variables evaluadas, lo cual sugiere la existencia de un efecto quimioprotector contra el efecto tóxico de las aflatoxinas.

Palabras clave: aflatoxicosis, hepatoxicidad, nefrotoxicidad, quimioprotectores, avicultura.

Introducción

Las micotoxinas producen un fuerte impacto en la salud humana y animal y se estima que las mismas ocasionan importantes pérdidas económicas valuadas en millones de dólares. En la industria avícola, las aflatoxinas (AFs) representan un serio problema ya que frecuentemente se les ha relacionado con la contaminación de los alimentos debido a sus propiedades tóxicas y carcinogénicas. Los efectos tóxicos más importantes que éstas producen en las aves es la mortalidad cuando se consumen niveles muy altos, pero cuando los niveles van de moderados a bajos y de manera crónica, ocasionan una reducción de la productividad debido al daño producido principalmente a nivel hepático, renal e inmunológico (Hamilton, 1987).

En gallinas de postura, se ha demostrado que las AFs inducen una disminución de la cantidad y calidad en el huevo producido (Rizzi et al., 2003), y aunque el organismo del animal logra inactivar una buena parte de la aflatoxina incluida en los granos, cuando las dosis de éstas son altas, los niveles de contaminación en el huevo rebasan los límites de detección y los límites máximos de tolerancia (Zaghini et al., 2005). Durante los últimos años, varias investigaciones se han centrado en componentes no nutricionales contenidos en la dieta (Hayes et al., 1999; Sharma y Farmer, 2004; Farombi, 2006) que ayuden a prevenir, disminuir o inactivar el efecto de las AFs. Se ha demostrado que la quimioprotección puede prevenir, inhibir o revertir el efecto patológico ocasionado por algunos agentes tóxicos, como es el caso de las AFs (Kresty et al., 2001). La etoxiquina (EQ) es un compuesto sintético empleado para proteger sustancias lipídicas y preservar carotenos y vitaminas A y E, además previene la combustión espontánea de productos almacenados al inhibir el calor producido por la oxidación de lípidos (Bartov y Bornstein, 1981; Wang et al., 1997). En la avicultura se usa para inhibir la oxidación de lípidos y compuestos liposolubles en el alimento y así mejorar la estabilidad de la grasa y proteínas en el pollo de engorda (Middleton et al., 2001); la prevención de la oxidación de compuestos nutricionales se vuelve importante para que exista un crecimiento y desarrollo óptimos, ya que el incremento del consumo de peróxidos puede causar una disminución de crecimiento y un efecto negativo en la eficiencia alimenticia (Wang et al., 1997). Con base en lo anterior, se ha planteado que el uso de agentes quimioprotectores, como la EQ, adicionados en la dieta puede prevenir o atenuar los efectos tóxicos sobre los parámetros bioquímicos y patológicos ocasionados por la intoxicación crónica alimentaria con AFs.

Material y métodos

Se adquirieron 240 gallinas de postura Hy-Line W36 de un día de edad, con semejanza de peso corporal (media ± 5.0 %) y ausencia de defectos morfológicos. Las aves fueron criadas bajo procedimientos zootécnicos estándar (Hy-Line, 2007); el agua y alimento fueron suministrados *ad libitum* desde el primer día hasta la semana 85 de edad. Para la etapa de crianza las aves fueron alojadas en jaulas en batería con calefacción manual y para la etapa de desarrollo y producción se utilizaron jaulas invertidas en pirámide de dos pisos. El manejo de las aves y de las instalaciones fueron mantenidas dentro de las recomendaciones de la *Federation of Animal Science Societies* (Curtis, 1999). La dieta base fue elaborada de acuerdo a los requerimientos nutricionales señalados por la *National Research Council* (NRC, 1994), no se añadieron coccidiostatos, antibióticos ni promotores del crecimiento. Las AFs se obtuvieron mediante la contaminación de maíz con utilizando dos cepas toxicogénicas de *Aspergillus flavus* (Valdivia et al., 2001b). La dieta base y el maíz contaminado se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución para cuantificar la concentración de micotoxinas de acuerdo al método señalado por la AOAC (método 990.33) (Scott, 1995).

Las aves fueron anestesiadas (25 mg/kg de pc de pentobarbital sódico vía IV) hasta que alcanzaron un plano quirúrgico para luego realizar una perfusión *in situ.* El hígado y los riñones fueron pesados, además se obtuvieron muestras de ambos órganos y se conservaron en una solución fijadora (formalina neutra al 10%) hasta que se les realizó la técnica histológica con hematoxilina y eosina (Prophet et al., 1994). También se obtuvieron muestras de dichos órganos para cuantificar la concentración de glutatión reducido (GSH) (Hissin y Hilf, 1976), para determinar la actividad enzimática de las transferasas de glutatión (GST) (Habig et al., 1974) y de gamma glutamiltranspeptidasa (GGT) (Beleta y Gella, 1990; IFCC, 1983). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con un análisis estadístico con arreglo factorial de tratamientos (Snedecor y Cochran, 1967), comparando dos niveles del quimioprotector (0.00 y 500 mg/kg de alimento) contra cuatro niveles de AFs (0.00, 0.50, 1.00 y 1.50 mg/kg de alimento). Para la evaluación de los parámetros bioquímicos y patológicos se realizaron cinco muestreos que correspondientes a un día de edad (día cero), 27 semanas de edad (14 semanas de intoxicación), 31 semanas de edad (20 semanas de intoxicación), 59 semanas de edad (46 semanas de intoxicación) y 85 semanas de edad (72 semanas de intoxicación) de las gallinas. La comparación de medias de los tratamientos se realizó por medio de la prueba protegida de Fischer, considerando un nivel de probabilidad $P < 0.05$. Los datos de todas las variables fueron sometidos a un análisis de varianza mediante el procedimiento para modelos lineares generales del software *Statistical Analysis System* (SAS, 1999).

Resultados

En el análisis microscópico del hígado y riñón de las gallinas que no consumieron AFs, mostró un arreglo estructural característico de ambos órganos. Con la metodología utilizada, no se detectaron diferencias en el grado de daño a la estructura celular atribuible a las diferentes dosis de las AFs ni tampoco al empleo del quimioprotector combinado con las mismas. La principal alteración en el caso del hígado fue la degeneración grasa microvesicular y macrovesicular, focos necróticos en hígado y riñón de las gallinas intoxicadas, focos de infiltración linfocitaria y amiloidosis en la periferia de vasos sanguíneos y en el espacio perisinusoidal. En el caso del riñón, también se observaron focos de infiltración linfocitaria entre los glomérulos y túbulos renales así como amiloidosis en vasos sanguíneos en el área mesangial de los glomérulos y alrededor de los túbulos.

En las aves intoxicadas con AFs se observó un descenso en la concentración de GSH hepático, principalmente en las dosis más elevadas y al final de la fase experimental (Figura No. 1).

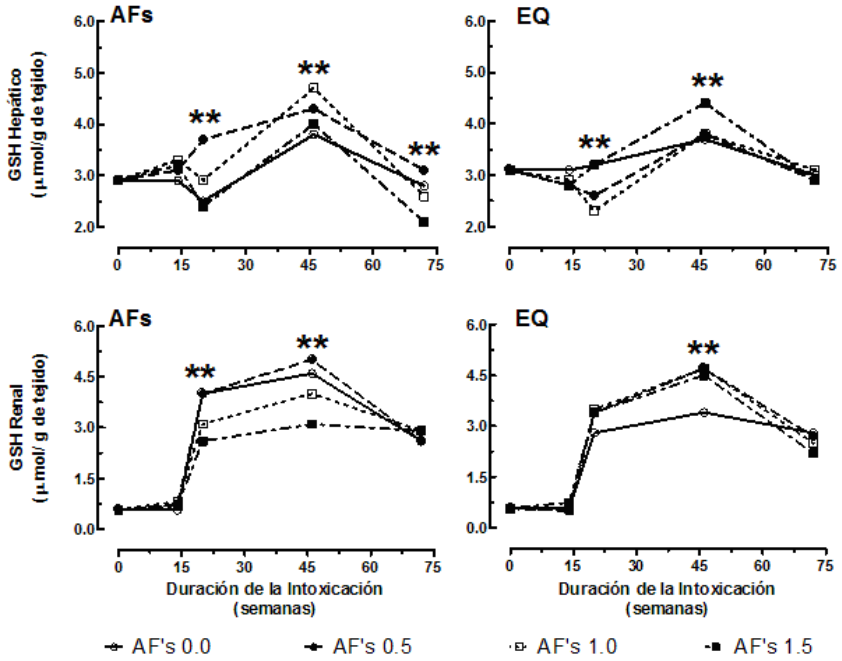


FIGURA No. 1. Efecto del tratamiento con aflatoxinas y etoxiquina sobre la concentración de glutatión reducido en hígado y riñón. Los asteriscos (**) indican diferencias significativas (P<0.01) a la prueba de rango de amplitud múltiple de Duncan

En lo que respecta al glutatión reducido renal, todos los grupos de tratamiento mostraron un descenso en la semana 72 de intoxicación; aunque las aves intoxicadas y tratadas con EQ tuvieron una concentración de GSH similar al del grupo control, hubo diferencias significativas (*P<0.01*) en la semana 46 de intoxicación.

En cuanto a las GST durante las primeras 20 semanas de tratamiento, se produjo una actividad enzimática irregular en hígado y riñón, pero posteriormente se observó una estabilización de los efectos de las AFs y de EQ destacando una disminución significativa (*P<0.01*) en las semanas 46 y 72 de intoxicación (Figura No. 2).

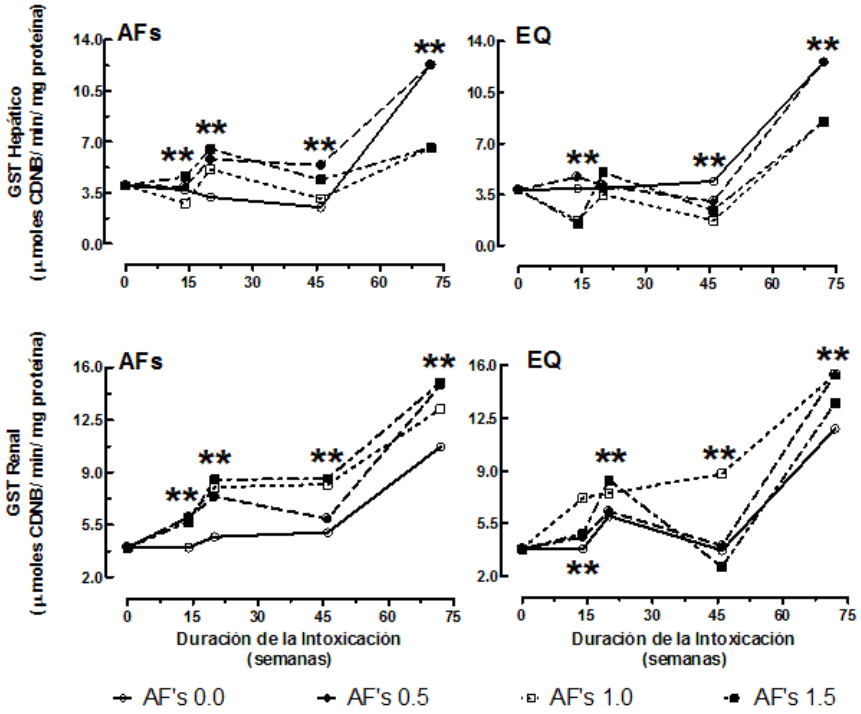


FIGURA No. 2. Efecto del tratamiento con aflatoxinas y etoxiquina sobre la actividad de las transferasas de glutatión en hígado y riñón. Los asteriscos (**) indican diferencias significativas (P<0.01) a la prueba de rango de amplitud múltiple de Duncan

La actividad de las GST hepáticas de las aves intoxicadas disminuyó significativamente (*P<0.01*) al final del estudio en las dosis más elevadas de AFs con referencia al grupo control. Sin embargo, el incremento de la actividad enzimático producido en las dosis más baja, entre las semanas 46 y 72, coincide con la depleción de GSH en este mismo órgano durante el mismo periodo. Este mismo efecto se observó en el caso de la actividad de las GST a nivel de riñón, aunque hubo una actividad más elevada que el grupo control.

La actividad de la GGT en hígado se incrementó significativamente (*P<0.01*) en las gallinas intoxicadas con las dosis elevadas (1.0 y 1.5 mg/kg) durante la semana 20 de intoxicación y con referencia a las gallinas control (0.0 mg/kg). Con el transcurso del tiempo, la actividad fue descendiendo significativamente (*P<0.01*) hasta el final del estudio en las gallinas que recibieron las tres dosis de AFs (Figura No. 3).

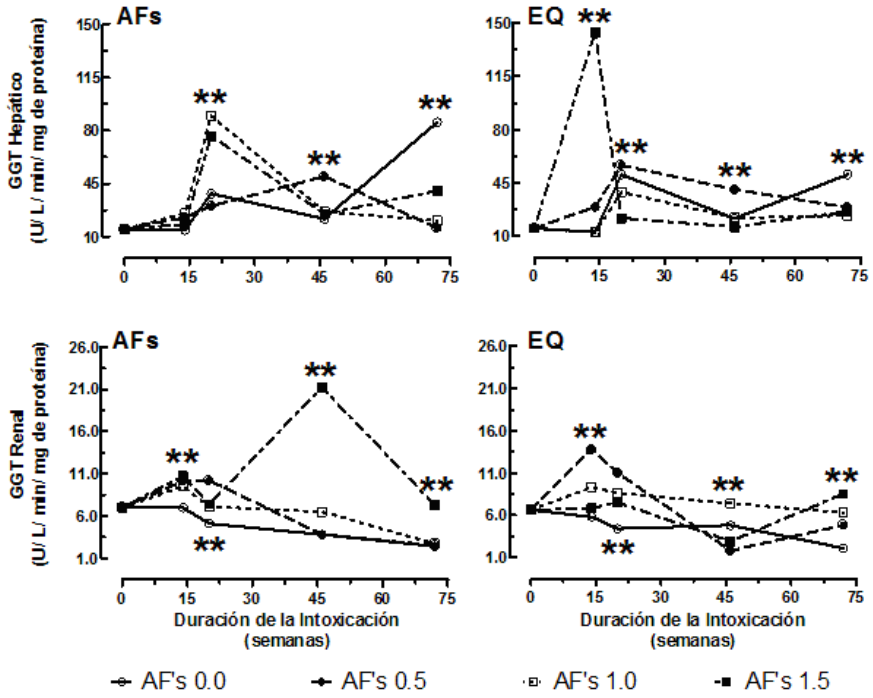


FIGURA No. 3. Efecto del tratamiento con aflatoxinas y etoxiquina sobre la actividad de gamma glutamiltranspeptidasa en hígado y riñón. Los asteriscos (**) indican diferencias significativas (P<0.01) a la prueba de rango de amplitud múltiple de Duncan

La actividad de la enzima mostró una tendencia más estable durante toda la fase experimental en el grupo EQ con algunas variaciones significativas (*P<0.01*). A diferencia de lo ocurrido en hígado, la actividad de la enzima en riñón fue menor y con un comportamiento regular durante toda la fase experimental con algunas variaciones significativas (*P<0.01*), principalmente durante las primeras 20 semanas de intoxicación.

Discusión y conclusiones

La degeneración grasa en hígado que se observó en los grupos intoxicados con AFs en este estudio, se debe a que éste es el principal órgano en el cual se lleva a cabo la síntesis de ácidos grasos (Valdivia 2001a; Arrieta et al., 2006; Ergun et al., 2006). Se ha indicado que el consumo de aflatoxina B_1 produce daño en los genes que sintetizan enzimas que metabolizan ácidos grasos, ocasionando una disminución en la actividad de las mismas y en el transporte de lípidos, originando un aumento en la concentración de lípidos y el peso relativo del hígado (Rauber et al., 2007; Tejada et al., 2008; Yarru et al., 2009), ocurriendo principalmente en exposiciones crónicas (Hussein y Brasel, 2001). La presencia de células inflamatorias en áreas dañadas del hígado y riñón, específicamente en zonas perivasculares, debido al consumo de AFs, es una respuesta inflamatoria que puede estar involucrada en un proceso regenerativo de células

parenquimatosas y no parenquimatosas, respectivamente (Kelley y Mora, 1976, Klaassen, 2008); mientras que la amiloidosis también se ha indicado que se produce como una respuesta secundaria a enfermedad crónica o procesos destructivos de tejido (Maxie, 2007). La degeneración epitelial y la falta del borde en cepillo en los túbulos contorneados proximales del riñón se han relacionado a necrosis tubular aguda ocasionada por este tipo de micotoxinas. Los cambios producidos en la estructura renal, tales como el incremento en el espacio de la cápsula de Bowman y en la morfometría glomerular (Majid et al., 2007; Valdivia et al., 2001a), ocasionan una falla en el funcionamiento renal, dependiendo de la dosis y duración de la exposición al xenobiótico (Glahn et al., 1990; Robbins et al., 2002; Klaassen, 2008).

Los niveles de GSH hepático y renal de las aves intoxicadas tratadas con EQ, posiblemente no se incrementaron debido a la función antioxidante del compuesto. Sin embargo, las variaciones observadas en hígado, se interpreta como una menor producción de epóxidos de aflatoxina y que no requirió de manera importante la utilización de la ruta metabólica de formación de ácido mercaptúrico. En presencia de AFs, el nivel de GSH hepático disminuye debido a que es el principal órgano blanco (Valdivia et al., 2001a), además de que sus niveles son más elevados comparado con los riñones (Quezada et al., 2002; Martínez et al., 2006), los cuales reciben un menor porcentaje de la aflatoxina absorbida, ejerciendo el mismo efecto sobre la concentración de GSH presente en este órgano. En las aves intoxicadas, el GSH renal descendió tal vez porque sus niveles no son tan elevados como los que presenta el hígado, por lo que fue insuficiente para formar conjugados con los epóxidos de AFs; sin embargo, se ha reportado que la depleción de los niveles de GSH por este tipo de agentes tóxicos produce consecuencias celulares que culminan con la destrucción de la célula y falla del órgano afectado (Kidd, 1997). Aunque la EQ no confirió protección en las gallinas intoxicadas sobre este parámetro a nivel de hígado y riñón, estudios en ratas han demostrado que este quimioprotector es capaz de inducir la formación de conjugados que epóxidos con GSH hepático (Hayes et al., 1994). En aves, los efectos quimioprotectores de EQ contra AFs son poco conocidos.

El incremento de la actividad de la GGT en hígado de las gallinas intoxicadas puede interpretarse como una respuesta del organismo para sintetizar esta enzima ante la presencia de conjugados de epóxidos de aflatoxina con GSH. El descenso de la actividad al final del estudio puede relacionarse a un efecto de consumo de la enzima al participar en la eliminación de los conjugados por la vía del ácido mercaptúrico. Mientras que la estabilidad de la actividad enzimática en las aves intoxicadas y tratadas con EQ, probablemente se produjo porque se el quimioprotector evitó la formación de epóxidos, reduciendo así la utilización de la vía del ácido mercaptúrico, debido a su efecto antioxidante. La actividad disminuida y estable de la GGT en riñón de las gallinas intoxicadas durante las primeras semanas de la fase experimental, pudo deberse a que el hígado es el principal órgano encargado de metabolizar las AFs, mientras que los riñones tienen un porcentaje menor de participación. Sin embargo, en las aves intoxicadas tratadas con EQ, este compuesto ejerció sus propiedades antioxidantes, pues el incremento de la actividad que se presentó, posiblemente se debió a un menor porcentaje de AFs que logró

llegar al riñón, observándose un efecto crónico al final del experimento, donde el grado de actividad enzimática fue proporcional a la dosis de AFs, suponiendo que tal vez la única dosis del quimioprotector que fue suministrada, se saturó conforme se incrementó la dosis de la micotoxina. Estudios en ratas, han indicado que el riñón juega un papel muy importante en la eliminación de este tipo de xenobióticos por filtración vía glomerular, debido a que presentan una elevada actividad enzimática de la GGT y niveles altos de GSH (Glossmann y Neville, 1972; Wlodek et al., 2002). Se sabe poco del efecto de EQ sobre la actividad de la GGT en pollos intoxicados con AFs. Pero algunos autores reportaron la eficacia de la EQ en pollos alimentados con dietas que contenían grasas oxidadas, donde los resultados obtenidos indicaron concentraciones elevadas de GSH y GGT a nivel intestinal, donde la EQ se encargó de transportar GSH a las células intestinales y por tanto incrementar la actividad enzimática contra toxinas presentes en ellos (Kim, 1984; Bammler et al., 2000). El consumo alimenticio de EQ indujo un efecto quimioprotector en las gallinas de postura intoxicadas de forma crónica con AFs, al aminorar los cambios en parámetros bioquímicos y patológicos indicadores de aflatoxicosis, como son la actividad enzimática de GST y GGT así como en la concentración de GSH.

REFERENCIAS

1. Arrieta D, Pérez-Arévalo ML, Gómez C, Molero G, Novoa E, Rincón H, Ascanio E. 2006. Efecto del alimento contaminado con aflatoxina B_1 (0,07 mg/kg) sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica (AST y ALT) en pollos de engorde. Rev Cient FCV-LUZ, 16: 39–47.
2. Bammler TK, Slone DH, Eaton DL. 2000. Effects of dietary oltipraz and ethoxyquin on aflatoxin B_1 biotransformation in non-human primates. Toxicol Sci, 54: 30–41.
3. Bartov I, Bornstein S. 1981. Stability of abdominal fat and meat of broilers: combined effect of dietary vitamin E and synthetic antioxidants. Poultry Sci, 60: 1840–1845.
4. Beleta J, Gella FJ. 1990. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la gamma glutamiltransferasa en suero sanguíneo humano. Quím Clín, 9: 58–61.
5. Curtis SE. 1999. Guide for the care and use of agricultural animals in agricultural research and teaching. Federation of Animal Science Societies. IL, USA.
6. Ergun E, Ergun L, Essiz D. 2006. Light and electron microscopic studies on liver histology in chicks fed aflatoxin. Deut Tierarztl Woch, 113: 363–368.
7. Farombi EO. 2006. Aflatoxin contamination of foods in developing countries: implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies. Afr J Biotechnol, 5: 001–014.
8. Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, Wideman Jr RF, Huff WE. 1990. Altered renal function in broilers during aflatoxicosis. Poultry Sci, 69: 1796–1799.
9. Glossmann H, Neville DM. 1972. gamma-Glutamyltransferase in kidney brush border membranes. Febs Lett, 19: 340–344.
10. Habig WH, Pabst J, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-Transferases. J Biol Chem, 249: 7130–7139.
11. Hamilton PB. 1987. Aflatoxicosis in farm animals. In: Zuber MS, Lillehoj EB, Renfroo BL (Eds). Aflatoxin in maize. A proceedigs of the workshop. El Batán, México, D.F., pp. 51–57.
12. Hayes JD, Nguyen T, Judah DJ, Petersson DG, Neal GE. 1994. Cloning of cDNAs from fetal rat liver encoding glutathione S-transferase Yc polypeptides. The Yc2 subunit is expressed in adult rat liver resistan to the hepatocarcinogen aflatoxin B_1. J Biol Chem, 269: 20707–20717.
13. Hayes JD, Ellis EM, Neal GE, Harrison DJ, Manson MM. 1999. Cellular response to cancer chemopreventive agents: contribution of the antioxidant responsive element to the adaptive response to oxidative and chemical stress. Biochem Soc Symp, 64: 141–168.

14. Hissin PJ, Hilf R. 1976. A fluorometric method for determination of oxi-dized and reduced glutathione in tissues. Anal Biochem, 74: 214–226.
15. Hussein HS, Brasel JM. 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167: 101–134.
16. Hy-Line. Guía de manejo 2003–2005. Hy-Line Variedad W-36. Tomado de http://www.hyline.com . 2007.
17. IFCC. 1983. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 4. IFCC method for gamma glutamyltransferase. J Clin Chem Clin Bio, 21: 633–646.
18. Kelley VC, Mora EC. 1976. Ultraestructural changes induced by chronic aflatoxicosis in chickens. Poultry Sci, 55: 317–324.
19. Kidd PM. 1997. Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage. Altern Med Rev, 2: 155–176.
20. Kim HL. 1984. Tissue thiol induction in mice and protective effect against pyrrolizidine alkaloids by dietary ethoxyquin and methionine hydroxy analog. Vet Hum Toxicol, 26: 314–316.
21. Klaassen CD. 2008. Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons. 7ª edición. Editorial McGraw – Hill. Kansas City, USA.
22. Kresty LA, Morse MA, Morgan C, Carlton PS, Lu J, Gupta A, Blackwood M, Stoner GD. 2001. Chemoprevention of esophageal tumorigenesis by dietary administration of lyophilized black raspberries. Cancer Res, 61: 6112–6119.
23. Majid MF, Abood A, Hammadi H. 2007. Aflatoxin B_1-induced kidney damage in rats. J Fac Med Baghdad, 49: 147–150.
24. Martínez M, Barrado D, Zubillaga M, Hager A, De Paoli T, Boccio J. 2006. Conceptos actuales del metabolismo del glutatión.Utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. Acta Bioq Clín Latinoam, 40: 45–51.
25. Maxie MG. 2007. Pathology of domestica animals. Volumen 2. 5ª edición. Elsevier Saunders Co.USA.
26. Middleton TF, Ferket PR, Boyd LC. 2001. The effect of ethoxyquin on the quality of ground poultry mortality carcasses preserved by lactic acid fermentation and phosphoric acid stabilization. Poultry Sci, 80: 1154–1163.
27. NRC. 1994. Nutrient requeriments of poultry. 9th Rev. Ed. Washington: National Academy Press. Ed. Washington: National Academy Press.
28. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. 1994. Laboratory methods in histotechnology. The American Registry of Pathology. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C.
29. Quezada T, Jaramillo F, Valdivia AG, Reyes JL, Ortiz R, Rodríguez ML. 2002. Estudio comparativo de la concentración del glutatión reducido y actividades de gammaglutamiltransferasa y transferasa de glutatión en hígado y riñón de pollos y ratas. Vet México, 33: 125–135.
30. Rauber RH, Dilkin P, Giacomini LZ, Araújo CA, Mallmann CA. 2007. Performance of turkey poults fed different doses of aflatoxins in the diet. Poultry Sci, 86: 1620–1624.
31. Rizzi L, Simioli M, Roncada P, Zaghini A. 2003. Aflatoxin B_1 and clinoptilolite in feed for laying hens: effects on egg quality, mycotoxin residues in livers, and hepatic mixed-function oxygenase activities. J Food Protect, 66: 860–865.
32. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Collins T. 2002. Manual de patología estructural y funcional. Ed. McGraw-Hill Interamericana. España.
33. SAS. 1999. Procedures guide for personal computers. CARY, N. C.: SAS Insititute, Inc., U. S. A.
34. Scott PM. 1995. Natural toxins. AOAC, 49: 1–30.
35. Sharma RA, Farmer PB. 2004. Biological relevance of adduct detection to the chemoprevention of cancer. Clin Cancer Res, 10: 4901–4912.
36. Snedecor GW, Cochran WG. 1967. Statistical Methods. Ed. Ames.
37. Tejada Z, Ávila E, Casaubon MT, Cervantes RA, Vásquez C, Hernández EM, Moreno E. 2008. Biodetoxification of aflatoxin-contaminated chick feed. Poultry Sci, 87: 1569–1576.
38. Valdivia AG, Martinez A, Damian FJ, Quezada T, Ortiz R, Martinez C, Llamas J, Rodriguez ML, Yamamoto L, Jaramillo F, Loarca-Pina MG, Reyes JL. 2001a. Efficacy of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B_1 intoxication in broiler chickens. Poultry Sci, 80: 727–734.
39. Valdivia AG, Moreno E, Martínez A, Quezada T, Ortíz R, Lucio FJ, López MA. 2001b. Crecimiento de cepas toxicogénicas de Aspergillus flavus en variedades de maíz (Zea mays L.). Simposio Estatal: La Investigación y el Desarrollo Tecnológico en Aguascalientes VIII, 34.

40. Wang S, Bottje W, Maynard P, Dibner J, Shermer W. 1997. Effect of Santoquin and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. Poultry Sci, 76: 961–967.
41. Wlodek P, Sokolowska M, Smolenski O, Wlodek L. 2002. The gamma-glutamyltransferase activity and non-protein sulfhydryl compounds levels in rat kidney of different age groups. Acta Biochim Pol, 49: 501–507.
42. Yarru L, Settivari R, Antoniou E, Ledoux D, Rottinghaus G. 2009. Toxicological and gene expression analysis of the impact of aflatoxin B_1 on hepatic function of male broiler chicks. Poultry Sci, 88: 163–371.
43. Zaghini A, Martelli G, Roncada P, Simioli M, Rizzi L. 2005. Mannanoligosaccharides and aflatoxin B1 in feed for laying hens: effects on egg quality, aflatoxins B_1 and M_1 residues in eggs, and aflatoxin B_1 levels in liver. Poultry Sci, 84: 825–832.

Regresar a lista de contenidos

MODULANDO LA PIGMENTACIÓN AMARILLA EN LA PIEL DEL POLLO DE ENGORDA

Muñoz DIJ[1], Tepox PMA[1]; Jiménez RMJ[1]; Fuente MB[1], Hernández VX[2], Quiroz PM[3], Ávila GE[1]*

[1]Centro de Enseñanza Investigación y Extensión en Producción Avícola- FMVZ-UNAM
[2] Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves- FMVZ-UNAM
[3] Industrias Vepinsa, S.A. de C.V

Introducción

El color es una de las características más importantes de los alimentos porque puede determinar la elección o el rechazo por parte del consumidor. Aunque las preferencias de los consumidores varían de acuerdo a cada región, uno de los aspectos de mayor importancia económica para la comercialización del pollo de engorda en el centro de México es la intensidad del color amarillo de la piel y tarsos del pollo de engorda (Ávila, 1990; Cuca et al., 2008). Debido a lo anterior se adicionan pigmentantes a la dieta del pollo para mejorar la presentación de la canal, pues el consumidor asocia un color amarillo intenso y luminoso de la piel con una buena salud del ave y mayor frescura de la canal (Williams, 1992; Franchini y Padoa, 1996).

En la avicultura de antaño el pigmento era suministrado en los alimentos que incluían una mayor cantidad de maíz amarillo y por más tiempo. Sin embargo, la alta selección genética de estirpes de rápido crecimiento, ha conducido a un ciclo productivo mas cortos y consecuentemente a una mayor dependencia en la adición de pigmentos o xantofilas en las dietas. Actualmente se requieren altas concentraciones de xantofilas adicionadas al alimento, lo cual representa entre el 8 y 10% del costo total de la dieta. En condiciones normales, los pigmentos se absorben en el intestino del pollo a partir de la dieta, posteriormente estos son transportados en la sangre hasta el tejido subcutáneo, tejido adiposo, tarsos y piel, en donde son almacenados. Sin embargo, la capacidad de pigmentación está relacionada con el grado de absorción a nivel del intestino delgado y por la afinidad específica de cada carotenoide por depositarse en un tejido determinado. (Perez-Vendrell e*t al,*2001; Castañeda *et al,* 2005; Cuca 2009). Dentro de las principales fuentes naturales de xantofilas que se utilizan para la pigmentación del pollo están: los carotenoides provenientes de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*), maíz amarillo, harina de alfalfa y gluten de maíz que aportan xantofilas del tipo de la luteína, y dan una tonalidad amarilla; mientras que la cantaxantina y frutos del género *Capsicum* dan una coloración roja debido a la trans-capsorubina y la trans-capsantina (Perez-Vendrell e*t al,*2001; Castañeda *et al,* 2005; Martínez *et al*, 2009). No es fácil lograr una pigmentación amarilla adecuada en el pollo debido a que existen muchos factores que la afectan; sin embargo, algunos de ellos pueden ser modificados. La energía es uno de los nutrimentos con mayor influencia para lograr una productividad eficiente. La adición de grasas como fuentes concentradas de energía en las dietas, con el fin de incrementar el nivel energético (EM) de la ración, esto se ha relacionado con la generación y absorción de micelas que permiten el transporte de lípidos y es favorecido por la presencia de monoglicéridos y ácidos grasos insaturados de cadena larga.(Tyczkowski, 1986; Pardio, 2001).

Por otro lado, la relación del medio ambiente con la pigmentación de la piel del pollo de engorda fue descrita desde 1955 por Collins *et al*. Además, se han reportado diferencias entre el amarillamiento en piel de pollos criados con acceso a la luz solar y sin ella (Fletcher, 1977; Janky, 1986); sin embargo, se desconoce como afecta la intensidad de la luz en el grado de pigmentación en la piel.

El presente reporte incluye resultados de varios experimentos que forman parte del estudio "Factores nutricionales, ambientales e infecciosos que afectan la absorción, depósito y excreción de pigmento en pollo de engorda", que tiene por objetivo general conocer como algunos factores susceptibles de ser modificados afectan la pigmentación amarilla del pollo mediante el análisis de la capacidad de absorción, punto de saturación, nivel de depósito y pérdida de pigmento en piel para conocer mas del metabolismo del pigmento y optimizar su adición en las dietas para pollos hembras y machos.

Material y métodos generales
Todos los experimentos se han realizado en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) y en el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de (DMZA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Las dietas de todos los experimentos cumplieron con los requerimientos nutricionales recomendados por el manual de manejo de la estirpe. El alimento y el agua se ofrecieron a libre acceso durante el tiempo que duraron las pruebas.
Semanalmente se registraron los parámetros productivos (peso, ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia).

Análisis estadístico general
Para evaluar las variables productivas se empleó un diseño completamente al azar y la diferencia entre las medias de los tratamientos se evaluó con la prueba de Tukey; mientras que en el análisis de los valores de pigmento cutáneo se empleó un análisis de regresión lineal simple.

Experimento 1

Objetivo
Estudiar el proceso de la pigmentación cutánea en pollos de engorda hembras y machos, y evaluar la capacidad del pollo para alcanzar niveles de pigmento cutáneo adecuados para su comercialización en solo 14 días (del día 35 a 49 de edad) mediante la administración de altas concentraciones de pigmento de *Tapetes erecta* en la dieta.

Materiales y métodos
320 pollos de engorda Ross 308 de 3 semanas de edad fueron distribuidos al azar en corrales en 4 tratamientos (4 niveles de inclusión de xantofilas amarillas de *Tagetes erecta* en la dieta): 1) testigo con 75ppm de xantofilas del día 21 al final de la prueba (49 de edad), y 2) , 3) y 4) con

108, 141, y 162ppm de xantofilas, respectivamente, del día 35 al 49 de edad. Cada tratamiento tuvo 4 repeticiones con 20 pollos cada una con sexos separados. Las primeras tres semanas de vida, los pollos fueron alimentados con una dieta con base en sorgo + pasta de soya, con los niveles de nutrientes recomendados para la estirpe y con 65 ppm de xantofilas amarillas.

Al inicio del experimento (21 días de edad) se realizó una lectura basal de la coloración amarilla de la piel en la región aptérica pectoral lateral derecha (vena de la grasa), con un colorímetro de reflectancia Minolta CR400 y posteriormente se midió dos veces por semana hasta el final del experimento.

Resultados

Los resultados promedio de ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y pigmento consumido, no mostraron diferencia entre ninguno de los tratamientos (P>0.05) (Cuadro 1).

El color amarillo de la piel en el grupo testigo (75ppm de xantofilas mostró un incremento diario promedio de 0.59 unidades de amarillamiento para ambos sexos del día 21 al 49 de edad (y = 7.2±0.63+0.59±0.03(tcp[1])+1.50±.060 (sexo) (Cuadro 2). Los tratamientos con las concentraciones más altas de pigmento (141 y 162ppm) tuvieron mejores (P≤0.05) niveles de amarillamiento en piel que el grupo 2 (Cuadro 3). En todos los tratamientos las hembras ganaron en promedio 1.7 unidades de amarillamiento más que los machos (Y=1.21±1.54 + 0.026±0.01(tratamiento) + 1.14±0.060(tcp) + 1.73±0.45(sexo) (Figura 1 y 2). Al suspender la adición de pigmento en la dieta de los grupos 2, 3 y 4 por dos semanas (del día 21 al 35 de edad) se observó un decremento diario promedio de 0.11 unidades de amarillamiento cutáneo, teniendo un efecto mayor (1.46) en las hembras (Y=5.85±1.05 + 0.11±0.042 (tcp) + 1.46±0.32(sexo) (Figura 3).

Discusión y conclusiones

Martínez *et.al*. (2003) reportaron que el suministro de 80 ppm de pigmento amarillo en el alimento de pollos de engorda durante los 26 días previos a su procesamiento fueron suficientes para alcanzar los niveles de coloración amarilla aceptados por el mercado mexicano. El incremento gradual en el amarillamiento cutáneo del pollo de engorda encontrado en el presente estudio sugiere la capacidad del ave para metabolizar altas cantidades de pigmento en poco tiempo, misma que puede ser aprovechada como medida correctiva en parvadas con un nivel bajo de pigmentación. Sin embargo; no existen otros estudios recientes que hayan cuantificado la cantidad de pigmento que se pierde en la piel del pollo por cada día que dejan de consumir pigmento o que hayan reportado una mayor susceptibilidad a esta restricción por parte de la hembra.

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir:

- Es posible reducir el tiempo de suministro de pigmento amarillo en la dieta por dos semanas sin afectar el nivel de pigmento cutáneo en el pollo de engorda.
- Las hembras pigmentan 1.73 unidades en b de amarillamiento cutáneo mas que los machos.

[1] tcp= tiempo de consumo del pigmento

- Cuando se deja de administrar pigmento en la dieta, el amarillamiento cutáneo disminuye diariamente 0.11 unidades.
- Lo anterior aporta información de la pigmentación especificas de acuerdo al sexo del ave que puede permitir optimizar la inclusión de pigmento en la dieta y evaluar mejor la pérdida de pigmento cutáneo por día de dietado en granja.

Cuadro 1
Parámetros productivos en pollos de engorda de 49 días de edad alimentados con diferentes niveles de xantofilas amarillas de Tagetes erecta.

Tratamiento (ppm de xantofilas)	*Ganancia de peso (kg)	Consumo de alimento (kg)	Índice de conversión	Consumo de pigmento (g)
1. 75	2.164	4.456	2.059	0.334ab
2. 108	2.187	4.384	2.005	0.294b
3. 141	2.172	4.459	2.053	0.399ab
4. 162	2.362	4.331	1.834	0.438a
EEM	0.05	0.16	1.03	0.03

Letras distintas muestran diferencia estadística (P<0.08)
* De los 21 a 49 días, con un peso inicial de 591 g

Cuadro 2
Pigmentación cutánea en pollos alimentados con 75ppm de xantofilas amarillas del día 21 al 49 de edad

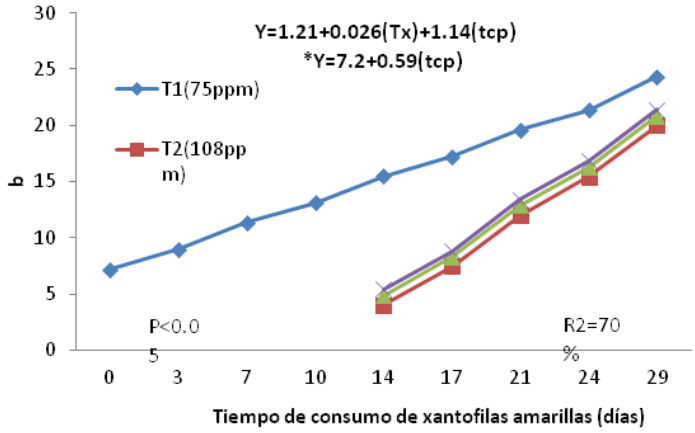
Tx	L		a		b	
Sexo	**Machos**	**Hembras**	**Machos**	**Hembras**	**Machos**	**Hembras**
75	67.84a	64.12a	2.11 a	3.06a	22.37ab	25.08 a
EEM	0.22		0.15		0.49	
Ecuación	Y=7.2±0.63+0.59±0.03(tcp)+1.50±.060(sexo)					

Cuadro 3
Pigmentación cutánea en pollos alimentados con 108, 141 y 162 ppm de xantofilas amarillas del día 35 al 49 de edad

Tx	L		a		B	
Sexo	**Machos**	**Hembras**	**Machos**	**Hembras**	**Machos**	**Hembras**
108	65.72a	64.53a	2.59a	3.82a	18.68b	19.60b
141	65.84a	63.45a	1.62a	3.05a	21.98ab	21.22ab

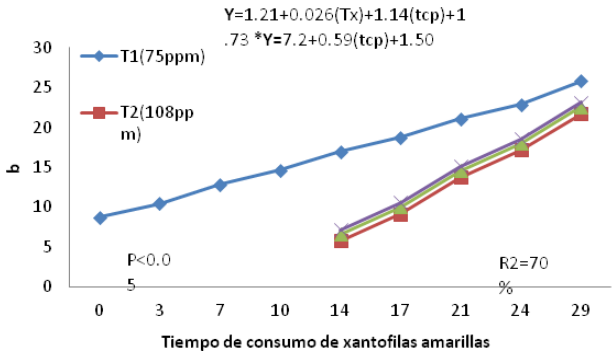
162	63.55a	64.47a	3.36a	3.92a	20.39ab	23.24ab
EEM	0.22		0.15		0.49	
Ecuación	Y=1.21±1.54+0.026±0.01(Tx)+1.14±0.060(tcp)+1.73±0.45(sexo)					

Diferente letra en una misma columna muestra diferencia estadística (P<0.05)



*Testigo

Figura 1. Pigmentación de la piel del pollo macho con diferentes concentraciones de xantofilas amarillas



*Testigo

Figura 2. Coloración de la piel del pollo hembra con diferentes concentraciones de xantofilas amarillas

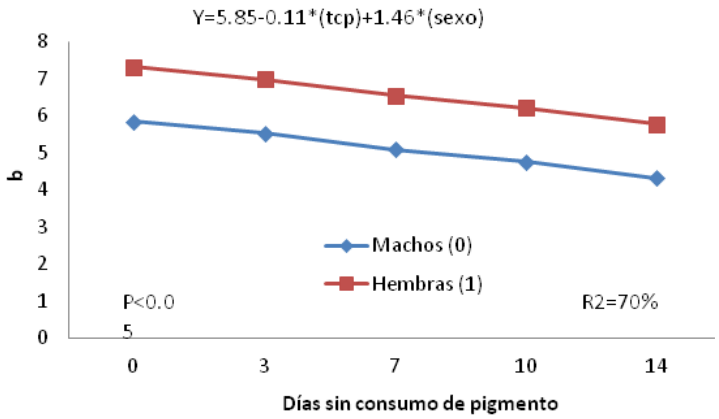


Figura 3. Disminución de la pigmentación cutánea en pollos de engorda al suspender el consumo de xantofilas amarillas del día 21 al 35 de edad.

Experimento 2

Objetivo

Evaluar el efecto del administrar diferentes cantidades de energía metabolizable en la dieta de pollos de engorda en la pigmentación amarilla en la piel de pollo de engorda; así como las diferencias en la pigmentación debido al sexo del ave.

Material y métodos

48 pollos de engorda Ross 308 de 4 semanas de edad fueron alojados en jaulas en batería *Peters sime* ® dentro de una caseta de ambiente natural utilizando un diseño completamente de 4 tratamientos (1.-2800; 2.- 3000; 3.- 3200 y 4.- 3400 kcal (EM)/kg), cada uno con 3 repeticiones de 4 pollos (2 hembras y 2 machos). Las dietas se elaboraron con base en sorgo + pasta de soya + aceite crudo de soya y 85 ppm de xantofilas amarillas saponificadas de *Tagetes erecta* (Martínez, 2004).

La pigmentación cutánea se evaluó *in vivo* en todas las aves por tratamiento y por sexo cada tercer día durante las 3 semanas de experimentación con un colorímetro de reflectancia Minolta CR400. Así mismo, se midió la coloración de la piel de la pechuga en la canal fría al final del ciclo en todos los pollos.

Resultados

Los parámetros productivos como son el consumo de alimento y consumo de pigmento no fueron afectados por la concentración de EM en la dieta (P>0.05). Al aumentar la EM en la dieta se logró una mayor pigmentación en la piel del pollo de engorda *in vivo* y a las 24 horas posrefrigeración (Cuadro 4). Se encontró un efecto lineal a los diferentes niveles de EM en la dieta y se explicó por la ecuación: Y = -44.91±8.65 + 0.02±0.002 (EM) R2=59.06 (P<0.01); donde Y= pigmentación amarilla de la piel en unidades delta (b), que indica que por cada 100 kcal de EM/kg de incremento en la dieta se aumentan 2 unidades delta la coloración amarilla en la piel del pollo *in vivo*. También se observó un incremento en la coloración amarilla de la canal al aumentar los niveles de energía en la dieta y se explicó por la ecuación: Y=-52.74±11.14 + 0.029±0.003 (nivel de EM) R2= 64.82 (P<0.01). Al evaluar la variable de sexo, se observó que

al final de la prueba las hembras pigmentaron 3.77 unidades delta más que los machos independientemente del nivel de EM que se utilice en la fase de finalización y empleando el mismo nivel de pigmento amarillo en la dieta (85ppm de xantofilas amarillas de *Tagetes erecta*) y es explicado por la ecuación: Y= -46.55±7.67 + 0.02±0.002 (nivel de EM) + 3.77±1.12 (sexo) R2=68.80 (P<0.01) (Figura 4).

En las canales después de 24 hrs de refrigeración disminuyó 1.15 unidades delta el amarillamiento de la piel en las hembras y se explicó por la ecuación: Y= -52.19±11.25 + 0.029±0.003 (nivel de EM) -1.15±1.63 (sexo) R2=65.31 (P<0.01).

En el Cuadro 5 se observan los resultados promedio semanales por sexo y los días en los que se evaluó el consumo de xantofilas amarillas en la dieta. Se puede observar que las hembras ganan 1.77 unidades delta en pigmento amarillo más que los machos; así como que por cada 100 kcal de EM que se adicionaron a la dieta la piel del pollo de engorda se pigmentó en 0.13 unidades delta más con la misma concentración de xantofilas amarillas y esto es explicado por la siguiente ecuación: Y= -41.62±2.06 +0.13±0.001 (nivel de EM)+1.77±0.294 (sexo)+0.594±0.016 (tiempo de consumo de xantofilas en la dieta).

Cuadro 4

Pigmentación cutánea *in vivo* y 24 horas posrefrigeración a los 49 días de edad de pollos de engorda hembras y machos alimentados con diferentes niveles de energía metabolizable y 85 ppm de xantofilas de *Tagetes erecta* del día 21 al 49 de edad

EM (kcal/kg)	Pigmentación amarilla de la piel del pollo *in vivo*			en canal, 24 horas posrefrigeración		
Sexo	Hembras	Machos	Promedio	Hembras	Machos	Promedio
2800	14.38±0.69	10.45±1.55	12.41	33.21±2.98	32.44±2.34	31.54
3000	18.51±2.11	13.46±1.33	15.98	32.74±1.49	31.77±3.06	32.25
3200	21.70±1.38	17.63±2.88	19.66	40.88±2.06	40.52±1.25	40.70
3400	26.69±1.65	23.40±1.69	25.04	47.59±1.72	51.17±1.94	49.38
Promedio	20.32	16.23		38.60	38.97	
Efecto lineal		R^2=68.80 P<0.01			R^2=65.31 P<0.01	
Ecuación	Y = -44.91±8.65 + 0.02±0.002 (EM)			Y=-52.74±11.14 + 0.029±0.003 (EM)		

Cuadro 5

Amarillamiento cutáneo semanal en pollos de engorda hembras y machos alimentados con diferentes niveles de energía metabolizable y 85 ppm de xantofilas de *Tagetes erecta* del día 21 al 49 de edad

Días de consumo de pigmento	Energía metabolizable (kcal/ kg de alimento)							
	2800		3000		3200		3400	
	Hembras	Machos	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho
0	1.48	1.30	1.64	1.25	1.45	1.29	1.74	1.10
3	1.58	1.84	3.50	4.16	3.98	5.49	5.00	6.31
5	3.63	2.21	4.26	4.16	5.55	5.49	6.81	6.31
7	4.34	2.91	4.57	5.22	6.22	7.28	8.35	8.97
10	6.77	5.61	7.89	6.84	9.62	11.09	11.70	12.30
12	7.99	5.86	9.21	7.71	12.28	12.39	14.92	13.89
14	8.84	4.69	10.49	7.00	15.11	15.12	18.92	15.07
17	8.52	6.06	11.76	7.37	18.19	14.41	18.31	17.69
19	10.65	7.60	13.72	7.04	15.48	15.50	22.66	19.97
21	11.60	6.15	14.05	6.19	17.90	17.30	23.61	19.09
24	12.26	7.47	14.06	7.47	18.89	19.48	24.91	21.74
26	12.61	12.23	15.40	11.20	19.98	18.47	23.30	23.94
28	14.38	12.37	17.18	13.46	21.70	17.59	26.69	22.83
EEM	0.48	0.50	0.45	0.68	0.84	0.78	0.94	1.01
Efecto lineal	R^2=74.67 P<0.01							
Ecuación	Y= -41.62±2.06 +0.13±0.001 (nivel de EM)+1.77±0.294 (sexo)+0.594±0.016(tcp)							

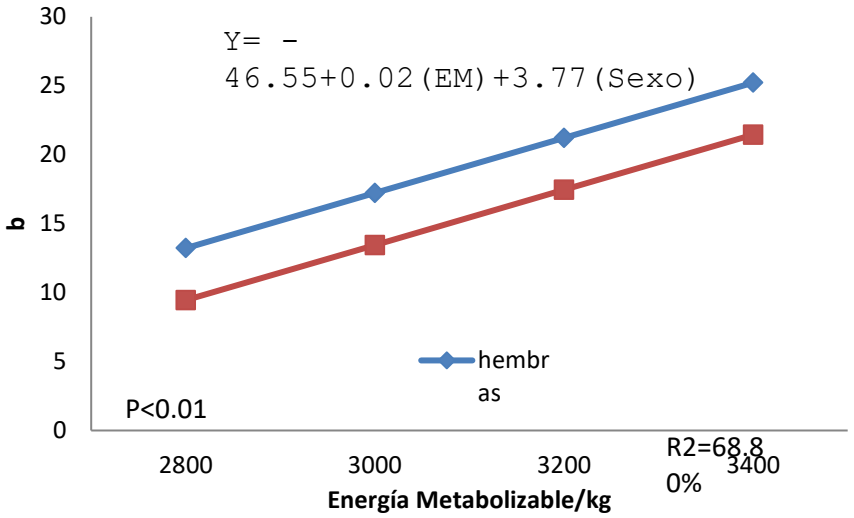


Figura 4. Diferencia de pigmentación amarilla de la piel del pollo de engorda alimentados con diferentes concentraciones de EM por sexo

Discusión y conclusiones

En la lectura basal del pigmento cutáneo no se observó diferencia significativa entre tratamientos (P>0.01), por lo que podemos decir que el incremento de EM en la dieta, con una concentración igual de xantofilas amarillas saponificadas, incrementó la pigmentación amarilla en el pollo de engorda. Alpízar *et al*. (1993) encontraron que cantidades de 2990, 3030 y 3150 kcal/kg de EM, no generaron ninguna diferencia en lo que se refiere a pigmentación cutánea,

esto puede deberse a que las cantidades de EM utilizadas en ese experimento fueron bastante similares entre sí, lo cual posiblemente no favoreció la detección de un efecto del nivel de energía en la pigmentación entre los grupos, mientras que en el presente trabajo las diferencias en las dietas fueron de 200 kcal consiguiendo por cada 100kcal mas en el alimento, un incremento de dos puntos delta de amarillos en la piel del pollo de engorda *in vivo,* además de que el pollo actual consume mayor cantidad de alimento y tiene un mayor metabolismo. Este incremento de la pigmentación amarilla se relaciona a la propiedad liposoluble de las xantofilas, por lo que los lípidos promueven su absorción y acumulación en los tejidos y sus efectos varían de acuerdo con el tipo de lípido a usar; por ejemplo, el aceite de soya mejora la pigmentación mientras que lípidos de origen animal como la manteca, tienen un efecto negativo (Raghavan, 2001).

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir:
1.- Por cada 100 kcal (EM) que se aumentaron en la dieta se mejoraron 2 unidades delta la pigmentación cutánea amarilla en el pollo de engorda.
2.- Al final de la prueba las hembras pigmentaron 3.77 unidades delta más que los machos independientemente del nivel de EM que se utilizó en la fase de finalización
3.- Las hembras ganaron en promedio 1.77 puntos delta más de amarillos que los machos.
4.- El incremento de la EM en la dieta, puede ser una alternativa para alcanzar en menor tiempo el grado de pigmentación requerido para el pollo de engorda en el mercado mexicano.

Experimento 3

ObjetivoDeterminar si existe un punto de saturación en la absorción y depósito del pigmento amarillo en pollos de engorda hembras y machos mediante la administración de diferentes concentraciones de xantofilas de *Tagetes erecta* en la dieta y el análisis de pigmento en piel.

Material y métodos
204 pollos de engorda Ross de 21 a 49 días de edad se alojaron en jaulas tipo batería *Peters sime* ® en una caseta de ambiente natural. Por sexos separados se empleo un diseño completamente al azar de 6 tratamientos con 3 replicas cada uno. Las aves fueron alimentadas con dietas a base de sorgo + pasta de soya con 6 diferentes niveles de xantofilas amarillas de *Tagetes erecta:* 65, 92, 119, 146, 173 y 200 ppm.

Se midió *in vivo* la pigmentación cutánea de todos los pollos en la zona aptérica costal derecha con un colorímetro de reflactancia Minolta CR 400® 2 veces por semana durante 4 semanas.

Resultados
No se encontró diferencia (P> 0.05) entre los tratamientos para las variables productivas en los 28 días de experimentación (21 a 49 de edad) (Cuadro 6).

Cuadro 6
Parámetros productivos en 28 días de experimentación (del día 21 a 49 de edad)

Tratamiento (ppm de pigmento)	Ganancia de peso (g)		Consumo de alimento (g)		Conversión alimenticia (kg:kg)	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras

65	2351	1920	4779	4204	2.11	2.29
92	2346	1901	5221	4355	2.22	2.29
119	2234	1952	5141	4568	2.30	2.34
146	2345	2006	5484	4612	2.33	2.29
173	2425	1996	5148	4578	2.12	2.29
200	2635	1869	5158	4397	1.99	2.35

En relación con la pigmentación amarilla en la piel del pollo de engorda se encontró un efecto cuadrático para los niveles de xantofilas en la dieta, los días que se proporcionó el pigmento, lo cual es explicado por la siguiente ecuación:

$b+ = -7.23 + 0.14(ppm) + 1.60(DP) - 0.81(Sexo) + - 0.0004(ppm)^2 - 0.037(DP)^2$. $R^2 = 70\%$ ($P < 0.0001$)

Se observó que las hembras pigmentaron 0.81 UA (unidades de amarillamiento en b) más que los machos en forma consistente durante todo el periodo de suministro del pigmento en la dieta. Por cada 10 ppm de xantofilas que se adicionan a la dieta se incrementaron 1.4 UA, y por cada día de inclusión de pigmento, las UA se incrementan en 1.60 (Figura 1 y 2).

Discusión y conclusiones

Nuestros resultados concuerdan con Muñoz (2009), quien combinó diferentes niveles de energía y xantofilas en la dieta y reportó que las hembras tienen mayor capacidad de pigmentación y al día 49 de edad ganaron en promedio 1.77 unidades de amarillamiento más que los machos. Estos resultados se relacionaron a que la cantidad de grasa subcutánea es mayor en hembras que en machos. Este hecho también tienen relación con el tiempo de consumo de xantofilas, ya que este proceso es un fenómeno acumulativo y los diversos tejidos (grasa corporal, piel o tarsos) responden de distinta manera en el almacenamiento y movilización de los pigmentos. El metabolismo de carotenoides en la grasa corporal suele ser muy rápido, por lo que un cambio en el nivel de pigmento se observará a corto plazo, mientras más días se proporcione a las aves alimento con pigmento amarillo, mayor será el depósito en los diversos tejidos. (Muñoz, 2009; Aceves, 2004)

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas, se puede concluir que:

- Las hembras ganan 0.81 unidades de amarillamiento más que los machos.
- Por cada 10 ppm de xantofilas amarillas que se adicionan a la dieta, la piel de pollos de engorda aumenta en 1.4 unidades de amarillamiento (b+).
- Por cada día de consumo de xantofilas amarillas la coloración en piel se incrementa en 1.60 unidades de amarillamiento.
- Es posible alcanzar una pigmentación cutánea adecuada para el mercado mexicano y reducir los días de administración de pigmento aminorando el tiempo de suministro al aumentar la cantidad de pigmento en la dieta.

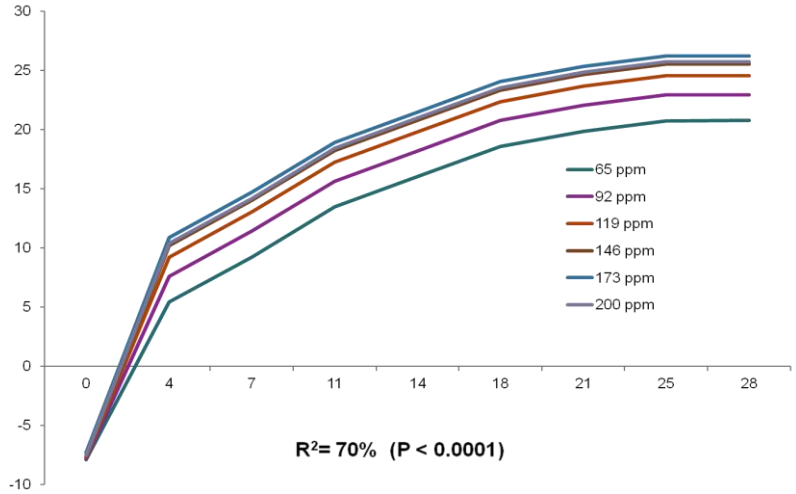


Figura 5. Pigmentación cutánea de Machos Ross en 28 días de experimentación (día 21 al 49 de edad)

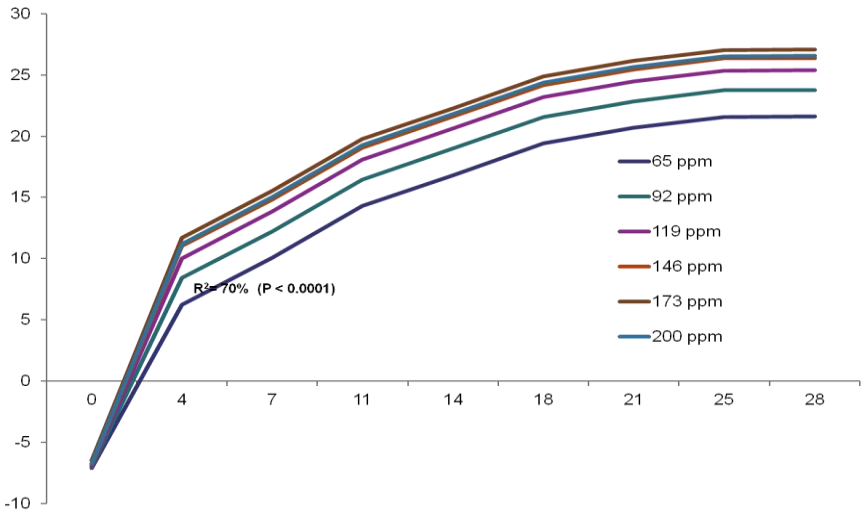


Figura 6. Pigmentación cutánea en Hembras Ross en 28 días de experimentación (día 21 al 49 de edad)

Experimento 4

Objetivo

Conocer y evaluar la capacidad de absorción y depósito del pigmento amarillo en pollos de engorda hembras y machos y saber si existe un punto de saturación en la coloración amarilla, mediante la administración de diferentes concentraciones de xantofilas de *Tagetes erecta* en la dieta y el análisis de pigmento en piel.

Material y métodos

Se utilizaron 130 pollos Ross de 21 días de edad (65 hembras y 65 machos), que bajo un diseño al azar se distribuyeron en corrales en una caseta experimental de ambiente natural.

Los tratamientos consistieron en el empleo de 6 diferentes niveles de concentración de xantofilas amarillas:

1: 65 ppm de xantofilas amarillas (dieta basal).
2: Dieta basal +0.90 kg de xantofilas/ton de alimento (92 ppm)
3: Dieta basal +1.80 kg de xantofilas/ton de alimento (119 ppm)
4: Dieta basal 1+2.70 kg de xantofilas/ton de alimento (146 ppm)
5: Dieta basal 1+3.60 kg de xantofilas/ton de alimento (173 ppm)
6: Dieta 1+4.50 kg de xantofilas/ton de alimento (200 ppm)

Semanalmente, a partir de los 21 días de edad se midió *in vivo,* por ave la luminosidad, unidades en rojos y amarillos en la región aptérica pectoral lateral derecha, con un colorímetro de reflectancia Minolta CR 400.

Resultados

Los resultados obtenidos de la coloración de la piel del pollo de engorda en 28 días de edad mostraron un efecto cuadrático para el tiempo de pigmentación incrementándose 24.57 unidades de amarillamiento (b+) 23 días después de haber iniciado la adición de pigmento en el alimento (44 días de edad) (Cuadro 7 y 8), donde se obtiene el punto de saturación. Las hembras en general ganaron al final de la prueba 2.8 unidades de amarillamiento más que los machos (Cuadro 7), y por cada ppm de xantofilas amarillas saponificadas de flor de *Tagetes erecta* adicionada al alimento la coloración de la piel del pollo se incrementó en 0.037 unidades de amarillamiento, siendo explicado por la ecuación: Y= -58.22 + 24.57(semana) - 2.8(sexo) + 0.037(nivel de pigmentación) -1.939(semana)^2 R^2= 81.0% (P<0.01).

La saturación del color amarillo a los 44 días de edad fue mayor para los tratamientos 4, 5 y 6 (146,170 y 200 ppm de xantofilas); mientras que el tratamiento 1 (65 ppm de xantofilas) obtuvo la menor coloración en piel (P< 0.05). A las 7 semanas (Cuadro 9) se mejoró la coloración de la piel del pollo del tratamiento 3 (119 ppm de xantofilas) y fue estadísticamente similar con respecto a los tratamiento 4, 5 y 6, que corresponden a los tratamientos con dosis más altas de pigmento.

Cuadro 7

Pigmentación amarilla en la piel de pollos hembras alimentadas con diferentes cantidades de xantofilas de *Tagetes erecta*

Edad en semanas	Tratamientos (ppm de xantofilas en el alimento)						Promedio
	1. 65	2. 92	3. 119	4. 146	5. 173	6. 200	
3	1.16	1.70	-0.03	1.40	0.79	1.39	**1.07±0.40**
4	10.26	10.81	13.84	11.67	14.83	15.60	**12.84±0.40**
5	15.62	20.43	16.08	16.19	16.85	17.87	**17.17±0.40**
6	15.87	19.17	18.92	20.40	21.90	21.53	**19.63±0.41**
7	16.16	19.37	20.67	23.08	23.74	23.93	**21.16±0.41**
Promedio	**17.23±0.18**						

Cuadro 8

Pigmentación amarilla en la piel de pollos machos alimentados con diferentes cantidades de xantofilas de *Tagetes erecta*

Edad en semanas	Tratamientos (ppm de xantofilas en el alimento)						Promedio
	7. 65	8. 92	9. 119	10. 146	11. 173	12. 200	
3	0.96	1.26	0.86	2.82	1.65	1.19	**1.46±0.40**
4	11.20	12.16	12.67	12.91	14.99	15.55	**13.255±0.37**
5	19.87	17.87	22.89	24.26	26.72	26.76	**23.06±0.37**
6	21.11	19.31	22.68	24.57	27.05	28.36	**23.85±0.37**
7	20.67	20.36	24.24	25.96	28.10	26.83	**24.36±0.37**
Promedio			**14.40±0.20**				

$Y= -58.22+24.57 (sem) – 2.8 (Sexo) + .037 (Nivel de pigmentación) -1.93 (sem)^2$ $R^2= 810$ $P< 0.01$

Cuadro 9

Pigmentación cutánea del pollo de engorda a la séptima semana de edad

Tratamiento	Hembras	Machos	Promedio
1. 65 ppm	20.67 ± 1.22	16.16 ± 1.31	**18.49 ± 0.87** ^{c}
2. 92 ppm	20.36 ± 1.17	19.37 ± 1.31	**19.74 ± 0.87** ^{bc}
3. 119 ppm	24.24 ± 1.17	20.67 ± 1.26	**22.47 ± 0.86** ^{ab}
4. 146 ppm	25.97 ± 1.17	23.08 ± 1.26	**24.52 ± 0.86** ^{a}
5. 173 ppm	28.11 ± 1.17	23.74 ± 1.37	**26.02 ± 0.88** ^{a}
6. 200 ppm	26.84 ± 1.17	23.93 ± 1.26	**25.37 ± 0.86** ^{a}
PROMEDIO	**24.36 ± 0.48**^{a}	**21.17 ± 0.53** ^{b}	

Diferente letra en una misma columna o fila muestra diferencia estadística (P<0.05)

Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos que forman parte de ésta línea de investigación donde Muñoz (2009*),* reportó que las hembras tienen mayor capacidad de pigmentación que los machos y ganaron en promedio 1.77 unidades de amarillamiento mas que los machos del día 21 al 49 de edad al combinar diferentes niveles de energía y xantofilas en la dieta de estas aves, la diferencia en la pigmentación cutánea entre sexos se relacionaron a que la cantidad de grasa es mayor en hembras que en machos. Los estrógenos inducen un incremento en la grasa corporal y abdominal mayor en hembras que en machos (Leclercq, 1984; Ren-Yu y Walter, 1981). Este hecho también tienen relación con el tiempo de consumo de xantofilas, ya que este proceso es un fenómeno acumulativo y los diversos tejidos responden de distinta manera. Es diferente el tiempo en el que se movilizan los pigmentos a la grasa corporal, piel o tarsos. El metabolismo de carotenoides en la grasa corporal suele ser muy rápido, por lo que un cambio en el nivel de pigmento se observará a corto plazo, mientras más días se proporcione a las aves alimento con pigmento amarillo, mayor será el depósito en los diversos tejidos (Muñoz , 2009; Aceves 2004). El punto de saturación se alcanzó a las 6 semanas con 2 días y esto se relaciona con lo reportado por Aceves (2004), quien observó que a la sexta semana se alcanza el punto máximo de saturación en el intestino, y debido a esto sin importar cuánto pigmento ingiera el ave, no aumenta su asimilación y por consecuencia tampoco su depósito en la piel. Sin embargo; hace falta realizar más estudios para confirmar

este hecho. De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir que:

- Se observó un punto de saturación (b+) diferente para hembras y machos; así como para cada tratamiento de acuerdo al nivel de xantofilas en la dieta. Pero independientemente de la concentración de pigmento en la dieta, la máxima coloración de la piel del pollo de engorda macho y hembra se obtuvo a los 23 días después de haber adicionado las xantofilas amarillas saponificadas de flor de *Tagetes erecta* en el alimento.
- Las hembras pigmentaron 2.80 unidades de amarillamiento más que los machos.
- Por cada parte por millón de incremento de xantofilas amarillas en la dieta, el pollo de engorda obtuvo 0.037 unidades más de amarillamiento en la piel.

Experimento 5
Objetivo
Evaluar el efecto del nivel de iluminación ambiental sobre el depósito de pigmento en la piel del pollo de engorda hembra y macho.

Material y Métodos
1000 pollos de engorda (500 hembras y 500 machos) Cobb de 21 días de edad fueron distribuidos aleatoriamente en 5 tratamientos con 4 repeticiones de 25 aves cada uno en corrales en piso. Los tratamientos constaron en proporcionar 90 ppm de xantofilas de *Tagetes erecta* en el alimento de todas las aves *y* diferentes niveles de iluminación natural (10, 25, 50, 65 y 100%) hasta el día 49 de edad.
Los niveles de iluminación ambiental se proporcionaron por medio del uso de mallas de polietileno o mallasombra de diferentes cierres de tejido.
La pigmentación cutánea se midió *in vivo* 2 veces por semana en la zona aptérica costal derecha de todos los pollos con un colorímetro de reflactancia Minolta CR 400®, el amarillamiento cutáneo se registró con los valores de b (unidades colorimétricas en amarillos).

Resultados
No se observó un efecto en la ganancia de peso por los diferentes niveles de iluminación. Las hembras ganaron menos peso que los machos, y no se encontró ninguna interacción entre sexo y luz. En relación con el consumo de alimento, sólo se encontró efecto del sexo, pues los machos consumieron mayor cantidad de alimento, y por lo tanto de pigmento, que las hembras, y el índice de conversión fue menor para los machos.

Los resultados obtenidos del día 21 a 49 de edad mostraron un efecto cuadrático para los diferentes niveles de iluminación así como para los diferentes días de consumo de alimento, esto es expresado mediante la siguiente ecuación, en donde $Y= 2.62+0.015*Luz-1.46*Sexo+1.55*tcp-0.035*tcp^2-0.0001*Luz^2$; la cual nos explica que por cada uno por ciento de intensidad de la luz natural, la pigmentación del pollo se incrementará 0.015 unidades en b de amarillamiento cutáneo. Las hembras pigmentan 1.46 unidades en b más que los machos y por cada día que consumen el pigmento en la dieta el pollo de engorda incrementa 1.55 unidades de amarillamiento en la piel.

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por otros estudios donde reportan que el pollo de engorda criado en casetas abiertas con iluminación natural logra una mejor pigmentación amarilla en la piel que aquel que se cría en casetas cerradas (Fletcher et al., 1977; Janky et al., 1985; Julius et al., 1986).

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir que:

- Por cada incremento de 1% en la intensidad de la luz, la pigmentación amarilla cutánea del pollo se incrementará 0.015 unidades en b
- Las hembras pigmentan 1.46 unidades de amarillamiento en b más que los machos
- Por cada día que se adiciona pigmento en las dietas el pollo incrementa 1.55 unidades de amarillamiento en piel.
- La información obtenida podrá tener implicaciones para favorecer la pigmentación cutánea en pollos machos y hembras.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) de la DGAPA (proyecto IN203910-3), UNAM.

A Industrias Vepinsa, S.A. de C.V por la donación del pigmento empleado en todas las pruebas.

Literatura citada

1. Aceves AMG. Cinética de la absorción, transporte y deposición de luteína en pollos de engorda. Tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. (UNAM). 2004.
2. Alpízar, S. O. Respuesta de los parámetros productivos de pollos de engorda a diferentes niveles de energía metabolizable. Revista México Veterinaria 1993;24(3):211-215.
3. Ávila GE, Pigmentación en: Anabólicos y aditivos en la producción pecuaria. 1ª edición. México D.F.: Sistema de educación continua en producción animal. 1990: 239-249.
4. Brown, H.B. and McCartney,M.G.: Effects of dietary energy and protein and feeding time on broiler performance. Poult Sci 1982;61:304-310.
5. Castañeda MP, Hirschler EM, Sams AR. Skin pigmentation evaluation in broilers fed natural and synthetic pigments. Poultry Science. 84: 143-147. 2005.
6. Collins WM, Thayer SC, Skoglund WC. Breed and strain differences in shank pigmentation in growing chickens.
7. Coon, C.N., Becker, WA. and Spencer, J.V.: The effect of feeding high energy diets containing supplemental fat on broiler weight, feed efficiency and carcass composition. Poult Sci 1981;60:1264-1271.
8. Cuca GM. Ávila GE. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de patronato universitario. Departamento de Zootecnia. 2009.Williams WD. Origin and impact of color on consumer preference for food. Poult Sci 1992;71:744-746.
9. Cuca GM, Ávila GE, Pro MA. Alimentación de las aves. 9ª ed. Edo. de México: Universidad Autónoma de Chapingo, 2008.
10. Fletcher DL, Janky DM, Voitle RA, Harms RH. The Influence of Light on Broiler Pigmentation. Poult Sci May 1977 vol. 56 no. 3 953-956
11. Franchini A, Padoa. EI pigmenti nell'alimentazione del pollo da carne. Rivista di Avicoltura 1996;(65):22-30.
12. Hencken H (1992) Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on
13. pigmentation. Poult Sci, 71:711-717.
14. Janky DM, Voitle RA, Harms RH. The Influence of Different Xanthophyll-Containing Feedstuffs on Pigmentation of Broilers Reared in Open and Windowless Houses. 1985. Poultry Science 64: 925-931
15. Leclercq B. Adipose tissue metabolism and its control in birds, Poult Sci 1984:63:2044-2054

16. Martínez PM, Cortes CA, Avila GE. Evaluation of three pigment levels of marigold petals (*Tagetes erecta*) on skin pigmentation of broiler chicken. Tec. Pecu. Mex. 2004; 42 (1): 105-111.
17. Muñoz DJI. Evaluación de la pigmentación con diferentes niveles de energía metabolizable y de xantofilas amarillas en la piel del pollo de engorda. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (UNAM) 2009.
18. Pardio VT, Landin LA, Waliszewski KN, Badillo C, Pérez GF. The effect of acidified soapstocks on feed convertion and broiler skin pigmentation. Poultry Science 2001;80:1236-1239
19. Pérez Vendrell AM, Hernández JM, Llaurado L, Schierle J, Brufau J. Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. Poultry Science. 80: 320-326. 2001
20. Raghavan V. Pigmentation in broilers. FEED MIX 2001;9(3):14-15.
21. Ren-Yu T, Walter AB. Growht patterns of body and abdominal fat weights in male broiler chickens. Poult Sci 1981;60:1001-1106.
22. Tyczkowski JK. Hamilton PB. Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester, a carotenoid extracted from Marigold (Tagetes erecta). Pou Sci 1986;65 1526-1531.

Regresar a lista de contenidos

VARIABILIDAD GENÉTICA DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* (GRUPO B) OBTENIDOS DE HÍGADOS DE POLLO PARA CONSUMO HUMANO

Martín Talavera Rojas*, Nydia Edith Reyes Rodríguez, Salvador Lagunas Bernabé, Pomposo Fernández Rosas, Vladimir Morales Erasto, Edgardo Soriano Vargas

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
mtr0035@yahoo.com.mx.

Resumen

Se determinó la frecuencia de aislamientos de *Salmonella* spp en hígados de pollo para venta, en cuatro mercados de la ciudad de Toluca, México. El aislamiento bacteriológico se realizó de acuerdo a la norma NOM-114-SSA1- 1994 para la determinación de *Salmonella* en alimentos. Se realizó la prueba de ERIC-PCR para determinar la variabilidad genética de las cepas de *Salmonella* aisladas. De un total de 520 muestras, 7 (1.34 %) resultaron positivas a *Salmonella* serogrupo B (*typhimurim*). En el ERIC-PCR se observaron cuatro perfiles, encontrando similitud entre cepas de diferentes mercados, lo cual podría indicar que el manejo que se les da a las canales y vísceras es de suma importancia, además que la presencia en hígados de pollo para consumo humano debe ser considerado como una fuente importante de infección, ya que cualquier serovariedad de esta bacteria representa un potencial de infección para el humano.

Palabras clave: Hígados de pollo*, Salmonella,* Variabilidad-genética.

Introducción

La incidencia de salmonelosis de origen alimentario ha aumentado considerablemente en el mundo industrializado y ha alcanzado proporciones epidémicas en algunos países (11,12,20). En México se han encontrado porcentajes elevados de contaminación en la carne de pollo y cerdo (21.3 a 36.4 %) (28).

En Estados Unidos durante el 2007 se presentaron 65 casos de *S. montevideo* asociados a la exposición de pollos vivos y tiendas de alimento (5). Este incremento es debido a la combinación de factores relacionados con el desarrollo en la industria en todas las fases de producción de alimentos, cambios en la práctica del manejo de los alimentos, así como el almacenamiento, distribución y preparación de los mismos (22,28).

La salmonelosis es una infección de importancia en salud animal y en salud pública, debido al impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países en desarrollo como en países que no han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene adecuados (12).

Al hablar de *Salmonella* como posible riesgo de infección por el consumo de productos de origen animal, se debe hacer referencia única y exclusivamente a *S. typhimurium* y *S. enteritidis* (1-4, 10, 11), las cuales causan la mayoría de los brotes que afectan a personas, y constituyen uno

de los principales problemas en muchos países. En humanos principalmente a personas menores de cinco y mayores de 60 años (1,12).
En los países industrializados se han establecido sistemas de vigilancia, que les permite conocer con relativa certeza la incidencia de las infecciones por *Salmonella* y otros patógenos causales de diarrea, así como el impacto de cada una de éstas en la morbilidad y mortalidad de la población (6,16).

En México no se cuenta con estadísticas reales de salmonelosis debido a la falta de un sistema de vigilancia epidemiológica, lo que impide identificar las principales serovariedades en las diferentes clases de alimentos, así como el riesgo que existe para la salud de los seres humanos. Esta información es indispensable para establecer las medidas necesarias para disminuir la morbilidad y mortalidad por las infecciones causadas por *Salmonella* (29). En el valle de Toluca en un estudio transversal realizado en mataderos de aves, se observó una frecuencia de aislamiento de 3.5 % y en rastros municipales de cerdos de 26.9 % (22).
En los últimos años se han desarrollo nuevas técnicas moleculares de tipificación basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El ERIC-PCR (amplificación de secuencias intergénicas de consenso repetitivas de enterobacterias), es una técnica de tipificación utilizada para estudiar la relación clonal en diversas bacterias Gram negativas. Esta técnica está basada en la existencia de un elemento de ADN intergénico repetido a lo largo del genoma de muchas bacterias. Las secuencias de ERIC son de 126 pb de largo y parecen estar restrictas a regiones del genoma bacteriano, en regiones intergénicas de operones policistrónicos.

Una secuencia consenso de estos elementos repetitivos fue usada para diseñar primers que han sido utilizados en muchas especies bacterianas desde entonces. Estos primers se usan para amplificar por PCR, fragmentos del genoma entre cada elemento repetitivo, generando un patrón diferente para cada cepa (21).
El objetivo de este estudio fue conocer la diversidad genética de *Salmonella* spp en aislamientos obtenidos en hígados de pollo destinados al consumo humano, expedidos en los mercados públicos de la ciudad de Toluca, México.

Materiales y métodos
El tamaño de muestras se obtuvo utilizando la fórmula para poblaciones infinitas con un nivel de confianza de 95%. Una vez que se determinó el tamaño total de la muestra (520), se ponderaron de forma proporcional al número de locales establecidos en los cuatro mercados de la ciudad de Toluca, Estado de México: el mercado J=18 locales, S=20 locales, M=8 locales y H=6 locales, de los cuales se obtuvieron 10 muestras de hígado de pollo por local.
Las muestras se tomaron aleatoriamente y fueron conservadas en refrigeración (4 °C); posteriormente se transportaron al Centro de Investigación de Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) en el Área de Bacteriología; de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la Universidad Autónoma del Estado de México. El aislamiento bacteriológico e identificación bioquímica se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana-114-SSA1-1994 (19).

Los aislamientos de *Salmonella* fueron sembrados en placas de agar base sangre (BAB) incubados a 37 °C durante 18 a 24 h. Se preparó una suspensión densa de crecimiento en la placa de BBA en 0.5 ml de solución salina. La concentración del antígeno fue aproximadamente al tubo 3 del nefelómetro de Mac Farland; y se probaron con los cinco antisueros (sero-grupos B, C1, C2, D y E) más frecuentemente encontrados en México (22).
La extracción de ADN se realizó utilizando un Kit comercial Genomic DNA Purification a partir de $2x10^9$ UFC, se obtuvo un rendimiento de 30 ng en 100 µl (MBI Fermentas Inc.).

Para la prueba ERIC-PCR, los iniciadores utilizados fueron ERIC-1R (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC- 3') y ERIC-2 (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3') (24). Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1%, y se visualizó y capturó la imagen con un fotodocumentador (UV Transilluminator UVP).
Los resultados fueron evaluados por medio de la prueba de Ji cuadrada (25). Para el análisis de los patrones de bandas se elaboró un registro de patrones de bandeo, y a cada banda se le asignó en una matriz binaria como ausente "0" o presente "1". Para conocer las relaciones genéticas y la agrupación de los aislamientos se hizo un dendograma usando el programa POPGENE (ver. 1.32; Molecular Biology and Biotecnology Centre, University of Alberta and Center for international Forestry Research, AB, Edmonton, Canada) (8,27), usando el método UPGMA (Modificado del procedimiento NEIGHBOR de la versión 3.5 de PHYLIP) (18), basado en la matriz de distancias genéticas de Nei (18).

Resultados

De un total de 520 muestras (hígado de pollo), se obtuvieron 7 (1.34 %) aislamientos de *Salmonella* serogrupo B (*typhimurim*). El porcentaje de aislamiento para cada Mercado fue: J=0.56, S=0.5, M=2.5 y H=5.0 % (P>0.05; Cuadro 1). En el ERIC-PCR, se identificaron cuatro patrones de banda: el primer patrón es del mercado M-A y S-A con un 86 % de similitud, el segundo patrón es H-B y H-C con el 100 % de similitud, el tercer patrón es M-B y H-A el cual tiene el 100 % de similitud, y el ultimo patrón es J-A (Cuadro 2, Figura 1), y se muestra en el dendograma de las cepas de *Salmonella typhimurium* aisladas (Figura 2).

Discusión

Durante las operaciones de sacrificio se producen fenómenos de inter-contaminación, lo que provoca una proliferación de patógenos en las canales inicialmente sanas. Así, la carne y vísceras de pollo son las responsables de numerosas intoxicaciones alimentarias en México (12,22). La contaminación inicial de la piel es de especial importancia, pues se propaga de la piel a la carne durante el despiece y las transformaciones sucesivas del producto, por lo que la

vigilancia de *Salmonella* en todas las etapas de la cadena de procesamiento de los alimentos constituye un elemento importante en la investigación de la epidemiología de la salmonelosis transmitida por alimentos y en el desarrollo e implementación de estrategias eficientes de control de la misma, ya que es una zoonosis de distribución mundial (29).

La frecuencia obtenida (1.54 %) en este trabajo se encuentra por debajo de lo reportado por Zepeda (29), quien encontró una prevalencia de 3.5 % en la misma zona de muestreo pero realizado en rastro. Otros países reportan 4.7 % en Zambia (13), España 11.3 % (23), Colombia 16.2 % (23), Francia 16.7 % (23), Brasil 20 % (20), Dinamarca 23 % (23), Etiopía 23.6 % (17), Venezuela 32.5 % (14), Estados Unidos 38 % (3) y Japón 94.1 % (15). Sin embargo se debe de considerar que el tipo de muestreo que se realizó en el presente estudio fue con una duración de tres meses, realizándose el muestreo por mercado; los otros estudios realizados como en Zambia el periodo de observación no se reporta (8), en Colombia y Brasil se realizó durante un año (20,22), en Etiopia en el periodo 1997-2002 (17), en Venezuela se realizaron en toda una década (14), en Estados Unidos tuvieron una duración de dos años (3), en Japón de tres años (15), y Dinamarca, España y Francia de recopilaciones de informes de la OMS durante 1995 (23). Esto es importante señalarlo, ya que como se puede observar, la duración del muestreo y el tamaño de la muestra van en relación directa con el porcentaje de positividad, ya que entre más tiempo pasa, se puede obtener un mayor número de cepas.

En los resultados obtenidos por medio de ERIC-PCR nos indica la similitud entre asilamientos del mercado M como el mercado H y S, lo que podría sugerir que posiblemente el distribuidor de los mercados sea el mismo, ya que la toma de muestras para cada mercado se realizó en periodos distintos; al contrario del Mercado J que se encontró en un perfil diferente, pero cada una de las cepas se encuentran con cierto porcentaje de similitud y distancias genéticas cercanas; esto nos indica que la procedencia y el manejo de las canales tiene mucha importancia. Los patrones de ADN que se obtienen con la ERIC-PCR suelen ser menos complejos que los generados mediante otras técnicas, y se caracteriza por su simplicidad (no requiere el uso de enzimas de restricción, ni técnicas electroforéticas especiales), rapidez (menos de 24 h) y su relativo bajo costo (26).

Cuadro 1. Frecuencia de aislamiento de *Salmonella typhimurium* (grupo B) en mercados municipales

Mercado	Numero de muestras	Aislamientos	Frecuencia %
J	180	1	0.56
S	200	1	0.50
M	80	2	2.50
H	60	3	5.00
Total	520	7	1.35

J= Benito Juárez; S= 16 de septiembre; M= José María Morelos; H= Miguel Hidalgo.

Cuadro 2. Estimación de las distancias genéticas (debajo de la diagonal) y similitud genética (encima de la diagonal), según la fórmula de Nei (22), para los siete aislamientos de *Salmonella typhimurium*

	1	2	3	4	5	6	7
1	******	0.3333	0.3333	0.7333	0.7333	0.6000	0.8667
2	1.0986	******	1.0000	0.4667	0.4667	0.7333	0.4667
3	1.0986	0.0000	******	0.4667	0.4667	0.7333	0.4667
4	0.3102	0.7621	0.7621	******	1.0000	0.6000	0.8667
5	0.3102	0.7621	0.7621	0.0000	******	0.6000	0.8667
6	0.5108	0.3102	0.3102	0.5108	0.5108	******	0.6000
7	0.1431	0.7621	0.7621	0.1431	0.1431	0.5108	******

Figura 1. Dendograma de siete aislamientos de *Salmonella typhimurium* obtenido con base en la distancia genética de Nei (22), método UPGMA

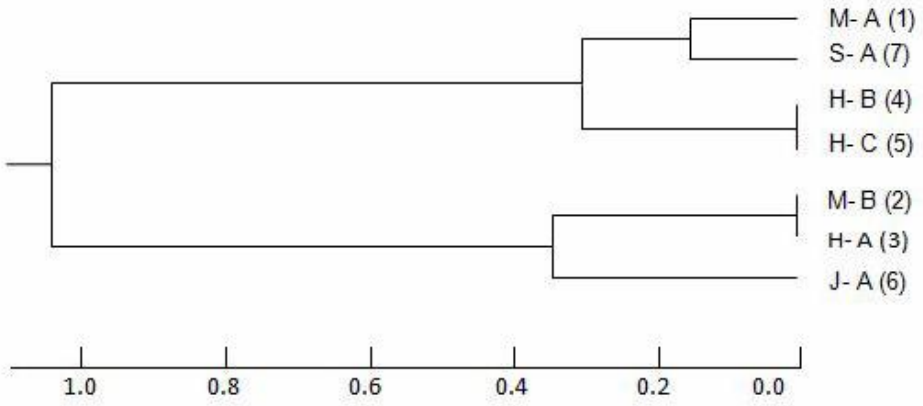
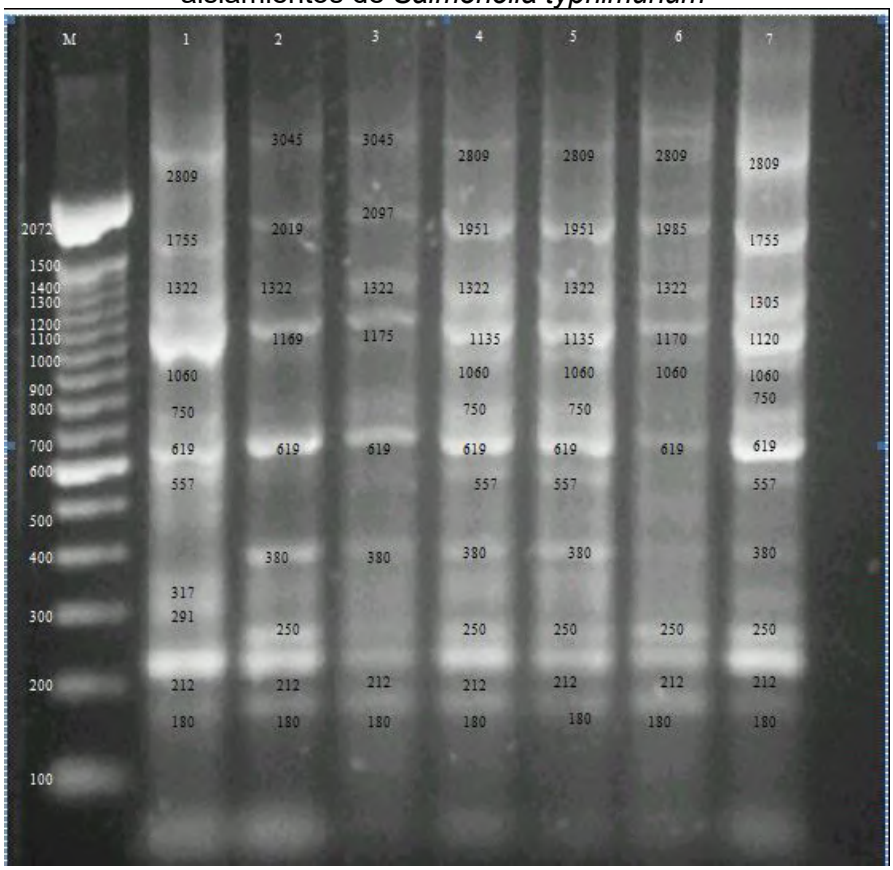


Figura 2. Perfiles de ERIC- PCR obtenidos a partir de siete aislamientos de *Salmonella typhimurium*



Líneas: M) marcador de peso molecular de 100-2072 bp. 1) aislamiento del mercado M-A. 2) aislamiento del mercado M-B. 3) aislamiento del mercado H-A. 4) aislamiento del mercado H-B. 5) aislamiento del mercado H-C. 6) aislamiento del mercado J-A. 7) aislamiento del mercado J-A.

REFERENCIAS

1. Barrow AP. *Salmonella* control past, present and future. Avian Pathol 1993;(22):651-669.
2. Betancor L, Schelotto F, Martinez A, Pereira M, Algorta G, Rodríguez MA, Vignoli R, Chabalgoity JA. Random amplified polymorphic DNA and phenotyping analysis of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* isolates collected from humans and poultry in Uruguay from 1995 to 2002. J Clin Microbiol 2004;(42):1155-1162.
3. Byrd JA, DeLoach JR, Corrier DE, Nisbet DJ, Stanker LH. Evaluation of *Salmonella* serotype distributions from commercial broiler hatcheries and grower houses. Avian Dis 1999;(43):39-47.
4. Castellan DM, Kinde H, Kass PH, Cutler G, Breitmeyer RE, Bell DD, Ernst RA, et al. Descriptive study of California egg layer premises and analysis of risk factors for *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* as characterized by manure drags wabs. Avian Dis 2004;(48):550-561.
5. Davies R, Breslin M, Corry JE, Hudson W, Allen VM. Observations on the distribution and control of *Salmonella* species in two integrated broiler companies. Vet Rec 2001;(149):227-232.
6. De Jong BK, Ekdahl. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associatedand candidate countries. BMC Public Health 2006;10:6:4.
7. Espinal MP, Prieto SD, Otero JV, Máttar VS. Presencia del gen de invasividad INV A en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos del Caribe colombiano. Rev Cubana Salud Pública 2006;(32):1-6.
8. Felsenstein J. Phylip Manual, version 3.3. University Herbarium, University of California, Berkley, CA, USA. 1990.

9. Frecuencia de aislamiento de *Salmonella* spp durante el proceso de matanza del pollo de engorda en mataderos de la ciudad de Toluca, Estado de México. [tesis licenciatura]. Toluca, México, Universidad Autónoma del Estado de México; 1994.
10. Gast KR, Guard-Bouldin J, Holt SP. Colonization of reproductive organs and internal contamination of eggs after experimental infection of laying hens with *Salmonella heidelberg* and *Salmonella enteritidis*. Avian Dis 2004;(48):863-969.
11. González FT, Rojas HRA. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. Salud Publica Méx 2005;(47):388-390.
12. Gutiérrez-Cogco L, Montiel-Vázquez E, Aguilera-Pérez P, González-Andrade MC. Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. Salud Pública Méx 2000;(42):490-495.
13. Hang'ombe BM, Sharma RN, Skjerve E, Tuchili LM. Occurrence of *Salmonella enteritidis* in pooled table eggs and market-ready chicken carcasses in Zambia. Avian Dis 1999;(43):597-599.
14. Infante DM, Noguera C, León JA, Herrera JA, Valdillo P. Aislamiento de *Salmonellas* en aves y pollos beneficiados. C.N.I.A.P. 1991;(37):1-5.
15. Matsumoto A, Miyama M, Murakami S. Comparison of *Salmonella* isolation rates in different types of egg-layer hen houses in Chiba, Japan. Avian Dis 2001;(45):195-200.
16. Mead PS, Slustsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis 1999;(5):607-625.
17. Molla B, Alemayehu D, Salah W. Sources and distribution of *Salmonella* serotypes isolated from food animals , slaughterhouse personnel and retail meat products in Ethiopia: 1997-2002. Ethiop J Health Dev 2003;(17):63-70.
18. Nei M. Genetic distance between populations. Am Naturalist 1972;(106):282-283
19. NOM (Norma Oficial Mexicana)-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.
20. Silva EN, Duarte A. *Salmonella enteritidis* em aves: retrospectiva do Brasil. Rev Bras Cienc Avic 2002;(4):85-100.
21. Soriano VE, Téllez G, Hargis M, Newberry L, Salgado-Miranda C, Vázquez C. Typing of Haemophilus paragallinarum Strains by Using Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Based Polimerase Chain Reaction. 2004;(48):890-895.
22. Talavera RM, Vázquez CJC, Flores BR, Robles GF, Lagunas BS, Alonso FMU. *Gyr*A gene mutations and fluoroquinolone resistance in *Salmonella* isolates from pigs in central Mexico. Vet Rec 2007;(160):630-632.
23. Uribe C, Suárez MC. Salmonelos is no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. Colomb Med 2006;(37):1-9.
24. Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. Nucleic Acids Res 1991;(19):6823-6831.
25. Wayne WD. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª ed. México: Ed. Limusa; 2006.
26. Wei G, Pan L, Du H, Chen J , Zhao L. ERIC-PCR fingerprinting-based community DNA hybridization to pinpoint genome-specific fragments as molecular markers to identify and track populations common to healthy human guts. J Microbiol Methods 2004;(59):91-108.
27. Yeh FC, Boyle TJB. Population genetics analys is of codominant and dominant markers and quantitative traits. Belgium J Bot 1999;(129):157.
28. Zaidi MB, Calva JJ, Estrada-García MT, León V, Vázquez G, Figueroa G, López E, *et al*. Integrated food chain surveillance system for *Salmonella* spp in Mexico. Emerging Infec Dis 2008;(14):429-435.
29. Zepeda EVL. Es tudios mexicanos sobre Salmonella: epidemiología, vacunas y biología molecular. Rev Lat Microbiol 2006;48:2:121-125.

Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN DE UN TIPO MUDA FORZADA EN GALLINAS PRODUCTORAS DE HUEVO PARA PLATO

Emanuel Saldaña Recio, Víctor H. Brito Damián
Euronutec Premix SA de CV
esaldana@gponutec.com vbrito@gponutec.com

Resumen
La muda inducida o pelecha de la gallina ponedora se utiliza para obtener un segundo ciclo de producción de huevo, esta técnica se utiliza desde hace décadas. En este estudio se revisó un método de muda forzada con 144,876 gallinas de una estirpe moderna. La estrategia de alimentación consistió en el retiro total de alimento durante 10 días; transcurrido este período, se ofrecieron 50, 75 y 100 g/d durante las siguientes tres semanas respectivamente. A partir de la cuarta semana la gallina recibió alimentación a libre acceso. Durante la muda se ofreció agua ad-libitum. Se evaluó el porcentaje de producción, peso del huevo, número de huevos por ave día, número de huevos por ave alojada y % de mortalidad durante la muda y el segundo ciclo. Durante 37 semanas de producción en el segundo ciclo, se obtuvo un 0.08 % mejor producción respecto al estándar (77.3 vs. 76.72), el peso de huevo fue 2.77 % mayor (65.07 vs. 63.3), el número de huevos por ave día se encontró similar a lo propuesto por la casa genética, sin embargo, en el número de huevos por ave alojada se mostró un 7.8 % por debajo de la referencia (175.2 vs. 190.2).Lo anterior se debió a que la mortalidad acumulada de las aves fue 2.2 veces mayor al señalado por la casa genética en el segundo ciclo de producción (10.9 vs. 4.8).
Palabras clave: Muda inducida o forzada, comportamiento productivo. Número de huevos por ave día y alojada, peso del huevo, mortalidad en el periodo de muda.

Summary
Molting is used to obtain a second cycle of production in laying hens to reach better performance. This technique is used in successfully way from long time ago. In this field study, it was used a molting programme with 144,876 laying hens divided en two groups. To reach this molting programme we stopped feed Intake during 10 days. After that we offered 50, 75 and 100 g/d for the next coming 3 weeks, respectively. Since the 4th week laying hens received feed intake ad libitum. It was evaluated laying hen production, egg weight, Number of eggs/day/hen, Number of eggs/hen caged and mortality in the molting period. During 37 weeks, it was obtained a 0.08% better laying production regarding the standard (77.3 vs 76.72), egg weight was increased 2.77% (65.07 vs 63.3). The number of eggs per day/hen was similar than the standard but when we analyzed the Number of eggs per hen caged it was showed a 7.8% less than standard. This results was obtained because the mortality was 2.2 times higher than standard.
Key words: Molting, performance production, number of eggs /day/hen, number of eggs/hen caged, egg weight, mortality.

Introducción
La muda inducida o pelecha de la gallina ponedora se utiliza para obtener un segundo ciclo de producción obteniendo una mayor cantidad de huevos producidos durante toda la vida de la gallina y puede representar una mejora en la rentabilidad de las empresas al incrementar la

calidad interna y externa del huevo. La muda forzada se ha utilizado desde hace décadas, por ejemplo: a) En EE.UU. se usa en más del 75 % de las parvadas de gallinas que producen huevo para plato (Bell, 2003), b) En México, la muda forzada se utiliza en promedio en un 35 % de la parvadas. c) En la zona de los Altos Jalisco, México, se utiliza aproximadamente en el 45 % de las parvadas (comunicación personal). El presente trabajo de campo tuvo como objetivo conocer el impacto de una forma de pelecha en el comportamiento productivo posterior en un segundo ciclo de producción.

Pollonas de primer ciclo (18 semanas).

Aves en proceso de la muda de pluma forzada (79 semanas).

Aves de segundo ciclo de producción (después de 15 semanas de muda de pluma forzada (95 semanas de edad).

CICLO DE VIDA DE UNA GALLINA	
ETAPA	EDAD (semanas)
CRIANZA	0 a 17
PRIMER CICLO	18 a 76
PELECHA	77 a 81
SEGUNDO CICLO	82 a 120

Materiales y métodos

La evaluación se realizó en Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Su ubicación en las coordenadas 20º 54' 50" y los 21º 01' 30" de latitud norte y los 102º 33' 10" a los 102º 56' 15" de longitud oeste a una altura de 1,800 metros sobre el nivel del mar. El clima del municipio es semiseco con invierno y primavera secos. La temperatura media anual es de 19°C, y tiene una precipitación media anual de 874.7 milímetros con régimen de lluvia en los meses de Junio, Julio y Agosto. Los vientos dominantes son de dirección sureste. El promedio de días con heladas al año es de 9.5.

Manejo de las aves

Se utilizaron dos parvadas con un total de 144,876 aves, las cuales iniciaron el proceso de muda forzada a las 77 semanas de edad, estas aves se dividieron en dos granjas (PAR 1 y PAR 2). Se evaluó el peso de 600 aves por parvada durante todo el período de la restricción de alimento. El método de muda forzada que se utilizó se describe en el Cuadro 1. Este método no consideró la restricción del consumo de agua. Se agregó 50 gramos de calcio granulado por ave/d durante la primera semana y una reducción del peso vivo calculada entre el 25 y 30 %.

Cuadro 1. Programa de restricción y suministro de los alimentos.

METODO DE MUDA FORZADA		
ACCION	PERIODO	ACUMULADO
PRIVACION DE ALIMENTO	10	10
50 GRAMOS POR AVE	7	17
75 GRAMOS POR AVE	7	24
100 GRAMOS POR AVE	7	31

Se evaluó la reducción del peso del ave, % de mortalidad de las aves durante el proceso de muda, % mortalidad de las aves durante el proceso de producción (segundo ciclo), % de producción, peso del huevo, número de huevos por ave (día / alojada), masa de huevo por ave (día / alojada) y la conversión de alimento por ave alojada de dos parvadas. Todos los parámetros fueron comparados respecto al estándar de la estirpe.

Resultados

El peso vivo del ave se redujo a un 26.54%, en ambas parvadas (Ver figura 1). Este parámetro coincide con lo recomendado por Baker et al., 1983. La mortalidad durante el período de muda forzada fue de 3.15 veces más en promedio que el señalado por el estándar. Lo anterior coincide con la mortalidad en producción la cual fue 2.2 veces más que el estándar. Estos resultados son diferentes a los encontrados por Baker et al., 1981, quien encontró mortalidades superiores cuando se reduce de un 30 a 35 % de su peso vivo. Con respecto al % de producción, en la parvada 1, se encontró un resultado muy similar a lo señalado por la empresa genética. Sin embargo, el porcentaje de producción de la parvada 2 fue superior en un 2 %. Los resultados en % de producción contrastan con los encontrados por Koel et al., en 1992 y Bell en el 2003 los cuales encontraron que cuando se tiene un periodo de ayuno menor a diez días se afecta el

porcentaje de producción. Por otra parte, el peso de huevo fue mayor en ambas parvadas en un promedio de 2.73 % mejor que el del estándar (Ver figura 2). Con respecto al número de huevos por ave día, se encontró un resultado muy similar al referido por el estándar. Por esta razón, la masa de huevo por ave día superó el estándar en 5.2 %. Como se muestra en los resultados en el Cuadro 2, la muda forzada establecida fue eficaz para obtener conforme al estándar los principales parámetros productivos. Es importante considerar que la conversión de alimento por ave alojada fue afectada principalmente por el aumento de la mortalidad. Esto ofrece una oportunidad para establecer estrategias que consideren la reducción en este rubro.

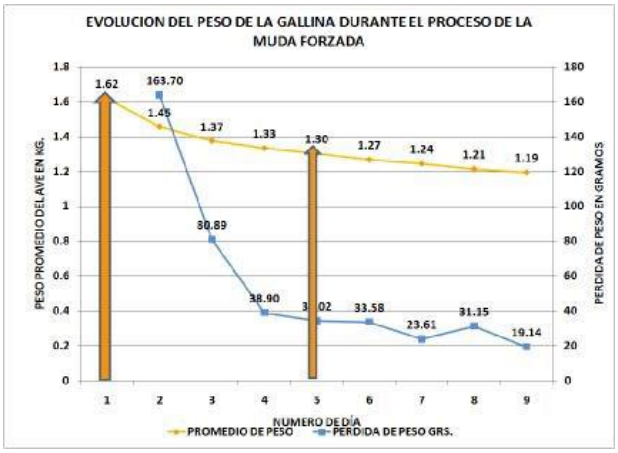


Figura 1. Se observa que a los nueve días de restricción de alimento, se redujo el 26.54 % del peso vivo del ave (de 1.62 a 1.19 kg), y esta reducción (0.43 kg).

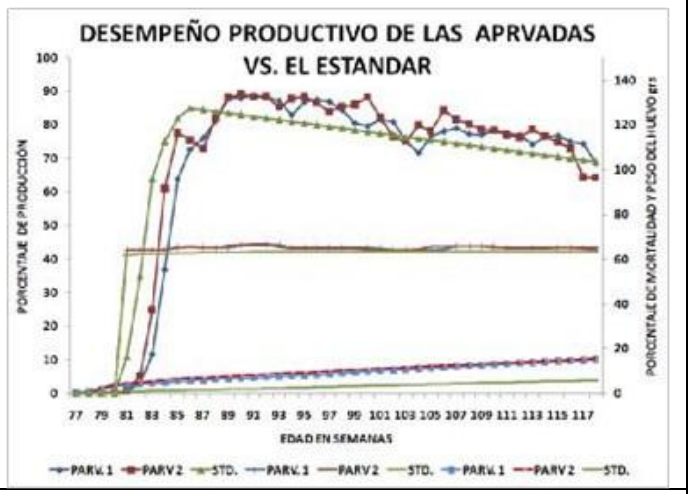


Figura 2. Se observa la producción por ave día, el peso del huevo y la mortalidad acumulada del ave por parvada comparadas contra el estándar

Discusión

Los resultados mostraron que los estándares de productividad señalados por las empresas de genética se pueden alcanzar e incluso superar. Sin embargo, la mortalidad de las aves tanto en el proceso de muda forzada, como en el periodo de producción, encontrada en esta prueba de campo sugieren una reconsideración para establecer una norma más ajustada a las condiciones promedio de la avicultura en la zona occidente. Es importante reevaluar estrategias nutricionales para ayudar a reducir la mortalidad durante el periodo de muda.

Cuadro 2. Comparativo de parámetros de la evaluación de un tipo de muda forzada *vs* estándar.

COMPARATIVO DE PARAMETROS PRODUCTIVOS			
PARAMETROS PRODUCTIVOS	PARVADA 1	PARVADA 2	ESTANDAR
NUMERO DE SEMANAS EN PRODUCCION	37	37	37
PORCENTAJE DE PRODUCCIÓN	76.34	78.33	76.72
PORCENTAJE DE MORTALIDAD DURANTE LA MUDA	4.16	4.97	1.1
PORCENTAJE DE MORTALIDAD DURANTE LA PRODUCCIÓN	11.17	10.63	4.8
PESO DEL HUEVO	65.04	65.1	63.34
NUMERO DE HUEVOS POR AVE DÍA	192.64	197.82	196.56
NUMERO DE HUEVOS POR AVE ALOJADA	173.67	176.73	190.2
MASA DE HUEVO POR AVE DÍA	12.54	12.89	12.45
MASA DE HUEVO POR AVE ALOJADA	11.31	11.51	12.04
CONVERSIÓN DE ALIMENTO AVE DIA	2.487	2.225	2.148
CONVERSIÓN DE ALIMENTO AVE ALOJADA	2.733	2.486	2.224

Implicaciones

1. El pesaje del ave para realizar una muda exitosa debe ser al primer día, quinto día y después del séptimo día se debe realizar un pesaje diario del ave.
2. Se debe realizar una evaluación de la mortalidad para determinar el número de aves caquéxicas.
3. En el presente trabajo se encontraron excelentes resultados en productividad y persistencia de la producción, además se obtuvo una excelente calidad de cascarón. Sin embargo, la mortalidad es un rubro que no se apega al resultado proporcionado por el estándar de las empresas de genética bajo condiciones ideales.
4. Se sugiere seguir ensayando estrategias que nos ayuden a reducir la mortalidad de las aves tanto en el proceso de muda como durante el periodo de producción en la zona occidente del país.

REFERENCIAS

1. Baker, M., J Brake, and G. R. McDaniel, 1983. The relationship between body weight loss during an induced molt and post molt and production, weigh and shell quality in cage layers. Poultry Science 62:409-413.
2. Baker, M., J. T. Brake, and L. M. Krista, 1981. Total body lipid and uterine lipid changes during a forced molt of caged layers. Poultry 60:1593.
3. Bell, D. D. 2003. Historical and current molting practice in the U.S. table egg industry. Poult. Sci 82:956-970.
4. Buxade Carbó, C. 2000. La gallina ponedora. Segunda edición. Ed. Mundipensa. Madrid, España.
5. Koel kebeck, K. W., C. M. Parsons, RW. Leeper, and J. Moshtaglhian, 1992. Effect of duration of fasting post molt laying hen performance. Poultry Sci. 71:434-439.

Regresar a lista de contenidos

EVALUACIÓN DE DOS PROGRAMAS DE INMUNIZACIÓN CONTRA LA INFECCIÓN DE LA BOLSA DE FABRICIO EN POLLO DE ENGORDA UTILIZANDO VACUNAS DE IBF CEPA LUKERT INTERMEDIA DE DIFERENTES CASAS COMERCIALES

Josué Sánchez Morales, Jesús Cabriales Jiménez
Boehringer Ingelheim Vetmedica SA de CV.

Resumen
Este trabajo se realizó para evaluar el comportamiento serológico e histológico de vacunas elaboradas con virus vivos modificados y mismas cepas vacunales de diferentes casas comerciales, elaboradas con cepa Lukert intermedia, correspondientes al virus de la infección de la Bolsa de Fabricio, en pollos de engorda Ross Ross de cero a seis semanas de edad, criados en casetas tecnificadas bajo mismas condiciones de manejo, los cuales fueron separados en dos grupos A y B, así como en diferentes granjas, para evitar el contacto directo entre ambos grupos localizadas en la misma zona geográfica. Los resultados serológicos e histológicos obtenidos fueron analizados por medio del estudio de severidad de lesiones para evaluar los cambios en la bolsa de Fabricio. Por medio de la prueba de ELISA se dio seguimiento a la respuesta generada por la vacunación, así mismo se dio seguimiento por medio de la prueba de inhibición de la hemaglutinación correspondiente a la enfermedad de Newcastle con el fin de ver el desempeño de otra vacuna. Los resultados mostraron títulos de ELISA y HI más altos para el grupo A que para el grupo B en ambas pruebas serológicas. Si bien por su naturaleza de virus vivos ambas vacunas de la Infección de la bolsa de Fabricio tienden a implantarse generando cambios de leves a moderadas en la bolsa de Fabricio, el grupo A muestra un comportamiento propio de una implantación vacunal adecuada mientras que el grupo B presento una disminución progresiva del tejido linfoide presente de la Bolsa de Fabricio lo este hallazgo puede ocasionar una respuesta inadecuada del sistema inmune.
Palabras clave: cepa Lukert intermedia, Infección de la bolsa de Fabricio, estudio de severidad de lesiones.

Abstract
Evaluation of two immunization programs Infection Bursal in broiler strain IBD vaccines using intermediate Lukert different commercial houses. This work was performed to evaluate serological and histological behavior of living virus vaccines with modified same vaccine strains of different pharmaceutical companies, made with strain Lukert intermediate, corresponding to virus infection of the bursa of Fabricius in broilers Ross Ross from zero to six weeks of age, raised in houses technically advanced driving under the same conditions, which were separated into two groups A and B, as well as different farms to avoid direct contact between the two groups located in the same geographic area. Serological and histological results obtained were analyzed by the study of severity of injury to assess changes in the bursa of Fabricius. By means of the ELISA were followed to the response generated by vaccination, and it is followed by testing hemagglutination inhibition for Newcastle disease in order to see the performance of another vaccine. The results showed ELISA titers and HI higher for Group A than in group B in both

serological tests. Although by its nature both live virus vaccines Infection of the bursa causing changes tend to be implemented from mild to moderate in the bursa of Fabricius, group A shows a behavior typical of an appropriate vaccine implementation while group B presented a progressive decrease of lymphoid tissue present bursa of Fabricio exchange can be find inadequate response and trigger the immune system.
Keywords: Strain Lukert intermediate, infection of the bursa, study of severity of injury.

Introducción

La bolsa de Fabricio es un órgano inmunológico, que juega un papel primordial en la inmunidad del ave, distintos factores como el estrés, bioseguridad, vacunación, así como la presencia de agentes infecciosos que pueden afectar el adecuado desarrollo de la bolsa de Fabricio 1. La IBDv (agente de la Infection Bursal Disease Viruses por sus siglas en ingles), causa una enfermedad aguda, altamente contagiosa e inmunosupresora en pollos jóvenes de 3 a 6 semanas de edad, que afecta principalmente a los tejidos linfoides, especialmente la bolsa de Fabricio 2. El agente de la IBDv pertenece a la familia Birnaviridae del género Avibirnavirus. Esta enfermedad tiene gran importancia económica porque puede ocasionar mortalidad elevada ya que predispone a otras enfermedades como: dermatitis gangrenosa, hepatitis por cuerpos de inclusión, colibacilosis, etc, reacciones post vacúnales severas, falla en la respuesta de las vacunas y bajo rendimiento productivo en general. Las células linfoides, especialmente los linfocitos B, son las células blanco primarias de esta enfermedad y es el tejido linfoide de la bolsa de Fabricio el que más se ve afectado. La inmunización de las aves es el principal método que se utiliza para el control de la infección de la bolsa de Fabricio. Se sabe que es importante la inmunización de parvadas reproductoras ya que confiere protección materna a la progenie, estos anticuerpos maternos dan protección ante las infecciones tempranas durante la 1ª a la 3ª semana de edad, esta protección tiene que ser reforzada con vacunas aplicadas en campo recomendadas en pollos, pollas de reemplazo y reproductoras como primera y segunda vacunación. Para esto existen varias vacunas elaboradas con diferentes cepas para el control de IBDV, a mediados de los ochenta, la cepa Lukert intermedia por su capacidad colonizadora mediante pases in vivo, demostró ser capaz de no interferir con los anticuerpos maternos, induciendo una respuesta inmune óptima, sin causar importantes cambios histopatológicos a la bolsa de Fabricio. Las vacunas elaboradas a partir de la cepa Lukert intermedia, son recomendadas para la vacunación en aves que presentan niveles moderados de anticuerpos maternos. Si se tiene un buen conocimiento de este aspecto, las vacunas protegen muy bien al ave al presentarse la enfermedad. El plan de vacunación está sujeto al conocimiento previo del estado de inmunidad pasiva promedio del grupo de aves. Como regla general, los animales con altos títulos de anticuerpos maternos, deben cumplir de 8 a 12 días de edad para aplicar la primera dosis y revacunarlas a los 10 días posteriores. La revacunación asegura la protección de aquellas aves, que neutralizan en parte el virus vacunal, por tener todavía niveles altos de anticuerpos maternos al momento de la aplicación de ésta 3, 4.

Con base a lo anterior este trabajo se condujo para ver el comportamiento paralelo entre dos calendarios de vacunación idénticos de la infección de la bolsa de Fabricio y la enfermedad de Newcastle, con las mismas cepas vacunales en ambos grupos pero de diferentes casas comerciales. La ubicación de las granjas se contemplo en una misma región geográfica, una distancia de 20 kilómetros, que minimiza el riesgo epidemiológico de contaminación entre estos

grupos. Los programas de vacunación se evaluaron por medio de la prueba de ensayo Inmuno Enzimático ligado a enzimas (ELISA), Inhibición de la Hemaglutinación (HI) de la enfermedad de Newcastle (ND) e histopatología por medio del estudio de severidad de lesiones realizado por un especialista en patología aviar.

Material y métodos

Se utilizaron pollos de engorda de la línea Ross Ross, sexado mixto, los cuales fueron alojados desde el primer día en granjas tecnificadas de pollo de engorda comercial, ubicadas en la zona del bajío, alimento y abastecimiento de agua acorde a la nutrición balanceada empleada en la empresa. Se separaron en 2 grupos de 23,000 aves cada uno, en granjas con una distancia de 20 kilómetros entre cada una. Los grupos fueron identificados como A y B.

Se evaluaron 2 vacunas liofilizadas de virus vivo producidas en embrión de pollo del virus de la IBD cepa Lukert intermedia (de laboratorios comerciales conocidos), las vacunas fueron reconstituidas y aplicadas de acuerdo a las recomendaciones propias de cada laboratorio de dilución y dosis.

La primera dosis de las vacunas de la infección de la bolsa de Fabricio y enfermedad de Newcastle para ambos grupos se aplico a los 9 días de edad vía ocular y la segunda dosis a los 18 días vía agua de bebida. Se colectaron 30 sueros a los 0, 7, 17, 28 y 42 días de edad, así mismo 5 Bolsas de Fabricio de cada muestreo a los 7, 17, 28 y 42 días de vida 5,6.

La evaluación serológica se realizo utilizando, el kit comercial de la marca Affinitech, LTD Bursal Gumboro Test kit, con una sensibilidad del 94% y especificidad del 100% 7.

La evaluación histológica se realizó colectando cinco bolsas de Fabricio al sacrificio y se fijaron en formol al 10% bufferado, fueron incluidas en parafina, cortadas y teñidas con hematoxilina eosina. La clasificación de lesiones que presentaron las bolsas de Fabricio, se determinaron microscópicamente y se compararon entre ambos grupos. El sistema de calificación fue basado en la severidad de lesiones donde el histopatológico refiere a una calificación de 0 - ausente, 1 – leve, 2-moderada y 3 – severa. Los cursos de lesiones fueron divididos en agudas, subagudas y crónicas. Las lesiones correspondientes al curso de lesión agudo, contempla la presencia de hiperemia y/o hemorragias, edema, infiltración linfoide sub epitelial, infiltración heterofílica sub-epitelial y apoptosis. El curso subagudo contempla la presencia de hiperplasia epitelial, quistes en epitelio, depleción de zona cortical, depleción de zona medular e hiperplasia de células reticulares y el curso crónico contempla la presencia de hiperplasia de células cortico medulares, fibrosis, quistes interfolículares, atrofia folicular y aspecto adenoide. Tomando en cuenta lo anterior, las lesiones son calificadas de acuerdo a su severidad y analizadas en bloques de 5 bolsas de Fabricio, donde se promedia la calificación por corte y por curso entre el grupo evaluado, dando como resultado el daño total por corte, daño total promedio y daño total promedio grupo. Este estudio contempla una sección de diagnóstico morfológico el cual consiste en analizar la presencia de tejido linfoide activo en la bolsa de Fabricio, esto se logra dividiendo por cuadrantes el corte histológico y cuantificando en porcentaje, todo esto basado en la apreciación del especialista en patología 5. Tomamos como herramientas de medición, la estadística descriptiva y las tendencias entre ambos grupos para ver la regresión lineal

simple, así como el valor R cuadrado (R2) reflejadas en las figuras 1 y 2 para las pruebas serológicas tomando en cuenta la media geométrica de cada edad correspondiente a la prueba de ELISA IBD y el promedio logaritmo base dos (Log2) de cada edad para la prueba de HI ND. De igual manera con el porcentaje de tejido linfoide activo reflejado en la figura 3.

Resultados

En el grupo A, existe una pronta respuesta serológica a diferencia del grupo B respecto a los títulos obtenidos mediante la prueba de ELISA IBD, ya que el grupo A, presenta a los 28 días de edad títulos de 6374, no siendo así para el grupo B los cuales fueron de 605. (Figura 1).

El grupo A presentó una respuesta serológica constante ascendente a la prueba de HI ND, no así el grupo B, el cual presentó diferencias de menos 2 logaritmos base 2 a los 18 días y a los 42 días de menos 3 logaritmos base dos en comparación del grupo A (figura 2).

En la gráfica correspondiente al porcentaje de tejido linfoide activo, el grupo A muestra en todas las edades presencia de tejido linfoide activo, que va de un 90% para el día 7 de edad, 30% para el día 21 de edad, de un 50% para el día 28 de edad y un 38% para el día 42 de edad. En el grupo B se muestra un descenso del tejido linfoide activo en forma progresiva, que va de un 85% para el día 7 de edad, 60% para el día 21 de edad, de un 18% para el día 28 de edad y 0% para el día 42 de edad (figura 3).

Discusión

Para entender mejor el análisis estadístico, tenemos que una línea de tendencia es más confiable cuando su valor R2 está establecido en 1 o cerca de 1 y que una línea de tendencia normalmente muestra que algo aumenta o disminuye a un ritmo constante 8.

De acuerdo al análisis de resultados, el grupo A obtuvo una tendencia de regresión lineal simple en aumento y un valor R cuadrada (R2) de .59 correspondiente a la prueba de ELISA IBD y una R2 de .86 para la prueba de HI ND. Comparativamente con el grupo B que obtuvo una línea de tendencia en aumento con un valor R2 de .22 correspondiente a la prueba de ELISA IBD y una R2 de .46 para la prueba de HI ND.

Por lo que podemos decir que los animales vacunados del grupo A correspondientes a las pruebas de ELISA IBD el HI ND tienen una tendencia más alta sustentada en el valor R2 a que los títulos aumenten de una forma constante ya que comparativamente entre grupos, son los que están más cercanos al valor R2 de 1, que los valores obtenidos para el grupo B en ambas pruebas serológicas.

Como dato en el grupo A, encontramos títulos promedios correspondientes a la prueba de ELISA IBD a los 28 días de edad de 6374. El grupo B, presenta títulos de 605 a los 28 días de edad.

En estudios realizados por el Dr. Block en la Universidad de Honnover, Alemania en el 2007, muestran el comportamiento serológico obtenido de la aplicación de vacuna a virus vivos haciendo uso de una cepa intermedia comercial de la enfermedad de la bolsa de Fabricio, en

granjas de pollos de engorda con una población de 20,000 aves por caseta y 140,000 aves por granja, medido por una prueba de ELISA IBD comercial, con el fin de evaluar la respuesta inmunológica en animales vacunados a los 11 días de edad, analizaron 240 aves a los 18 días post vacunación donde encontraron títulos mínimos de 49 y títulos máximos de 5324, así mismo hicieron el análisis en animales vacunados a los 14 días de edad, en un total de 503 aves a los 21 días post vacunación, donde obtuvieron títulos mínimos de 206 – 7129, cabe mencionar que las parvadas no mostraron sinología sugerente a la presencia de la enfermedad de la Bursa9.

Al hacer uso de los resultados obtenidos por el Dr. Block en donde realiza una prueba similar a la presente, observamos la similitud de los títulos obtenidos en la ELISA IBD para el grupo A la edad de 28 días de 6374 y 21 días de edad de 7129 para el grupo de la referencia bibliográfica, no siendo así para el grupo B ya que se obtuvieron títulos de 605 a la edad de 28 días, los cuales se encuentran muy por de bajo de los obtenidos por el Dr. Block y el Grupo A.

Si bien por su naturaleza de virus vivos ambas vacunas, tienen que implantarse y causar cambios a la bolsa de Fabricio, el grupo A muestra un comportamiento natural de implantación vacunal y presencia de linfocitos activos en todas las edades muestreadas. El grupo B muestra un descenso gradual en el porcentaje de linfocitos activos y nula presencia del mismo a la sexta semana de edad.

La farmacopea Europea indica en el cuadro de interpretación y medición de resultados, del índice de daño bursal para vacunas de IBDv, que el máximo grado de daño presente en la bolsa es el que presenta, el 100 % de los folículos una ausencia linfocitaria casi total; pérdida completa de la estructura folicular, epitelio espeso y plegado, fibrosis del tejido de la bolsa de Fabricio. También indica que a los 21 días de edad después de la vacunación es notable una repoblación de linfocitos presentes en la bolsa de Fabricio8.

Tomando en cuenta lo anterior, el grupo A, muestra una recuperación y repoblación de linfocitos presentes en la bolsa de Fabricio en todas las edades, como se evidencia en la figura 3. No obstante el grupo B muestra una tendencia a disminuir dicha repoblación de linfocitos.

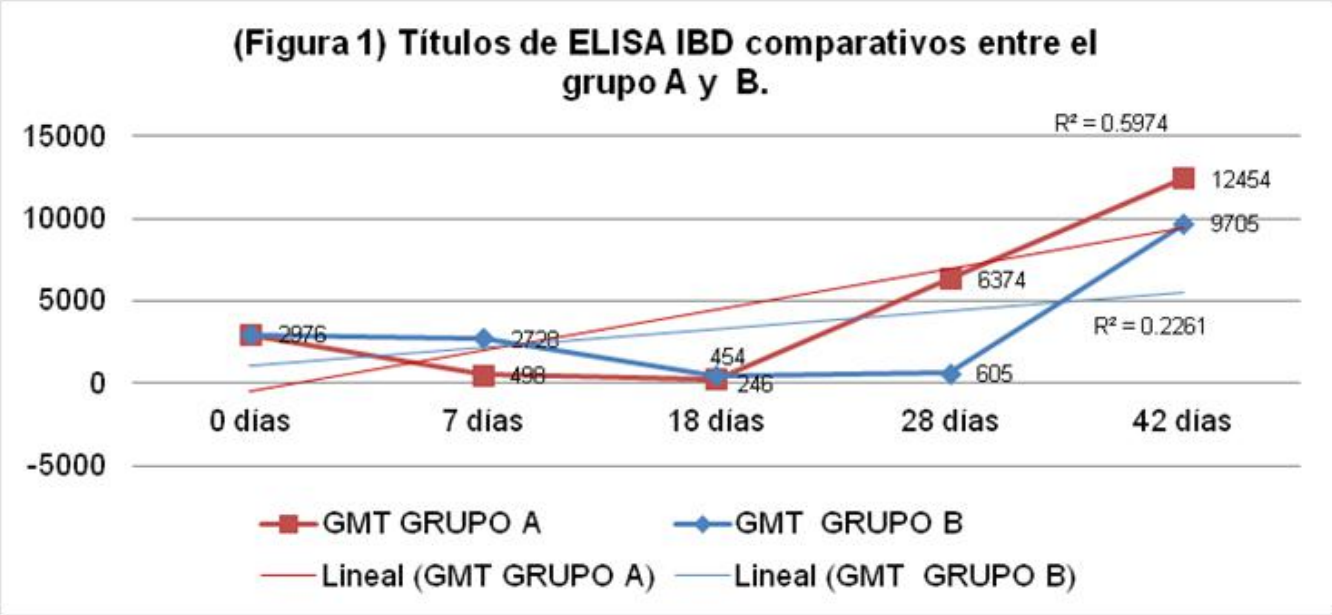
Si bien los datos no son concluyentes, es necesario hacer repeticiones en campo para ver el comportamiento de dichos grupos.

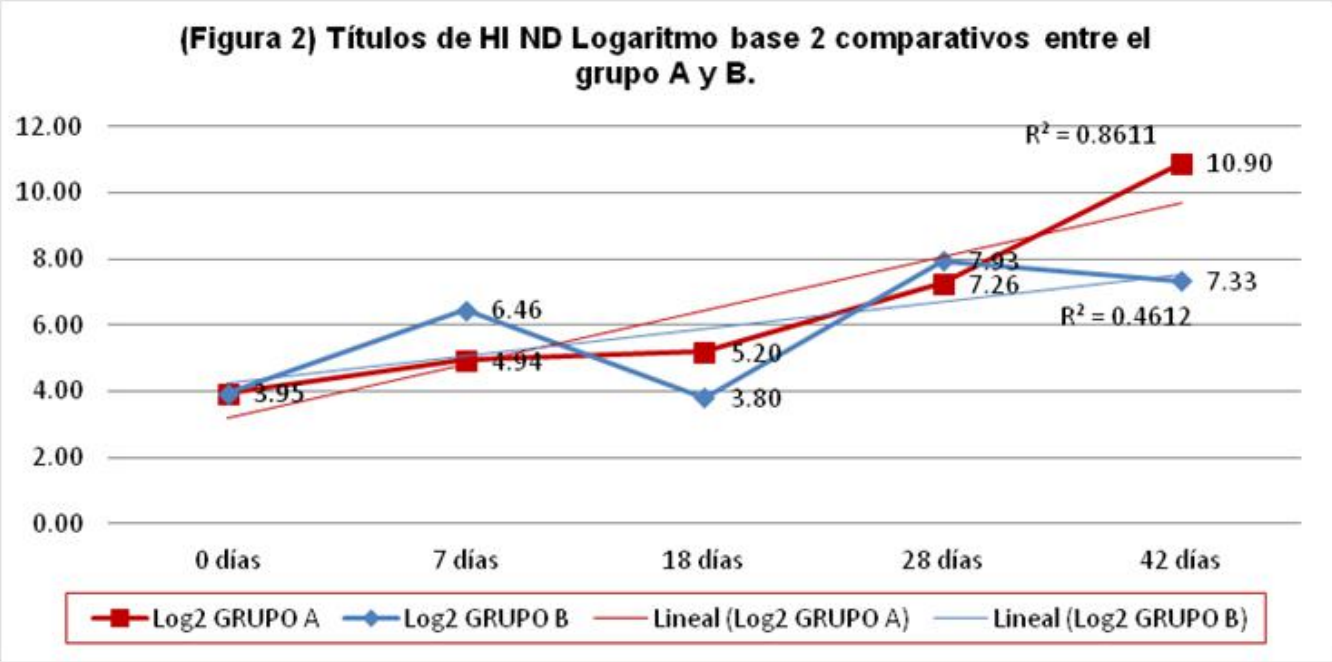
REFERENCIAS

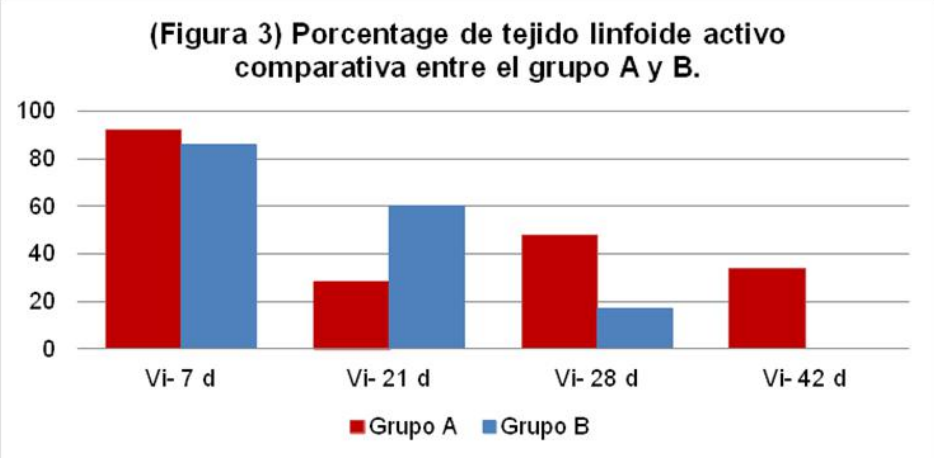
1. M.A.S Abu Tabeekh and A.A.S.AL- Mayah. Morphological investigation of bursa of fabricius of imported broilers and local chicks vaccinated with two types of IBDV vaccines. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 23, Supplement II, Proceedings of the 5th Scientific Conference, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Veterinary Hospital, Basrah Governorate, Department of Pathology and Poultry Diseases, College of Veterinary Medicine, Basrah University, Basrah, Iraq, 2009: 201-206.
2. Eterradossi, N., Saif, Y.M. Infectious bursal disease. In Y. M. Saif, A. M. Fadly, J.R.Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. E.Swayne (Eds.), Diseases of Poultry. 12 nd., Blackwell Publishing, 2008: 185-208.
3. Merino, R. G. Infección de la Bolsa de Fabricio. Sistema de producción animal I, Vol. II, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia., Edit. UNAM FMVZ.2005: 319-331.

4. Phil D. Lukert and Y. M. Saif. Infectious Bursal Disease. Diseases of poultry / edited by Y. M. Saif.—11th ed. Ames Iowa: Iowa State University Press a Blackwell Publishing Company, 2003: 161-169.
5. Casaubon M. T. Estudio de severidad de lesiones. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Aves. Investigador de laboratorio. 2011.
6. EUROPEAN PHARMACOPOEIA, Avian infectious bursal disease vaccine (live) 01/2008:0587, 869-870.
7. Marquard W.W; Johonson R.B., Odenwald W.F. and Schlotthober B.A. Indirect Enzyme – Linket Inmmunosorbent Assay (ELISA) Of Measuring Antibodie. (1980).
8. Watti A.M. D. Introducción a la estadística. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia, Edit. UNAM FMVZ. 2009: 165-190.
9. Hermann Block, Karen Meyer-Block, Dierk E. Rebeski, Heike Scharr, Sjaak de Wit, Karl Rohn & Silke Rautenschlein. A field study on the significance of vaccination against infectious bursal disease virus (IBDV) at the optimal time point in broiler flocks with maternally derived IBDV antibodies. University of Veterinary Medicine, Institute for Biometry, Epidemiology and Information Processing, Bünteweg 17, 30559, Hannover, Germany. Avian Patology. October 27. 2007:401-409.

Índice de Figuras




(Figura 2) Títulos de HI ND Logaritmo base 2 comparativos entre el grupo A y B.
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
R² = 0.8611
10.90
7.93
7.26
7.33
R² = 0.4612
6.46
4.94
5.20
3.95
3.80
0 días
7 días
18 días
28 días
42 días
Log2 GRUPO A
Log2 GRUPO B
Lineal (Log2 GRUPO A)
Lineal (Log2 GRUPO B)


(Figura 3) Porcentage de tejido linfoide activo comparativa entre el grupo A y B.
100
80
60
40
20
0
Vi- 7 d
Vi- 21 d
Vi- 28 d
Vi- 42 d
Grupo A
Grupo B

Regresar a lista de contenidos

PATOLOGÍA, DIAGNÓSTICO, Y CONTROL DE LA MICOTOXICOSIS AVIAR

Carlos Augusto Mallmann[1]; Paulo Dilkin[2]; Adriano Olnei Mallmann[3]; Alexandro Marchior[3]
[1]Prof. Titular, Dr. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Coordinador del Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC).
[2]Prof. Adjunto, Dr. DMVP, investigador LAMIC/UFSM.
[3]Médico Veterinario, estudiante de posgrado LAMIC/UFSM.
mallmann@lamic.ufsm.br.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos derivados de diferentes cepas de hongos filamentosos. Son de ocurrencia universal, pero son frecuentes en climas tropicales y subtropicales, donde se favorece el desarrollo de hongos por la humedad y temperatura. Cuando se han almacenado inadecuadamente los cereales, con alta humedad, alta temperatura, proporcionan condiciones ideales para el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas, y sus efectos son sentidos en la avicultura.

1. MICOTOXINAS DE GRAN IMPORTANCIA EN LA AVICULTURA

En el cuadro 1 se muestran las micotoxinas de mayor impacto sobre la producción avícola, los hongos que producen cada uno de ellos y las condiciones que favorecen la formación de estos compuestos.

Cuadro 1 - Principales micotoxinas, hongos, alimentos contaminados y condiciones que ocurren en la avicultura.

Micotoxinas	Principales hongos productores	Alimentos expuestos a contaminación	Factor desencadenante de la contaminación
Aflatoxinas	Aspergillus flavus y *A. parasiticus*	Cacahuates, nueces, maíz y cereales en general	Humedad, almacenamiento en condiciones inadecuadas.
Ácido Ciclopiazónico	*Aspergillus flavus*	Maíz y cacahuate	Almacenamiento en condiciones inadecuadas.
Tricotecenos	*Fusarium* sp.	Maíz y cereales de invierno	Baja temperatura, alta humedad y problemas en almacenamiento.
Fumonisinas	*Fusarium* sp.	maíz y cereales de invierno	Estación seca seguida por alta humedad y temperaturas moderadas.

1.1. Aflatoxinas

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos del género *Aspergillus*, especialmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Fueron descubiertas en la década de 1960, después

de causar un foco (*Turkey X disease*) con una alta mortalidad en pavos en Inglaterra. En este brote, miles de aves murieron después de ingerir alimentos que contengan pasta de cacahuate. El hongo principal que se encuentra en la pasta de cacahuate fue *Aspergillus flavus*, que da nombre a esta toxina.

En los brotes de aflatoxicosis una de las características más sobresalientes es la mala absorción de los alimentos que se manifiesta por presencia de partículas de alimentos mal digeridos en los excrementos de aves. Se asocia con esteatorrea o aumento de la excreción de lípidos. La esteatorrea puede estar presente en la aflatoxicosis grave en incrementos de hasta diez veces la grasa en las heces. En pollos, la esteatorrea está acompañada por una disminución de las actividades específicas y total de la enzima pancreática lipasa principal enzima digestiva de las grasas, y disminución de las sales biliares, necesaria tanto para la digestión y absorción de grasas que conducen a esteatosis hepática (hígado graso). Palidez de mucosas y piernas también se observa en pollos y gallinas que recibieron piensos contaminados con aflatoxinas. Este pigmento que parece ser el resultado de la absorción inferior, disminuición del transporte y deposición en el tejido de carotenoides, siendo la aflatoxicosis identificada como "*pale bird syndrome*".

En gallinas ponedoras los disturbios causados por las aflatoxinas en la producción de huevos surgen sólo después de unos días o semanas. La presencia de folículos preovulatorios ya formados antes del consumo de micotoxinas en el tracto reproductivo de las aves justifica esta respuesta tardía. La disminución en la producción de huevos está precedida por una reducción en los niveles en sangre de proteínas y lípidos.

Además de reducir la producción de huevos, la aflatoxicosis también induce una reducción en el tamaño del huevo, así como la reducción proporcional del tamaño de las yemas, debido a daños en la síntesis de proteínas y lípidos. Sin embargo, la deposición de calcio en la cáscara del huevo en sí no se ve afectada. La resistencia al desprendimiento aumenta cuando las aves consumen aflatoxinas debido a la reducción en la cáscara de los huevos que no tengan la misma relación de reducción que se produce en la clara y yema. Este aumento de la cáscara puede afectar la incubabilidad reduciendo el intercambio de gases entre el embrión y el medio ambiente.

La mortalidad de los embriones de huevos de gallinas ponedoras intoxicadas con aflatoxina se produce por el hecho de que estas sustancias, después de haber sido biotransformadas en el hígado, tienen como principal metabolito la aflatoxina M_1 que se excreta del cuerpo a través de la yema. Además, la aflatoxina B_1 también puede encontrar en la yema de huevo 24 horas después de la ingestión de aflatoxinas. En casos de aflatoxicosis, los picos de mortalidad embrionaria ocurren en el último tercio de la incubación. Esto es debido al hecho de que los

metabolitos de aflatoxinas están concentrados en la yema de huevo, que es utilizado por el embrión, como una fuente de energía, en este período del proceso de incubación.

La sensibilidad a los efectos tóxicos de las aflatoxinas varía considerablemente entre las especies animales. Incluso entre los individuos de la misma especie, la relación dosis-respuesta puede variar según la raza, sexo, edad y composición de la dieta, entre otros factores. Para muchas especies, los machos son más propensos que las hembras, mientras que en general, la sensibilidad es mucho mayor en jóvenes que en adultos.

1.2. Ácido Ciclopiazónico

Algunas cepas de *Aspergillus flavus* también producen ácido ciclopiazónico (CPA). Esta micotoxina se ha asociado con algunos signos clínicos mostrados por las aves en el primer cuadro de aflatoxicosis descrito (*Turkey* X *disease*). No obstante esto, el análisis de esta serie de muestras indicó la presencia de esta micotoxina. CPA se produce naturalmente en el maíz y cacahuates, y en general, su presencia está asociada con la presencia de aflatoxinas.

Los principales signos clínicos de intoxicación por CPA incluyen disminución del peso, vómitos y señales neurológicas (opistótonos, hiperestesia y convulsiones) y generalmente es fatal. Las lesiones incluyen degeneración y necrosis del hígado, lesiones hemorrágicas en el miocardio, proventrículo, molleja y el bazo. Entre las lesiones mencionadas anteriormente, la más pronunciada es la presencia de erosiones en las mollejas de aves intoxicadas.

1.3. Tricotecenos

Las principales micotoxinas del grupo de los tricotecenos incluyen la toxina T-2, deoxinivalenol (DON o vomitoxina) y diacetoxiscirpenol (DAS), producida por hongos de varios géneros, sobre todo del género *Fusarium*. La intoxicación crónica que implica a la toxina T-2 o DAS, inducen una reducción del consumo de alimento y ganancia de peso, lesiones orales, necrosis de los tejidos linfoides, mucosa oral y hematopoyético, con ocasionales trastornos nerviosos (posición anormal de las alas, disminución de reflejos), plumaje anormal y disminuición en la espesura del cascarón del huevo. Particularmente en ponedoras, las lesiones orales se producen en aproximadamente el 50% de los lotes, cuando estas aves fueron alimentadas con una dieta que contenía 2 ppm de toxina T-2. Sin embargo, la toxina T-2 es altamente tóxica para los macrófagos de pollos, inhibiendo su capacidad de fagocitosis. Esta toxina también induce la formación de peróxidos a partir de lípidos, resultando en una disminución en la concentración de vitamina E en las aves.

Otras aves, como pavos y gansos, son más sensibles a la toxina T-2 que el pollo de engorda. En gansos, a partir de 0,1 mg/kg de peso corporal causa caída en la producción de huevos y el nivel de postura y reduce la incubabilidad al 50% cuando se administraron 300 mg/kg de toxina T-2. Las micotoxinas T-2 y DAS producen lesiones orales en pollos de engorde cuando están

presentes en niveles de 1 ppm en la dieta. Las aves presentan una reducción en el consumo de alimento, retraso del crecimiento, cambios en el cuadro sanguíneo y neurotoxicidad.

Alimento contaminado con DAS causa una disminución en la producción de huevo, coincidiendo con una disminución en el consumo de alimento y la aparición de lesiones orales, siendo el resultado más pronunciado en pollitas, y persistiendo por hasta dos semanas después de la ingestión de la toxina, lo que sugiere que un período de suplementos nutricionales se requiere para la recuperación del ave. La disminución en el consumo de alimento puede estar relacionada con las lesiones orales causadas por la toxina, siendo encontradas tanto en machos como en hembras y en su presencia rápidamente detectada por las aves, causando un aumento en el tiempo de consumo de las reproductoras. La disminución en el consumo de alimento también se pueden encontrar en contaminación por toxina T-2.

Los efectos de los tricotecenos en pollos y reproductoras incluyen el rechazo repentino del alimento, pérdida de peso y lesiones orales, caída en la producción de huevo y una disminución en la calidad del cascarón con aumento en el porcentaje de mortalidad embrionaria y disminución de la eclosión. Los machos también son afectados por el alimento contaminado con tricotecenos, lo que reduce la fertilidad y la reducción de volumen de esperma.
Las lesiones orales derivadas de la intoxicación por el DAS, dan lugar a necrosis de la punta de la lengua, por lo general en reproductoras y gallinas ponedoras comerciales. Sin embargo, estas lesiones pueden aparecer también en el pollo de engorda. Por otra parte, las lesiones que se encuentran en el caso de intoxicación por toxina T-2, son comúnmente erosiones o ulceraciones en el paladar, y comisuras del pico en aves intoxicadas. Estas lesiones se pueden encontrar tanto en aves de postura (reproductoras y comerciales) y en pollo de engorda.

Estudios similares realizados con DON, han aclarado que, con excepción de una disminución transitoria de la hemoglobina, o un efecto muy ligero en la calidad del huevo, no hay evidencia significativa de que esta toxina afecta el rendimiento de las aves. Las aves son capaces de tolerar concentraciones relativamente altas de DON en la dieta y algo menos en comparación con la toxina T-2 y DAS. Los niveles de DON que se encuentran normalmente en alimentos contaminados (de 0,35 a 8,0 ppm) no muestran indicios perceptibles de algún problema de salud en pollos. Concentraciones por encima de 82,8 ppm de DON fueron administradas a gallinas ponedoras durante 27 días sin ningún efecto sobre el rendimiento y sin presentar lesiones en las aves. Otros estudios han reportado lesiones muy ligeras y de reducción de la calidad del huevo en aves alimentadas con 18 ppm de DON en la dieta.

Los tricotecenos generalmente no inducen una mayor mortalidad en aves que non son pollos, requiriendo niveles de varios cientos de partes por millón para resultar en una mortalidad significativa. Del mismo modo, en los brotes de intoxicación atribuidos a toxina T-2 que afectó

a patos domésticos, gansos, caballos y cerdos, la mortalidad sólo se observó en los gansos, lo que sugiere una alta sensibilidad de estas aves.

1.4. Fumonisinas

Las fumonisinas, un grupo de decenas de micotoxinas son producidas por un hongo del género *Fusarium* y *Alternaria*, especialmente por *F. moniliforme*. Las fumonisinas de mayor incidencia e importancia toxicológica son fumonisina B_1 y fumonisina B_2. Los niveles de contaminación de maíz en diferentes partes del mundo están normalmente por debajo de 5 ppm y aproximadamente un tercio de las muestras se encuentran contaminadas. Los análisis realizados en los últimos 16 años (1996-2011) en el Laboratorio de Análises Micotoxicológicos (LAMIC) de la Universidad Federal de Santa Maria (UFSM) muestran que cerca del 76% de las muestras de maíz y 65% de las muestras de alimentos están contaminadas con fumonisinas.

Los estudios realizados por LAMIC con fumonisina B_1 obtenida a partir de hongos de campo, han demostrado que dosis inferiores a 50 ppm de fumonisina B_1 impactan negativamente en el peso de pollos de engorda hasta los 21 días, lo que representa pérdidas del 4%. Niveles de 100 ppm mostraron pérdidas de hasta el 12 % en la ganancia de peso a los 21 días. Estas pérdidas en campo pueden ser mayores, ya que bajo estas condiciones experimentales el efecto de las micotoxinas es generalmente atenuado por la eliminación de los factores de estrés.

Otro factor importante a considerar en relación a las fumonisinas, es el hecho de que los hongos que producen estas micotoxinas también producen una serie de otros compuestos tóxicos. Estas sustancias pueden estar presentes en la alimentación de aves y determinar las pérdidas de rendimiento aún más significativas.

En las aves intoxicadas por fumonisinas, los signos clínicos generalmente incluyen menor ganancia de peso, mortalidad, diarrea, ascitis, hidropericardio y palidez del miocardio, edema y congestión renal, ulceración de la mucosa oral en pavos, aumento en el peso relativo del hígado, proventrículo y molleja. La intoxicación por fumonisinas puede ser monitoreada a través de parámetros sanguíneos. Hay un cambio en la relación entre los niveles circulantes de esfingosina y esfinganina, que son precursores de los esfingolípidos, cuando la intoxicación es con fumonisinas.

1.5. Toxinas más importantes que se encuentran en los productos y subproductos utilizados en la alimentación humana y animal.

En la cuadro 2, se observan, las micotoxinas más comunes analizadas por LAMIC/UFSM.

Cuadro 2 – Principales micotoxinas analisadas por LAMIC/UFSM 1986 a 2009.

Micotoxina	Muestras	Positividad (%)	Media (ppb)
Fumonisinas[1]	52384	65,1	1528,8
Deoxinivalenol	45144	41,5	329,0
Aflatoxinas[2]	151013	34,8	8,4
Zearalenona	113455	30,2	72,4
3-DON	593	11,3	3,9
15-DON	585	7,7	3,6
Ocratoxina A	35526	3,9	0,6
Toxina T-2	17980	1,0	8,6
Total	**179571**	**56,1**	

[1] Suma de las Fumonisinas B_1e B_2.

[2] Suma de las Aflatoxinas, B_1, B_2, G_1, G_2.

De acuerdo a los resultados de contaminación y positividad en el cuadro 2, se puede concluir que las micotoxinas más importantes revisados por LAMIC/UFSM para la producción de aves son las aflatoxinas, seguidas por las fumonisinas y el dioxinivalenol. Por estas tres micotoxinas, el porcentaje positivo supera el 42%, o ligeramente poco menos de la mitad de todos los alimentos analizados en Brasil que tienen contaminación por estas micotoxinas.

2. CONTROL Y MANEJO DE LAS MICOTOXINAS

El control y manejo de las micotoxinas implican un proceso que tiene una serie de actividades críticas. Comienza en la definición de un programa de monitoreo. Esto implica la definición del proceso de toma de muestras, consiste en el análisis y control, y termina en la toma de una decisión. Este debe considerar el uso seguro de la dieta en la cual el riesgo por intoxicación con micotoxinas pueda ser minimizado y que el costo/beneficio sea cuantificado con precisión, lo que le permite maximizar la productividad de la parvada.

2.1. Planificación de un programa de análisis de micotoxinas

La planificación requiere el conocimiento de las características de distribución de las micotoxinas. El programa de muestreo utilizado en la mayoría de las industrias con asistencia de LAMIC es recomendado por la norma ISO 6497:2002 y la Comisión Europea por la norma N º CE 401/2006. Se hicieron ajustes técnicos para muestrear las materias primas después de haber sido molidas, permitiendo una mejor viabilidad y representatividad. La toma de muestras debe hacerse cuando el material está en movimiento y molido, realizándose a intervalos de tiempo predeterminado, dependiendo de la cantidad de toneladas producidas por turno de producción. Así, una fábrica de piensos que produce 100 t/día, hará una muestra colectiva de al menos 44,7 kg de material molido, de acuerdo con la ecuación $\sqrt{20xT}$. Este material será mejor colectado si se recoge tomando una muestra dinámicamente, utilizando el sistema "Agujero de rosca" (Furo na Rosca), en donde se obtiene una muestra del flujo constante de

material previamente molido durante el procesamiento. De este material debe ser retirada de una muestra de al menos 1 kg para uso en laboratorio. Los responsables para la colecta del material, preferentemente deberán siempre estar involucrados en el proceso y, por supuesto, capacitados para hacerlo.

El envío a un laboratorio deberá ser tan rápido como sea posible, y el material se envasa en una forma resistente para preservar las características de la muestra especialmente con respecto a la humedad. Es importante que el tiempo de transporte no exceda 48 horas. El análisis y especialmente la definición de las micotoxinas que deben entrar en un programa de control sólo pueden ser definidos por el conocimiento de la incidencia de la misma zona de origen del material a ser utilizado en la industria. Debido a necesidad de tomar decisiones rápidas en la industria agrícola, se recomienda que a análisis se realice tan pronto como sea posible.

En la evaluación de los resultados es necesario primero establecer los límites de confianza para el sistema de muestreo. El procedimiento habitual comienza con la adquisición de al menos 3 y no más de 5 muestras por turno de producción. Los resultados se evaluaron en su amplitud, para con esto ajustar el número mínimo de muestras a analizar. Después de un período inicial de aproximadamente un mes, es posible reducir el número de muestras, hasta llegar a una por día, dependiendo de la producción total y del cereal utilizado.

2.2. El diagnóstico de las micotoxinas

Existen varios métodos analíticos que se aplican para llevar a cabo la cuantificación de micotoxinas en los alimentos, entre los más utilizados están: ELISA, Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y Cromatografía Líquida acoplada a espectrometría de Masas (LC-MS/MS). Sin embargo, los estudios demuestran que los métodos de análisis que utilizan LC-MS/MS ofrecen resultados más precisos y fiables, y por lo tanto, estos métodos se utilizan en los laboratorios internacionales y oficiales.

2.3. Aditivos Antimicotoxinas (AAM) - Adsorbentes

Una vez que las micotoxinas están formadas, la inhibición del crecimiento fúngico no implicará la reducción de estas. Para uso en la producción animal y control de micotoxicosis, se utilizan materiales nutricionalmente inertes en la dieta animal con fin de reducir la absorción de micotoxinas en el tracto gastrointestinal. Los AAM son sustancias inertes o combinaciones de microorganismos o enzimas que se unen irreversiblemente a las micotoxinas, o biotransforman, haciéndolas no absorbibles por el tracto gastrointestinal de los animales y se eliminan de forma natural. La definición de AAM se acepta como aditivos no nutricionales y que añadidos a los alimentos tienen la capacidad de unirse a las micotoxinas formando macromoléculas complejas

que no pueden atravesar la barrera intestinal, eliminando entonces las toxinas a través de las heces y así neutralizan su efecto negativo sobre el rendimiento de los animales.

Experimentos realizados desde 2005 hasta enero de 2012 por LAMIC en conjunto con el Instituto SAMITEC evaluaron 86 AAM, de aves de corral, revelando que sólo el 47% resultó ser eficaz. No obstante el hecho de que la mayoría de los productos no cumplen los requisitos para su utilización como AAM, existe también la incertidumbre de cómo y cuándo usar un producto probado que sea efectivo. Esta respuesta se consigue mediante un control constante de la producción de las fábricas de alimentos. En general, se supone que todas las dietas para la fase pre-inicial deben incluir en su formulación un AAM; las dietas preparadas para las otras fases deben tener en cuenta el riesgo de micotoxinas (RM) para su inclusión o ausencia de los AAM. Este índice (RM) tiene en cuenta la interacción entre la media de contaminación de las muestras y la prevalencia media de cada micotoxina en estas muestras, que sirve como referencia para la toma de decisiones respecto al uso de los AAM.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La presencia de micotoxinas en dietas para aves pueden determinar pérdidas considerables en el sistema de producción avícola. Las pérdidas de producción no están restringidas sólo para el pollo de engorda y reproductoras, estas ocurren desde el comienzo de la cadena productiva. Desde la cosecha de grano, los efectos de la contaminación por hongos y micotoxicológica se puede ver, lo que refleja sus efectos en la producción de reproductoras y pollo de engorda.

El control depende de la implementación de políticas adecuadas en el ámbito de manejo agrícola, producción y almacenamiento, raíces del problema. La investigación en estas áreas debe ser desarrollada, repercutiendo en mejores resultados productivos y económicos en la producción animal y también para mejorar la salud de los alimentos destinados al consumo humano.

El uso de Aditivos Antimicotoxinas en dietas contaminadas por micotoxinas y destinadas para animales es de importancia estratégica, ya que una vez formada la toxina el proceso de descontaminación es costoso y poco práctico. Así, el uso de estos aditivos es todavía la mejor salida. La considerable presencia de micotoxinas en componentes esenciales de la dieta requiere que adoptemos un programa permanente de control. Para ello, es necesario conocer con precisión la contaminación existente, tornándose esencial la implementación de los monitoreos de las materias primas y los alimentos para consumo animal.

4. REFERENCIAS

1. BRAKE, J.; HAMILTON, P. B.; KITTRELL, R. S. Effects of the Tricothecene Mycotoxin Diacetoxyscirpenol on Fertility and Hatchability of Broiler Breeders. **Poultry Science**, v. 78, p. 1690-1694. 1999.

2. BRAKE, J.; HAMILTON, P. B.; KITTRELL, R. S. Effects of the Tricothecene Mycotoxin Diacetoxyscirpenol on Egg Production of Broiler Breeders. **Poultry Science,** v. 81, p. 1807-1810. 2002.
3. COMISSÃO EUROPEIA. Commission Regulation (CE) N° 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L 70/12.
4. FERNANDES, A. J. Desempenho produtivo e reprodutivo de matrizes de corte alimentadas com dietas contendo doses crescentes de aflatoxinas. 2004. 65 f. (Dissertação) (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
5. GIACOMINI, L. Z. et al. Desempenho e plumagem de frangos de corte intoxicados por aflatoxinas. **Ciência Rural.** v. 36, n. 1, p. 234-239. 2006.
6. ISO 6497:2002. Animal feeding stuffs sampling. 19p. 2002.
7. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 6497: Animal feeding stuffs - Sampling**. Geneva, 2002. 19p.
8. KUILMAN-WAHLS, M. E. M. et al. Cyclopiazonic acid inhibits mutagenic action of aflatoxin B_1. **Enviromental Toxicology and Pharmacology**, v. 11, p. 207-212. 2002.
9. LEESON, S.; DIAZ, G. J.; SUMMERS, J. D. **Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins**. 1 ed. Guelph, Ontario, Canada: University Books, 1995. 352p.
10. MALLMANN, C. A. et al. Critérios para seleção de um bom sequestrante para micotoxinas. Conferência APINCO 2006 de Ciência e Tecnologia Avícolas. **Anais...**, p. 213-224. 2006.
11. MALLMANN, C. A; DILKIN, P. **Micotoxinas e Micotoxicoses em Suínos**. Santa Maria: Sociedade Vicente Pallotti, 2007. 240 p.
12. **MARIANI, G. V. C. Desempenho produtivo de frangos de corte submetido à intoxicação experimental com aflatoxinas em diferentes idades. Santa Maria, 1998. 79f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, 1998.**
13. ROSA, A. P. et al. Desempenho produtivo de matrizes de corte submetidas a intoxicação por aflatoxinas e deoxinivalenol (DON). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, sup. 3, p. 73, 2001.
14. SCHMITT, R. Armazenamento de milho em uma propriedade suinícola de Pitanga-Pr, na forma de silagem de grão úmido e seu efeito na produção de suínos no ano de 2004. Monografia apresentada para obtenção do titulo de Especialista em Planejamento e Gestão de Agronegócios no Curso de Pós- Graduação em Planejamento de Agronegócios, UCP Faculdades do Centro do Paraná, 2006.
15. TRUCKSSES, M. W et al. Aflatoxicol and aflatoxins B1 e M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminates feed. **Poultry Science,** v. 62, p. 2176-82, 1983.
16. VAAMONDE, G. et al. Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus* section *flavi* from different substrates in Argentina. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, p. 79-84, 2003.
17. YEGANI, M. et al. Effects of feeding grains naturally contaminated with fusarium mycotoxins on performance and metabolism of broiler breeders. **Poultry Science**, v. 85, p. 1541-1549, 2006.

Regresar a lista de contenidos

RELACIÓN DEL PESO A LAS 18 SEMANAS CON LA PRODUCCIÓN Y RENTABILIDAD EN POLLAS DE PRODUCCIÓN DE HUEVO BLANCO

Juan Carlos Casillas Franco
Hy Line de México
casillas@hyline.com.mx

Resumen

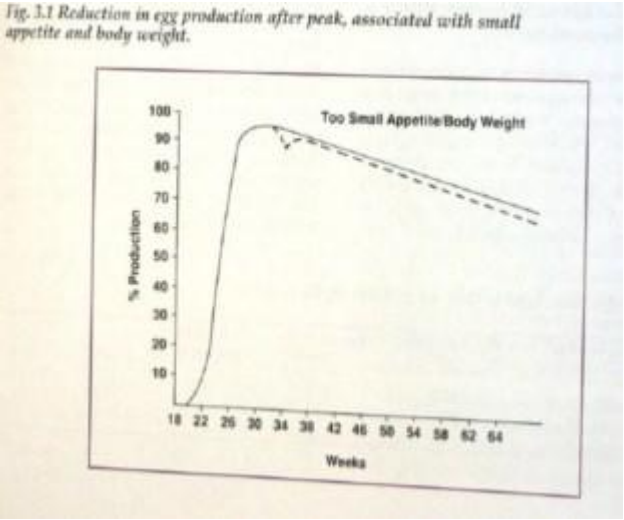
Se realizó una prueba en producción, comportamiento y análisis económicos usando gallinas productoras de huevo blanco Hy Line W36, separadas por peso alcanzado en la semana 18 de vida, poniendo en un grupo aquellas que pesaban menos del 10% de lo marcado por la guía de manejo para la estirpe(Livianas) y en el otro grupo el resto de las aves que estaban en los parámetros normales incluyendo las que lo sobrepasaban (Medianas+ Pesadas), entre las semanas 19 a 67 de vida (De los 134 hasta los 476 días de edad), realizada del 7 de Marzo del 2010 al 12 de Febrero del 2011 en Tepatitlán de Morelos Jalisco México. Analizando algunos parámetros productivos y económicos encontrando diferencias significativas que justifican el lograr un buen peso de las aves a la madurez.

Palabras Clave**:** madurez, peso, producción, rentabilidad y W36

Introducción

En las gallinas productoras de huevo, el peso corporal alcanzado en diferentes etapas del crecimiento de las aves comparado con el mencionado en las guías de manejo se ha utilizado frecuentemente en la literatura científica como una influencia en el posterior desempeño de las parvadas, específicamente en el libro Commercial Poultry Nutricion de S. Lesson y J.D. Summers tercera edición (S. Lesson y J.D. Summers, 1995) encontramos y cito textualmente "La clave para el éxito hoy en día en el manejo nutricional es a través de la optimización de peso corporal de la polla (maximizando). Pollitas que están en la meta o ligeramente por encima de peso en la madurez, inevitablemente, serán las mejores aves produciendo para el mercado del huevo comercial" y nos pone gráfica que a continuación vemos (g donde trata de mostrarnos lo que pudiera ocurrir en caso de que las aves tengan un peso bajo al alcanzar la madurez (18 semanas).

Fig. 3.1 Reduction in egg production after peak, associated with small appetite and body weight.



Lesson y Summers nos dicen que con un peso bajo a la madurez tendremos bajo consumo de alimento y baja de producción posterior al pico de producción y nunca alcanzarán el parámetro de producción comparado con las que si llegan al peso.

Por otro lado North/Bell en el libro Manual de Producción Avícola menciona (Mack O.North/ Donald D. Bell, 1990) "Las pruebas indican que la producción de huevos es mayor cuando se alcanzan los pesos óptimos recomendados a la madurez. Las parvadas más livianas producen menor cantidad de huevos"

La guía de manejo de Hy Line (Hy Line International, 2011), nos dice que el peso óptimo en la semana 18 debería ser de 1.27 Kg

Algunos factores que limitan el crecimiento de las aves para alcanzar el peso óptimo:
Nutrición, Densidad de aves , Enfermedades, Vacunaciones, Manejos, Instalaciones, Temperaturas, etc.

Justificación
Hy Line de México pretende ser consiente de los problemas que enfrentan los avicultores para lograr el comportamiento máximo que la genética ofrece y hemos observado que en general las granjas con una mejor crianza son los que alcanzan o superan las expectativas de producción estipuladas en las guías de manejo, es por esto que nuestros esfuerzos se están enfocando en tratar de ayudar a los avicultores a que desarrollen una mejor polla y una medida de este desarrollo palpable y medible es el peso a las 18 semanas junto con la uniformidad (Coeficiente de variación) de las parvadas. Es por esto que nos propusimos demostrar que con un buen desarrollo de las pollas, llegando con un peso apropiado a la madurez, las aves expresarán de una mejor manera su potencial genético.

Materiales y Métodos

- Se utilizaron aves para producción de huevo Leghorn de la estirpe Hy Line W36
- Jaulas tradicionales estilo California:
  48.5 cm de frente X 40 cm, dando espacio para poner cuatro aves con 485 cm²/ave.
- La caseta abierta con ventilación natural.
- Tres "pirámides" con 288 nidos totales (144 para esta prueba)
- Con cuatro aves por nido (1,152 gallinas de capacidad total)
- En esta prueba solo se utilizó una parte de la capacidad instalada teniendo otras pruebas en los demás nidos.

- Comederos individuales para cada nido, desmontable para pesarlos y hacer el cálculo de consumo de alimento.
- Con una separación de metal para evitar consumo de un nido a otro.

- Al llegar a la semana 18 se pesaron individualmente y se identificaron con una placa en el ala.
- Todos los pesos con sus identificaciones se pasaron a una hoja de Excel donde se ordenaron de mayor a menor peso para luego acomodar de cuatro aves por nido.
- Un grupo lo formaron las aves que pesaban menos del 10% del promedio de la guía y todas las que tenían un peso superior formaron el otro grupo:

Peso promedio según la guía a las 18 semanas (Hy Line International, 2011)= 1.27 Kg

1.270 X 10%= 0.127

1.270-0.127= 1.143

- Grupo Livianas <1.143
- Grupo Medianas + Pesadas 1.143 o más

- Durante la semana 18 se acomodaron en las jaulas que aleatoriamente les fue asignada según su peso, quedando cuatro aves por nido.
- Comenzó la prueba a la semana 19.
- Se anotó diariamente la producción y el peso del huevo así como la calidad física de los huevos (bueno, roto, sucio y frágil) y se pesó el alimento servido.
- Bi-semanalmente se pesó el sobrante de alimento de cada nido para calcular el consumo de alimento.

Análisis estadísticos

- Se hicieron en Minitab ® 15.1.1.0 y el acomodo y captura de datos para el análisis económico en EXCEL® 2007 de Microsoft®
- Se unieron nidos de manera aleatoria formando los muestreos (repeticiones) de nidos de diferentes partes de la caseta para normalizar los datos y reducir las varianza, además

de hacer distribuciones continuas algunas que no lo eran, facilitando el manejo de los análisis estadísticos y utilizando en lo posible métodos estadísticos paramétricos.

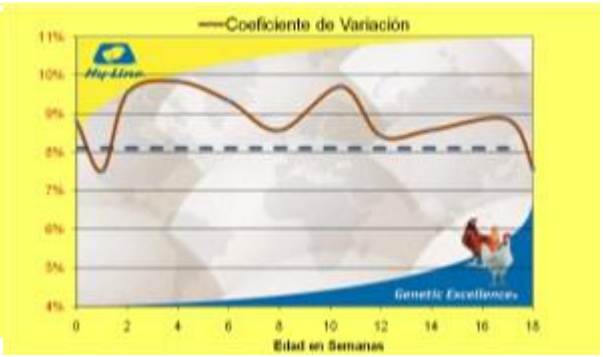
- Quedando 2 nidos por repetición con cuatro aves por nido lo que nos da 8 aves por repetición al inicio de la prueba,
  - El grupo de aves livianas formamos **8 repeticiones** con 64 aves totales.
  - En el grupo de medianas y pesadas pusimos el resto, 672 aves en 168 nidos con dos nidos por repetición quedando **84 repeticiones**.

Todos los parámetros se corrieron los datos de la siguiente manera:

- Usamos como base un α=0.05
- Primero se corrió el análisis de **Varianzas Iguales** con la prueba **de Levene**, si el resultado es que no hay evidencia que las varianzas sean diferentes (P>0.05) se continúa al siguiente paso.
- Prueba de los datos para que cumplan con una **Distribución Normal** con la prueba **Anderson-Darling** (P> 0.05) Si la Distribución no se considera normal se procederá a hacer transformaciones de datos (Box-Cox, Raíz Cuadrada, Logaritmo, Arcoseno, etc.)
- Si los datos no fueran una distribución normal y/o no hubiera varianzas iguales después de tratar con conversiones de los mismos, utilizamos **la prueba no paramétrica** de **Kurskal-Wallis .** Todos los análisis en que se usó esta prueba aparecen en el cuadro de resumen la mediana en lugar del promedio.
- Cuando los datos fueran una Distribución Normal con Varianzas iguales se procedió con la **Prueba T** para encontrar la existencia de diferencia entre las medias.
- En el caso de la mortalidad se hizo el análisis por medio la **prueba de dos proporciones**, usando todas las aves de la prueba, poniéndoles valor "1" a las muertas y "0" a las que vivieron hasta la semana 68 de vida.

  Desarrollo de las aves previo a la prueba:

  Previo a la prueba todas las aves se mantuvieron juntas con los manejos propios de la zona (despiques, vacunaciones, etc.) A continuación se pueden ver las gráficas de comportamientos de peso y coeficientes de variación semanal:



Resultados

Desarrollo de la prueba

Durante el desarrollo de la prueba tuvimos la presencia de dos agentes virales uno en la semana 24 de edad de las aves, cuando estaban llegando a su pico de producción.

Posteriormente durante la semana 31 que fue del 31 de mayo al 6 de junio del 2011 la temperatura subió por encima de los 35 grados Centígrados dentro de la caseta provocando otra caída en la producción del huevo.

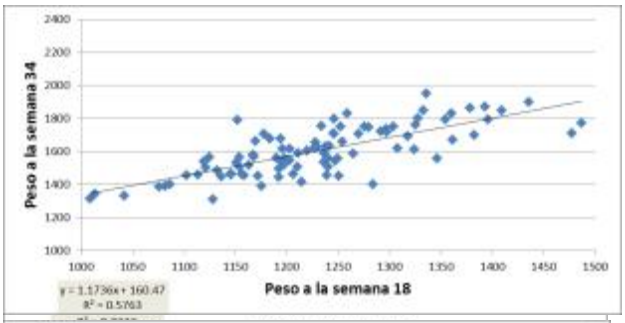
El segundo problema viral se presentó en la semana 38 de vida de las aves, cabe señalar que en ninguno de los dos desafíos virales se observaron síntomas claros de la enfermedad ni mortalidad, lo único fue la baja de producción y un aumento significativo de huevo roto y deforme, con los análisis serológicos antes y después de los problemas y la subida de anticuerpos específicos se concluyó la circulación viral, al parecer el estrecho programa de vacunación les otorgó a las aves la resistencia a los virus para evitar mortalidad pero si hubo una caída en la producción.

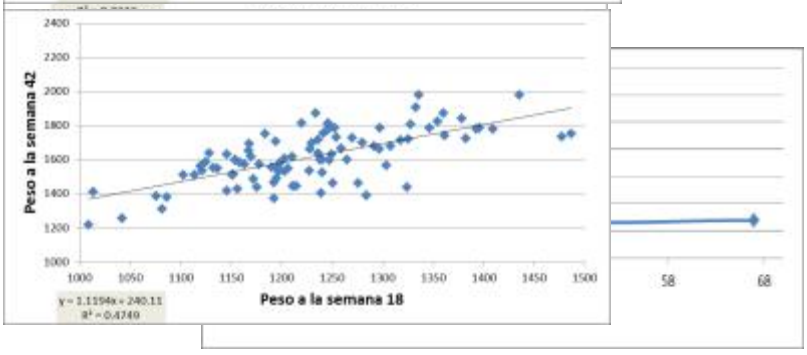
- El arranque de producción fue antes para el grupo de aves Medianas+Pesadas, la edad al 50% de producción fue de 148.28 (Med+Pes) y 151.5 para las Livianas con una diferencia de 3.22 días (P=0.007)
- La producción durante el transcurso de la prueba fue en general más alto para las aves Medianas y Pesadas que para las aves Livianas quedando el promedio desde la semana 19 hasta la 67 con 74% para las livianas y 79.3% para las medianas+pesadas, una diferencia de 5.07% (P=0.002).
- El pico de producción semanal fue de 88.1% para las Livianas y de 91.65% para las Medianas+Pesadas alcanzando 5 semanas por arriba del 90% de producción.
- El consumo de alimento durante toda la prueba, estuvo más alto en las Medianas+Pesadas (97.937 vs 89.918) con una diferencia de 8.019 (P=0.000), observándose una caída muy fuerte durante el primer problema viral en ambos grupos en la semana 24 teniendo un aparente consumo compensatorio en la semana 26 regresando a valores normales en la 28 y durante la semana de calor intenso (37) se observó

nuevamente una caída en los dos grupos siendo aparentemente más notoria en las aves Livianas.

- En la mortalidad no hubo diferencia estadística entre los grupos.
- El peso del huevo fue más alto para las aves Medianas+Pesadas con 60.65 gramos contra 58.71 una diferencia de 1.93 (P=0.000), manteniéndose así en todas las semanas que duró la prueba.

- No hubo diferencia en la calidad del huevo (roto, sucio, deforme), lo que se reflejó en la cantidad de huevo de primera que fue similar en ambos grupos (P=0.934)
- Correlacionamos el peso a las 18 semanas con el peso la primera semana





Resumen de Correlación de peso a las 18 Semanas

Edad en semanas	R^2
20	0.7323
34	0.5763
42	0.4749
67	0.4686

Cuadro de Resumen Datos:

Semanas 19 a 67 de vida (De los 134 hasta los 560 días de edad)
7 de Marzo del 2010 al 7 de Mayo del 2011

			Livianas	Medianas+ Pesadas	P=	Dif.	AE
1	Edad en días al 50% de producción	†	**151.50**	**148.28**	0.002	-3.220	($)
2	Masa de Huevo Acumulada Ave/Alojada	‡	14.97	16.51	0.010	1.540	($)
3	Huevos Ave/Alojada	‡	257.3	275.6	0.048	18.300	($)
4	Conversión Alimenticia	‡	2.01	2.007	0.967		*
5	Eficiencia Alimenticia	†	**0.501**	**0.494**	0.604		*
6	Alimento Consumido/Ave/Día	†	89.918	97.937	0.000	8.019	$
7	% Producción Ave/Día	‡	74.23%	79.30%	0.007	5.07%	$
8	% de Mortalidad Acumulada (19-67 Sem.)	†	3.1%	4.7%	0.489		*
9	% Huevo de 1a.	‡	97.69%	98.32%	0.934		*
10	Peso del Huevo Semana 19 a 66 de vida	†	**58.71**	**60.65**	0.000	1.93	$
		Promedio	†				
		Mediana	‡				

A.E. (Análisis Económico)

$ Dato utilizado directamente para análisis económico.

($) Dato implícito en otros parámetros pero que se refleja en análisis económico.

** Parámetro en el que se utilizará el promedio de los dos grupos por no haber significancia estadística.*

Análisis económico:

Todos los datos en que hubo diferencia estadística se pasaron para cada grupo a una hoja de Excel para ir generando semana a semana, tanto los gastos como los ingresos y en los datos en que no hubo diferencia estadística se pasó el promedio aritmético de ambos.

- Por simplificación no están tomados en cuenta algunos costos y/o están considerados de una manera poco ortodoxa contablemente:
  a. Todos los costos están considerados como si fueran costos variables.
  b. Faltan de considerar:
- Gastos administrativos
- Gastos de comercialización, considerando el precio de venta del huevo LAB granja
- Gastos financieros

- Gastos de equipo de transporte de personal y/o apoyo
- Gastos de Mantenimiento
- PTU
- Impuestos

No aparece el agotamiento de las aves como tal, pero si está considerado por ser el ciclo completo desde 0 semanas a 67 semanas junto con el precio de recuperación de las aves para un segundo ciclo.

Variables utilizadas en el análisis económico:

- El valor de los alimentos y del huevo es el de la 1ª. Semana de Octubre del 2010 con matriz de diferenciación de precios por calidades, ambos proporcionados por los avicultores de la zona.
- Se hizo la proyección con base en 100,032 aves al inicio de la producción para poder hacer los cálculos de depreciaciones, fletes de alimento y mano de obra acorde con lo observado en la zona.

Principales Variables Económicas

Costos de alimentos	**Sem.**	**Precio/Kg.**
Iniciación	0-5	$ 5.08
Crecimiento	6 a 8	$ 4.71
Desarrollo	9 a 16	$ 4.55
Pre-postura	17 a 19	$ 4.59
Pre-Producción	20 a 22	$ 4.87
Booster	23-32	$ 4.64
Fase 1	33-44	$ 4.59
Fase 2	45-58	$ 4.53
Fase 3	59+	$ 4.48

Precios productos y subproductos	
Precio del m cúbico de abono	$ 140.00
Valor de recuperación de aves para muda	$ 16.00
Precio del huevo 1a. LAB (Base Huevo Mediano)	$ 14.90

Matriz de diferenciación de precios por calidades del huevo:

	Precios		
	1a.	**Sucio**	**Roto-Frágil**
Canica	$ 13.41	$ 11.92	$ 7.45
Chico	$ 14.16	$ 11.92	$ 7.45
Mediano	$ 14.90	$ 11.92	$ 7.45
Grande	$ 13.41	$ 11.92	$ 7.45

Iniciación- desarrollo	
Número de aves al inicio	104,032

% de mortalidad (0 a18 semanas)	3.87%
Valor neto de compra pollita 1 día	$ 8.00
Fletes y acarreos de alimento	
Costo flete planta-granja	$ 600.00

Mano de obra

Sueldo semanal por persona, percepción directa	$ 900.00
IMSS, Aguinaldo, vacaciones … en porcentaje con respecto al sueldo base	33%
IMSS, Aguinaldo, vacaciones … costo	$ 297.00
Sueldo total integrado por persona	**$ 1,197.00**

Estado de Resultados desde nacimento hasta las 67 semanas de vida

Egresos	Livianas	Dif	Med+Pes
Mano de obra Total (0-80 semanas)	**$ 1,136,642.18**	**0.00%**	$ 1,136,642.18
Alimento Total	**$ 16,589,268.01**	**-3.74%**	**$ 17,209,431.80**
Empaque	$ 1,498,125.99	-3.95%	$ 1,557,343.81
Vacunas y medicinas (0-80 semanas)	**$ 1,169,570.72**	**0.00%**	**$ 1,169,570.72**
Combustibles (Calefacción crianza)	*$ 50,002.98*	0.00%	$ 50,002.98
Electricidad	*$ 11,000.66*	0.00%	$ 11,000.66
Costo polla a un día de edad	$ 832,256.00	0.00%	$ 832,256.00
Depreciación Instalaciones Total (Inic,-Prod.)	**$ 303,178.97**	**0.00%**	**$ 303,178.97**
Fletes y acarreos de alimento	$120,600.00	-3.98%	$ 125,400.00
Total egresos	**$21,710,645.51**	-3.15%	**$ 22,394,827.12**
Ingresos			
Venta de Huevo	**$ 21,531,880.23**	-6.46%	**$ 22,923,510.49**
Abono	$ 171,189.27	-3.91%	$ 177,877.55
Valor de recuperción de aves para Muda	1,521,267	0.00%	$ 1,521,267
Total de Ingresos	**$ 23,224,336.42**	-6.02%	**$ 24,622,654.97**
Pérdida/ganancia	**$ 1,513,690.91**	-47.18%	**$ 2,227,827.85**
Diferencia	**-$714,136.94**		

Discusión

La correlación de peso a las 18 semanas con el peso de las subsiguientes semanas se fue perdiendo con el paso del tiempo muy rápidamente, lo que nos indica que las aves

que eran livianas a las 18 semanas pueden llegar a ser pesadas en un periódo corto de tiempo o viceversa las medianas o pesadas pudieran ser livianas posteriormente, esto pudiera ser ocasionado por que las aves Livianas, al tener poca productividad, tienen la oportunidad de utilizar parte del alimento para ganar peso y las aves Medianas o Pesadas con una alta productividad tienden a perder peso, pues el alimento no les alcanza para una alta productividad y seguir aumentando de peso, pero si podemos ver, en los datos anteriores, que la baja productividad de las Livianas continúa en el tiempo, por lo que el pesar a las 18 semanas se vuelve indispensable, pues si pesaramos posteriormente, ya no nos será tan útil para predecir el desempeño de las aves por el efecto de la producción en la ganancia de peso de las aves, por otro lado, **pensar que no importa** que las aves no tengan en buen peso en la semana 18 ya que posteriormente alcanzarán el peso, es un **error aún más grave**, pues, aunque las aves alcanzen el peso posteriormente, no cambiarán su productividad o nos veremos obligados a hacer manejos especiales para que se acerquen a lo esperado con los cosiguientes costos y dificultades.

Conclusiones

- El peso a las 18 semanas tiene efectos en el desempeño productivo notable y con significancia estadística en varios de los parámetros evaluados, concordando con lo que nos menciona la literatura científica (Mack O.North/ Donald D. Bell, 1990), (S. Lesson y J.D. Summers, 1995), **las aves dentro del peso óptimo tienen una mayor productividad**.
- Estos efectos productivos tienen influencia en el **desempeño económico favorable para las aves que alcanzan un peso adecuado a las 18 semanas de vida** (no menor al 10% del parámetro) con un 47.18% mas rentabilidad.
- El efecto en la producción en este experimento no fue como lo menciona la literatura S. Lesson y J.D. Summers, con una caída posterior al pico de producción en las aves livianas, ocasionado probablemente por los problemas virales durante el pico de producción, pero manteniéndose por debajo la mayor parte del tiempo, concordando con una menor productividad y más bajo peso del huevo.
- **La correlación del peso a las 18 semanas con el peso en las siguientes semanas, se pierde rápidamente** por lo que es muy importante que se haga un buen pesaje, con la cantidad de aves adecuada para que tenga representatividad estadística de la parvada y **en la semana 18**, para poder inferir problemas de productividad con el peso alcanzado al llegar a la madurez.
- Tenemos en la zona un grave problema con alcanzar el peso de las aves a la madurez, ocasionado por múltiples factores durante las crianza de las aves, como la cantidad de manejos, vacunaciones, alta densidad de aves en crianza, alimentos bajos en nutrientes, micotoxinas, es muy importante lograr alcanzar el peso de la guía a las 18 semanas para lograr mejor productividad de nuestras aves, el reto es :

Usar la imaginación para cambiar o mejorar manejos e implementar o desarrollar nuevas técnicas, que ayuden a lograr el peso objetivo, para tener aves más rentables.

Como decía nuestro querido maestro el Dr. Fabián Uviña (QEPD):

"La avicultura es el negocio de los 1,001 detalles, este es uno, nada mas nos faltan otros 1,000"

REFERENCIAS

1. Hy Line International. (26 de 10 de 2011). www.hyline.com. Des Moines, Iowa, United States of America. Obtenido de www.hyline.com.mx.
2. Mack O.North/ Donald D. Bell. (1990). *Manual de Producción Avícola, 3a. Edición.* México, D.F.: Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.
3. S. Lesson y J.D. Summers. (1995). *Commercial Poultry Nutricion.* Guelph, Ontario: Univesity Books.

Regresar a lista de contenidos

FISIOPATOLOGIA DE LA FORMACION DEL HUEVO

José Baltazar Jasso Morán

INTRODUCCIÓN

Hablar de la formación del huevo no es solamente describir los acontecimientos que se producen durante las 24 a 26 horas que dura el proceso desde que se lleva a cabo la ovulación y su trayecto por el oviducto formando sus diferentes compuestos hasta que es expulsado en el momento de la ovoposición.

La formación del huevo es más que un proceso de 24 ó 26 horas ya que esto comprende una serie de acciones tanto intrínsecas como extrínsecas que las gallinas experimentan y que inician desde el nacimiento hasta el final del ciclo productivo de estas (80 ó 100 semanas).

Esto me lleva a relacionar lo anterior con la aplicación de un Sistema tipo HACCP, para identificar los Puntos Críticos a tomar en cuenta para realizar las acciones preventivas o correctivas a tiempo y poder alcanzar los resultados previstos por la línea genética en uso.

El Sistema HACCP plantea el cumplimiento de 7 pasos los cuales mediante su desarrollo secuencial ayuda a identificar los procesos de riesgo y plantear las acciones para evitarlos, corregirlos o controlarlos. Los 7 pasos de HACCP son:

1. Análisis de Peligros.
2. Determinación de Puntos Críticos.
3. Aplicación de límites de control.
4. Monitoreo.
5. Acciones correctivas.
6. Verificación.
7. Registro.

Para poder aplicar los principios antes mencionados, es necesario realizar un Diagrama de Flujo de todo el proceso para poder analizarlo, también es importante considerar que cada empresa es única y que en consecuencia lo que para uno sea importante, para otra será urgente y otra será insignificante.

El presente trabajo tiene como intensión el analizar los puntos críticos generales que tienen efecto en la formación del huevo los cuales no significan que sean los únicos o más importantes pero si los más comunes y que inciden de manera significativa en lo que consideramos la Fisiopatología de la Formación del Huevo.

PROCESO DE FORMACION DEL HUEVO

La formación del huevo es un proceso que inicia con la recepción de pollitas de 1 día de edad y continua durante toda la vida productiva de la gallina ya que un huevo de calidad depende de un buen programa manejo de la crianza porque desde ahí estamos preparando al ave para que en su vida productiva exprese todo su potencial genético y se logre un huevo de calidad tanto interna como externa y el máximo número de huevos.

Crianza

Debemos tomar en cuenta que actualmente trabajamos con líneas genéticas precoces y que alcanzan temprano su madurez sexual por lo que para aprovechar esto lo importante de este proceso es alcanzar el peso optimo de la polla a las 15 semanas de edad (1.110 kg.), este periodo lo podemos dividir en tres etapas que son:

0 a 5 semanas, enfocar al desarrollo de órganos internos (hígado, riñones, molleja).

6 a 10 semanas, enfocar al crecimiento esquelético del ave. (Esta deja de crecer a las 11 semanas de vida).

11 a 15 semanas, enfocar al desarrollo muscular, estimular la ganancia de peso. (Lograr 1.110 kg).

Cubriendo estos tres periodos, estamos preparando al ave para su traslado de las unidades de crianza a las de producción donde alcanzara su madurez sexual e iniciar la producción.

Riesgos de esta etapa

Considero dos riesgos a controlar en esta etapa que son:

1. NUTRICIÓN.
2. PROGRAMA DE SALUD.

1.- NUTRICIÓN.

La nutrición debe cumplir con la función de aportar los nutrientes necesarios para que el ave los transforme en el desarrollo de órganos y tejidos necesarios para alcanzar el desarrollo y peso requerido y llegar a la madurez sexual en el tiempo y edad adecuada para iniciar la producción de huevo.

Que programa de alimentación usar?

a. Preiniciación, Iniciación, Crecimiento y Desarrollo.
b. Iniciación, Crecimiento y Desarrollo.
c. Iniciación y Crecimiento.
d. Iniciación.

Debemos tener en cuenta lo siguiente, las aves crecen de acuerdo a la energía que aporta el alimento y se desarrollan de acuerdo a la proteína del mismo, por lo tanto debemos de entender que el objetivo es alcanzar un peso apropiado para que a la edad adecuada las aves inicien su madurez sexual ya que estamos trabajando con líneas precoces, entonces una recomendación es usar menos fases y más proteína.

2.- PROGRAMA DE SALUD.
Otro aspecto a considerar es, la proteína que estamos dando a las aves esta cubriendo los requerimientos de esta para cubrir la respuesta inmunológica de protección?

Los procesos de producción cada ves son más intensivos y de más volumen en consecuencia los manejos que se llevan a cabo para cumplir con el programa de vacunación se realizan en bloques esto es, en un solo manejo se aplican de 3 a 5 aplicaciones de antígenos, ocasionando un estrés que activa una respuesta de fase aguda activando una serie de reacciones catabólicas provocando la degradación del musculo, un equilibrio negativo de nitrógeno y la redistribución de minerales, vitaminas y energía, esto ocasiona la respuesta inflamatoria esencial para lograr una defensa inmunitaria eficaz. En este proceso las células inmunitarias producen proteínas mensajeras llamadas citosinas.

Generalmente después de una respuesta de fase aguda se desencadena una respuesta de fase aguda secundaria en el sistema digestivo provocando reacciones fisiocatabolicas generando la pérdida de nutrientes que ya se han digerido, absorbido y depositado en el organismo, que son la causa de la pérdida de peso y composición corporal.

Por lo anterior observamos que los nutrientes desempeñan un papel muy importante en la regulación de la respuesta inmune y que una limitante de los mismos generara una perdida en la ganancia de peso y trastornos en la salud de las pollonas.

PRODUCCIÓN DE HUEVO
Continuando con el proceso, el traslado de las pollonas a una edad pronta y temprana a las granjas de postura va a favorecer que se culmine el desarrollo de estas y se preparen para iniciar la producción y lograr un alto número de huevos, con calidad interna y externa óptima.

RIESGOS DE ESTA ETAPA.
1. Madurez sexual.
2. Nutrición y alimentación.
3. Programa de salud de la parvada.

1.- Madurez sexual.
Para alcanzar una madurez sexual en tiempo es necesario que la parvada tenga el peso adecuado a las 15 semanas de edad (1.110 kg) ya que ello favorece a que el Sistema Endocrino, secrete las hormonas necesarias para estimular el desarrollo del ovario y oviducto. Un bajo peso (10 % o más), va a provocar que se atrase la madures sexual y en consecuencia se produzca más huevo chico, pic de postura abajo del estándar, poca persistencia de producción, riesgo de presentar fatiga de jaula por una mala reserva de calcio, huevo más grande al final del ciclo, prolapso y mala calidad del cascarón porcentajes altos de huevo cascado.

2.- Nutrición y Alimentación.
Esta etapa esta muy ligada a la anterior y también a la que continua, aunque aquí se describen separadas el acierto en una y la falla de cualquiera de las otras significa que la producción y calidad del huevo se vean afectadas de forma progresiva y constante.

Hablando de Nutrición en primer término tenemos que considerar cuales son los nutrientes que tienen mayor relevancia en la producción de huevo, sin restar importancia a los demás.

Los nutrientes más relevantes para la producción de huevo son:

- Energía, es el combustible para que el organismo desarrolle cada una de sus funciones de mantenimiento y producción.
- Proteína, necesaria para desarrollar órganos y tejidos nuevos y de reemplazo, sobre todo al inicio de la producción donde el ave tiene que ganar peso, desarrollar el ovario y apoyar al sistema inmune en las reacciones vacúnales o de desafío.
- Calcio, mineral indispensable para la formación y mantenimiento del esqueleto, además de formar parte del hueso medular reservorio principal de este mineral para la formación del cascarón.
- Fosforo, mineral necesario para la fijación del calcio y fundamental en el desempeño de diversas funciones orgánicas.
- La formulación de las raciones deben de cumplir con el suministro de todos y cada uno de los nutrientes necesarios para el buen desempeño de las gallinas.

Bajo que criterio se debe formular la ración de las aves?

a. Proteína ideal.
b. Aminoácidos esenciales
c. Relación energía: proteína.

La mejor forma es la que de al ave la cantidad necesaria de nutrientes para mantenimiento, producción y función inmunitaria.

Una vez fijado el perfil nutricional de la gallina lo que continua es como alimentarla, para ello es necesario conocer la cantidad de nutrientes requeridos por ella para alcanzar el rendimiento del potencial genético de la producción de huevo.

Una gallina requiere para mantener la producción de huevo diaria de:
Energía 160 kcal, 12 gr de proteína y 3 gr de calcio, que debe de ser aportado por el 70 % de la ración consumida.

Para mantenimiento debe de consumir:
Energía 68.5 kcal, 5.1 gr de proteína y 1.3 gr de calcio, en el 30% restante.
Cual es el consumo de nutrientes para el funcionamiento del sistema inmunológico?

Generalmente esto no es considerado, pero si es muy importante ya que las líneas genéticas por su característica de precocidad son aves más susceptibles a desafíos.

Conociendo los datos anteriores la pregunta que nos debemos hacer es como alimentar a las gallinas?

Esta se hace por fases que son varias iniciando con un alimento rico en nutrientes y conforme avanza en edad se van reduciendo estos. El cambio de cada fase se efectúa en base a la edad de la gallina, ocasionando que se presenten bajas de producción, incremento en el peso del huevo y mala calidad del cascarón.

De acuerdo a mi experiencia el cambio de fases debe ser realizado en base al consumo de alimento ya que debemos tomar en cuenta los nutrientes requeridos para la producción de huevo, dándonos el beneficio de tener persistencia en la producción y un huevo de mejor tamaño, debido a que a mayor porcentaje de postura menor peso del huevo y a menor porcentaje de postura mayor peso del huevo.

3.- Programa de salud de la parvada.
Muy importante porque de este proceso depende el desempeño de la parvada en la producción de huevo, toda enfermedad que se presente en la gallina y que afecte de manera directa o indirecta al hígado y al riñón va a traer como consecuencia una baja de postura y un deterioro de la calidad interna y externa del huevo.

El 80 % de la función hepática de la gallina es en la producción de lipoproteínas necesarias para el desarrollo de los folículos, además de interviene en la transformación del primer metabolito de la vitamina D participe en la fijación de calcio en el cascarón, por lo tanto cualquier afección de este órgano tendrá como consecuencia una baja de postura, menor cantidad de huevos producidos, mayor peso de los mismos y un deterioro en la calidad de las claras, siendo esta de una consistencia más liquida provocando menor vida de anaquel.

El riñón su principal función es la filtración de la sangre depurándola de todos los metabolitos que se generan en el metabolismo, pero además cumple una función muy importante que es en la transformación del segundo metabolito de la vitamina D, que a su vez es el más importante ya que actúa para obtener calcio del alimento o del hueso para para su traslado al útero y se forme el cascarón, sin este metabolito esta función se ve muy limitada y en consecuencia la calidad del cascarón se ve afectada.

Las enfermedades que pueden provocar daño a estos órganos son:
Gumboro, que afecta a aves jóvenes pero su efecto genera que tengamos una parvada des uniforme y de bajo peso, retrasando la madurez sexual, con bajos pic de postura.

Bronquitis infecciosa, las cepas con tropismo renal provocan que este órgano sufra de un daño crónico degenerativo progresivo y que a partir del segundo tercio de producción se manifieste deterioro en la calidad del cascarón, además de claras de consistencia liquida.

Influenza y New Castle, Con un efecto más negativo hacia el hígado, provoca baja de producción de huevo, poca persistencia de la misma y deterioro en la calidad del cascarón.

EDS, causa baja de producción de huevo, poca persistencia y mala calidad del cascarón.

Micotoxinas de tipo hepatotoxicas o nefrotoxicas, causan bajas de producción de huevo y mala calidad interna y externa del huevo.
Estas son las que podríamos considerar de mayor importancia, aunque hay otras que en menor o mayor grado inciden en la producción del huevo pero que su repercusión no deja huella.

Como se mencionó en un principio cuando la gallina pone un huevo, este no es un proceso de 24 ó 26 horas, es un proceso continuo que inicia al nacimiento de la pollita, continua durante su crecimiento, desarrollo y producción y que nosotros como Médicos Veterinarios podemos y debemos incidir en el control de los puntos críticos que perjudican la producción.

Partamos de conocer nuestra empresa, desarrollar un diagrama de flujo e identificar en el las entradas y salidas de cada proceso para así identificar lo que podamos prevenir, controlar o corregir y poder explotar el potencial genético de las gallinas.

REFERENCIAS

1. www. Ces.purdue.edu/extmedia/AS/AS-525-W.pdf.
2. Latour M A, Meunier R & Stewart. The Process of egg formation. Poultry. Purdue University Cooperative Extension Service.
3. Egg-Grading-Manual. Agricultural Handbook. United States Department of Agriculture. 2000.pdf
4. Moran Jr. E T. Protein requeriments, egg formation and hens ovulatory cycle.

Regresar a lista de contenidos

PELECHA O MUDA FORZADA

José Baltazar Jasso Morán

INTRODUCCION

La pelecha es un proceso fisiológico natural que se presenta en todas las aves silvestres, iniciándose cuando se comienza a reducir el fotoperiodo, renovando el plumaje de forma total preparándose para la migración y los climas fríos.

Basándose en lo anterior este proceso se ha adaptado para realizarse en las granjas de postura comercial mediante un proceso forzado al finalizar un ciclo de producción y alargarlo en un segundo ciclo, esto se logra provocando la suspensión de la postura, dando un tiempo de descanso a la gallina y reiniciar de nuevo un segundo periodo de producción.

La primera referencia de la pelecha se tiene de una publicación del Dr. Rice de la Universidad de Cornell en 1905, donde consideraba la pelecha como una practica dudosa para incrementar los beneficios económicos.

Entre 1960 y 1962 se realizaron pruebas de pelecha en la Universidad de California donde se demostró un incremento de un 12% en la producción de huevo ave día y una mejora en la calidad interna y externa del huevo.

En la década de los 70's, la práctica de la pelecha tuvo su mayor uso a nivel mundial con el objeto de alargar el ciclo de producción de las gallinas para reducir el número de pollitas a criar por los estragos que ocasionaba la enfermedad de Marek.

En la actualidad en México la pelecha se esta usando como un recurso continuo y con diferente fin, como es alargar el ciclo de producción, repoblar granjas eliminando aves de primer ciclo, intercalar aves de primero y segundo ciclo, mantener un promedio de peso de huevo alto principalmente.

Ventajas de la pelecha son:

1. Usar aves depreciadas.
2. Mayor uso de instalaciones.
3. Producción de huevos de mayor peso en el periodo.
4. Mejor calidad de interna y externa del huevo.
5. Se reduce el intervalo de levante entre una pollita y una gallina a pelechar.

Desventajas de la pelecha:

1. Un mal programa de pelecha da malos resultados de producción.
2. Mal manejo del ayuno y la dieta de la pelecha disminuye las células T y aumenta la susceptibilidad de enfermedades.

FISIOLOGÍA DE LA PELECHA

Es un proceso complejo donde la participación del eje Hipotálamo- Hipofisario-Tiroideo- Adrenal es fundamental efectuando cambios internos en el hígado, ovario, oviducto y grasa abdominal así como externos manifestándose en la regresión de cresta, barbillas y la caída de la pluma, terminando con el cese de la producción de huevo, manifestándose como un periodo de descanso y regeneración de los cambios internos y externos señalados y que como mínimo debe ser de 28 días.

La pelecha inicia con la provocación de un estado de stress, provocado por el retiro del alimento (5 a 7 días) y la luz artificial, desencadenando una serie de reacciones hormonales iniciadas por el Hipotálamo que al recibir el estimulo del stress libera Corticotropina, que estimula a la Hipófisis secretando la hormona tirotropina que actúa sobre la Tiroides liberando dos hormonas la Tiroxina que es la responsable de la perdida y reemplazo de los epitelios de la cresta y barbillas y la segunda hormona que es la Triyodotironina responsable de la perdida de la pluma y de la interrupción de la actividad estrogénica reduciendo la producción de las hormonas FSH y LH en el ovario.

Otra hormona liberada por la Hipófisis es la Adrenocorticotropina que estimula la corteza adrenal para liberar Corticosterona que por el efecto del ayuno ocasiona un cambio en las reservas corporales (proteínas, carbohidratos y grasas), provocando un proceso de catabolismo fisiológico conduciendo al ave a perder peso que es el principal objetivo de la pelecha.

Todas las reacciones anteriores del eje Hipotálamo- Hipofisario-Tiroideo-Adrenal generadas por el ayuno inducen a generar la pérdida de peso corporal de la gallina (principal objetivo de la pelecha) de una forma controlada, programando que este reduzca de un 20 a 30 % del peso al iniciar el proceso.

La mayor parte de la perdida de peso se debe a la eliminación de la grasa abdominal, la regresión del oviducto, disminución del tamaño del hígado y lo más significativo es la involución ovárica compuesta de 2 fases:

1. Involución de los folículos maduros, mediante una atresia necrótica caracterizada por la ruptura de estos y la salida de un líquido verdoso obscuro.
2. Involución de los folículos no maduros, mediante su reabsorción.

Logrando la baja de peso programada, se reinicia la alimentación de las gallinas de forma controlada, para efectuar el descanso necesario para reiniciar un nuevo ciclo de producción.
En este periodo de descanso se lleva a cabo la perdida de la pluma la cual se pierde en el siguiente orden: cabeza, cuello, pechuga, muslos, dorso, cola y por último las plumas del ala o remeras, estas son 10 y caen en un orden definido renovándose casi de inmediato. Este proceso dura aproximadamente 21 días entre la pérdida y renovación de la pluma.

La alimentación de la gallina en este periodo es fundamental para alcanzar un máximo rendimiento del segundo ciclo de postura, existen muchos métodos de pelcha así como también diferentes formulas para reiniciar la alimentación de las gallinas.

Es importante tomar en cuenta que de la alimentación de una gallina en pelecha depende el resultado de producción de la misma, si se usan formulas de pelecha, sorgo, maíz, sorgo más vitaminas o formulas muy pobres en nutrientes de esa misma forma serán los resultados de producción.

Si queremos que el segundo ciclo sea muy bueno debemos preparar a las gallinas para ello y la mejor forma de reiniciar la alimentación es con una formula rica en nutrientes para que ayudemos a que el proceso de perdida y reposición de pluma sea adecuado y en tiempo evitando con ello un desgaste fisiológico y una degeneración ovárica que nos ocasione falsas ponedoras.

El periodo mínimo para realizar la pelecha es de 28 días durante los cuales NO debe de haber ningún huevo, posterior a este tiempo se iniciara el segundo ciclo de postura y preparando a la gallina como se prepara a una pollona cuidando la alimentación se logra un arranque rápido de producción, pic de postura alto con persistencia y en consecuencia peso de huevo mediano a grande (63-65 gramos), bajo este concepto en un periodo de 6 semanas contados a partir del inicio de la pelecha debemos lograr el 50% mínimo de producción de huevo del segundo ciclo.

REFERENCIAS

1. Brake T. J. & Thaxton P. E. Physiological Changes in Caged Layers During a Force Molt. Poultry Science 1979.
2. Koelkebeck K Inducing Molting of Hens Requires Careful Management. Feed Stuffs 1991.
3. Verheyen G Dewpeyre E. Egg Quality After Induced Molting. In Poultry International. Ed Missett International 1987.
4. Kondall D. K. Ventajas y Desventajas de los Programas de Muda Forzada. Fedd Stuff 1976.
5. John T. Brake. Tensión y Salud de la Manada. Industria Avícola 1986.

Regresar a lista de contenidos

UN PUNTO DE VISTA EN EL MANEJO DE LOS MACHOS REPRODUCTOES DE CONFORMACIÓN

Susano Medina Jaramillo
Buenaventura Grupo Pecuario, S.A. de C.V.
medina@gpobuenaventura.com.mx

RESUMEN
La industria avícola se ha caracterizado por su gran dinamismo y desarrollo tanto en el campo científico, como en todos los aspectos tecnológicos que la rodean. Los avances en genética y nutrición en el caso del pollo de engorda, nos han permitido obtener mejoras sustanciales en la velocidad de crecimiento, conversión alimenticia, rendimiento de pechuga, rusticidad, una mayor resistencia a las enfermedades, a la ascitis y al calor. Para lograr estos cambios, se han creado estirpes de reproductores pesados, de conformación o alto rendimiento, seleccionados para transmitir todas estas características a su progenie.
Los machos reproductores de conformación, tienen una gran capacidad para ganar peso y desarrollar las masas musculares de la pechuga. Estas modificaciones genéticas en su estructura morfológica, y los errores en el manejo parecen ser, conjuntamente con algunos factores nutricionales y de alimentación, las causas más importantes a considerar en los problemas de fertilidad.
Machos bien desarrollados, con pesos adecuados, buena uniformidad y una excelente configuración morfológica ("encarne" o "fleshing") y con una estructura ósea adecuada, son la base para lograr la monta y un buen acoplamiento durante la cópula, para garantizar una alta fertilidad.
Palabras clave: manejo, alimentación, estructura morfológica, monta, cópula, fertilidad.

INTRODUCCIÓN

La industria avícola se ha caracterizado por su gran dinamismo y desarrollo tanto en el campo científico, como en todos los aspectos tecnológicos que la rodean. Los avances en genética y nutrición en el caso del pollo de engorda, nos han permitido obtener mejoras sustanciales en la velocidad de crecimiento, conversión alimenticia, rendimiento de pechuga, rusticidad, una mayor resistencia a las enfermedades metabólicas como la ascitis, y el síndrome de muerte súbita; o a problemas ambientales como el estrés calórico. Para lograr estos cambios, se han creado estirpes de reproductores pesados seleccionados genéticamente para transmitir todas estas características a su progenie. En esencia, una hembra o un macho reproductor de conformación, modernos (aves de alto rendimiento), son muy similares a un pollo de engorda, pues tienen la misma gran capacidad de ganar peso rápidamente y desarrollar las masas musculares de la pechuga. Estas modificaciones genéticas en su estructura morfológica, y los

errores concomitantes en el manejo parecen ser conjuntamente con algunos factores nutricionales y de alimentación durante la crianza y desarrollo, las causas más importantes a considerar en los problemas de la fertilidad, que están afectando secuelarmente los resultados productivos y económicos en las parvadas. Los técnicos que trabajan directamente en el campo con las aves, los nutriólogos y especialmente los genetistas, tienen una larga tarea por resolver en la búsqueda de un mayor equilibrio, entre las mejoras en la productividad de la progenie y los resultados en las aves reproductoras, particularmente en los machos, para garantizar, una alta fertilidad que permita obtener la mayor cantidad posible de huevos fértiles y de pollitos de engorda de alta calidad.

LA FERTILIDAD

La fertilidad en los huevos incubables, está determinada en el caso de los machos, por la eficiencia en la monta (pisar adecuado de los machos) para consumar la cópula, así como en la calidad, la cantidad (el volumen eyaculado va de los 0.5 mililitros hasta los 1.8 mililitros, con un contenido de 1,500 a 1,800 millones de espermatozoides) y la movilidad del esperma. La movilidad de los espermatozoides y la eficiencia en el acoplamiento son fundamentales, mientras que por el lado de las hembras, es esencial la capacidad de almacenaje del líquido espermático, para la fertilización de los óvulos. Las hembras gordas, excedidas de peso no solo reducen la productividad de huevos, sino que además presentan obstrucciones de los túbulos uterovaginales de almacenamiento, afectando la fertilidad. Durante la monta una gran cantidad de espermatozoides se alojan dentro de la vagina, sin embargo solo del 1 al 2 % de estos logra llegar dentro de los túbulos de almacenaje del esperma, después de sufrir una estricta selección. Es importante señalar que treinta minutos posteriores a una inseminación, por lo menos el 84% del esperma es excretado con las heces.

Los espermatozoides son liberados de los túbulos periódicamente, aproximadamente en un promedio de un 30% diariamente; por lo que los túbulos deben ser reabastecidos durante la o las montas subsecuentes, para mantener un nivel adecuado de espermatozoides que garanticen la fertilidad. La capacidad de almacenamiento del esperma dependerá no solo de la edad de postura en que se encuentren las gallinas y de su peso, sino también de la acumulación de grasa corporal, como ya lo hemos comentado. El vaciamiento de los túbulos de almacenamiento de espermatozoides, se vuelve más rápido después del pico de producción, aunado a la mayor cantidad de esperma transportado por el aparato reproductor femenino para que se produzca la fertilización de los huevos, que se alcanza alrededor de las 32 a las 34 semanas de edad de las hembras; normalmente a partir de la mitad de la etapa reproductiva, entre las 35 y las 40 semanas de edad, las gallinas requieren cada vez una mayor cantidad de espermatozoides para mantener una alta fertilidad en los huevos.

La edad de los machos y el control de la estructura morfológica de la pechuga tienen una alta relación entre si y están correlacionados a su vez con la fertilidad, los machos jóvenes entre 30 y 39 semanas de edad, bien manejados, con peso, estructura ósea y desarrollo adecuado de las masas musculares de la pechuga, deben alcanzar niveles de fertilidad alrededor de un 95% para posteriormente ir declinando lentamente. Tanto las hembras como los machos sufren con la edad un efecto de caída de la fertilidad, que se ha considerado más como un problema de los machos. Actualmente se sabe que la mayor contribución de los gallos en la fertilidad de la parvada depende de cinco factores, principalmente: 1.- contar con el desarrollo corporal correcto, estructura morfológica de pechuga y peso que le permitan el adecuado acoplamiento durante la cópula*, 2.- patas fuertes bien desarrolladas* y libres de lesiones en su configuración y/o infecciones que pudieran dificultar el trabajo adecuado de los machos, 3.- Presteza en la libido, que se traduce en una mayor actividad buscando la monta, 4.- una cantidad correcta de machos para conservar un equilibrio armónico en la parvada y 5.- que la cantidad, calidad y movilidad del esperma sea la adecuada.

*Modulación del crecimiento mediante el manejo de un correcto programa de alimentación y además el uso de un alimento nutricionalmente adecuado.

Hablando de fertilidad vale la pena hacer notar que en hembras muy pesadas excedidas de grasa, se presenta una obstrucción de los túbulos uterovaginales de almacenamiento de espermatozoides. Por otra parte existen evidencias nutricionales que indican, que los aminoácidos lisina e isoleucina, causan una reducción en la fertilidad a medida que se incrementan sus niveles en las dietas de las gallinas. Los mecanismos específicos de este efecto aún son poco conocidos, pero una posible explicación establece que existen cambios radicales en el microambiente, que causan daños importantes a los túbulos de almacenamiento de espermatozoides. Las hembras de conformación, que son la otra parte de nuestro paquete reproductivo, deben de llegar entre las 21 y 22 semanas de edad, listas para recibir la estimulación lumínica, con un peso adecuado y con un consumo acumulado de por lo menos 25,000 Kcal y 1300 g. de proteína cruda. Mientras los machos requieren a esta edad un consumo acumulado de por lo menos 30,000 Kcal y 1500 g. de proteína cruda.

LA CONDUCTA SEXUAL DE LOS MACHOS

Normalmente, los machos más pesados, dentro de un cierto rango, y que muestran un adecuado desarrollo y configuración en su estructura ósea y en las masas musculares de la pechuga ("encarne" o "fleshing"), son los mejores y los más dominantes en la parvada; esta característica no es mala, al contrario, los convierte en excelentes reproductores.

La cantidad de machos en relación al número de hembras estará determinada principalmente por el temperamento de la estirpe, ya que su actividad y carácter reproductivo, depende en

mucho de su genética. En términos generales, para machos de alta conformación, consideramos como suficiente el aparear entre un 8% y un 9%.

Los machos antes de consumar la cópula, durante el cortejo, hacen movimientos de sus patas como si danzarán y extienden y mueven las alas alrededor de las hembras como una señal previa a la monta.

Aparentemente más que conservar un harem, marcan un territorio y establecen su jerarquía dentro del mismo.

La mayor actividad sexual de los machos se da durante las últimas horas de luz natural, seguida por las primeras horas del amanecer, posterior al servicio y consumo del alimento. Machos bien manejados con un peso y un desarrollo morfológico de pechuga adecuados, pueden alcanzar en su pico de actividad sexual y fertilidad, un promedio de entre 10 y 12 montas diarias.

La proporción de machos al aparearlos es de suma importancia, pues el exceso causa serios problemas de conducta caracterizados por agresiones, combates, perdidas por lesiones y mortalidad, tanto de las hembras como de los gallos, así como una reducción de la receptibilidad de las hembras, o incluso la interferencia entre machos, impidiendo o estorbando a otros durante la monta.

CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LOS MACHOS

Los programas de mejoras genéticas en los machos se han concentrado principalmente en alcanzar mayores avances en la transmisión de caracteres productivos a su progenie, tales como los índices de conversión, velocidad de crecimiento, rendimiento de la canal y de la pechuga, etcétera; dejando el mayor peso de los avances reproductivos para las hembras. Con esto, finalmente un macho es muy similar a su progenie y tiene todo el potencial para crecer y desarrollarse velozmente y con gran eficiencia, lo que hace que los caracteres reproductivos tengan una correlación negativa con los caracteres productivos. Tomando en cuenta estas importantes premisas, se tiene que trabajar con un cuidadoso programa de alimentación, utilizando un alimento adecuado y un control del mismo, que nos lleve a modular semana a semana el crecimiento, para poder alcanzar los pesos requeridos por la línea (estirpe) encaminados a garantizar la conformación, uniformidad y coeficiente de variación adecuados, para obtener una estructura física que les permita efectuar con eficiencia su función reproductiva.

PROCESO DE LA FERTILIZACIÓN

Durante la cópula la gallina doméstica sufre un ligero prolapso vaginal que ayuda a la movilización del semen hacia el oviducto, de donde los espermatozoides van hacia los túbulos

uterovaginales de almacenamiento, para de allí, estar siendo liberados a intervalos regulares, para garantizar la adecuada fertilización de los óvulos de las ovulaciones secuenciales.

Los espermatozoides liberados se transportan al óvulo, mediante contracciones del oviducto y con el apoyo de los movimientos flagelares para que a partir de ahí, 50 o más de ellos, penetren la capa externa del óvulo, pero solo uno llegará a la superficie, donde se unirá al pronúcleo femenino para formar el huevo o zigoto y dar inicio al desarrollo embrionario. Al momento de la ovulación la yema es desprendida del folículo y es englobada por el infundíbulo, lugar donde ocurre la fertilización.

El huevo es producido en el ovario, donde existe una secuencia de 5 a 10 folículos, de los cuales el primer óvulo, es ovulado dentro de 24 a 44 horas y luego cada folículo siguiente en la jerarquía será ovulado aproximadamente dentro de cada periodo de 24 horas, excepto el último de la secuencia, que está separado del primero por un espacio de tiempo de aproximadamente 40 a 44 horas.

LA CRIANZA Y EL DESARROLLO DE LOS MACHOS DE ALTO RENDIMIENTO O MACHOS DE CONFORMACIÓN

Los machos de alto rendimiento o machos de conformación, deben ser criados y desarrollados, preferentemente mediante la utilización de casetas de ambiente controlado obscurecidas (black out), separados de las hembras, para luego ser apareados en las granjas de producción, normalmente entre las 21 a las 22 semanas de edad.

EL INICIO ES LA BASE PARA UNA BUENA CRIANZA

Desde su nacimiento y transporte, los machitos son sometidos a estados de tensión y requieren una atención inmediata al llegar a la granja, la ambientación térmica de la caseta, el espacio y la disponibilidad de agua fresca y alimento, distribuidos adecuadamente son fundamentales para un buen inicio del crecimiento y para garantizar la correcta absorción del saco vitelino, que aparte de agua y nutrientes, contiene anticuerpos.

Durante la crianza el objetivo será alcanzar semana a semana los pesos marcados en base al programa de alimentación a seguir, buscando la mayor uniformidad posible, con el menor coeficiente de variación (5% a 7%), para lograrlo se debe controlar estrictamente el espacio físico por ave, el espacio de comederos y de bebederos, la salud general y la integridad intestinal en lo particular, así como el consumo de alimento, evaluando semanalmente, el consumo, las ganancias de peso y la uniformidad de la parvada. A los 35 días el peso es de gran relevancia así como obtener una uniformidad de un 80% a un 85%. Para alcanzar este objetivo se requiere trabajar fuertemente con la alimentación (consumo de alimento) y con los programas de "grading" (selección al 100% para clasificar por escalas de peso), efectuando por lo menos tres durante la crianza de los machos.

Tiene una gran importancia el programa de alimentación y la calidad nutricional del alimento, para poder alcanzar los pesos requeridos, así como la mayor uniformidad posible, y un crecimiento adecuado tanto de las hembras como de los machos (fundamental para un buen desarrollo del aparato reproductor).

A partir de la segunda semana de vida, hasta la semana doce se dan el crecimiento de las células de Sertoli. En las primeras diez semanas el peso de los testículos se incrementa muy poco, pues pesan entre 60 y 100 miligramos; pero el número de células de Sertoli alcanza de uno a cien millones.

Especialmente se dan cambios muy importantes de la séptima a la doceava semana, pues es aquí en donde se presenta la transición entre el crecimiento y la preparación para la producción, mediante el desarrollo del aparato músculo esquelético, tendones y ligamentos (a las ocho semanas el esqueleto habrá alcanzado ya un 85% de su crecimiento total), así como una mayor multiplicación de las células de Sertoli, que están directamente relacionadas con la futura producción de espermatozoides; en esta etapa el desarrollo de los testículos es principalmente a nivel celular. A las quince semanas de edad (crecimiento físico), los testículos apenas pesan entre 0.5 a 1.0 gramos, para ir aumentando de aquí en adelante con mayor celeridad. Los machos tienen la capacidad de ganar fácilmente peso, y es por ello que tienen tanta importancia los programas de control de la alimentación durante la etapa de crianza, que va desde su inicio hasta las veinticuatro semanas de edad, buscando siempre una curva de crecimiento sigmoidal, nunca lineal. Diferenciándose tres fases principales de desarrollo en los machos: la primera fase, que corresponde a las primeras ocho semanas, donde se dan la formación del esqueleto, de las piernas y de los tarsos principalmente y de los órganos internos del sistema inmunológico, y la segunda fase, que va de las ocho semanas hasta las dieciséis semanas, y es aquí donde se termina de formar el esqueleto (95% a las catorce semanas) y continua el desarrollo muscular, el desarrollo de los tendones y de los ligamentos. El crecimiento testicular aún es mínimo, no así la multiplicación de las células de Sertoli y una tercera fase caracterizada por el desarrollo de las masas musculares de la pechuga ("fleshing" o "encarne"), esta estructura de la pechuga es fundamental al inicio de la fotoestimulación, así como el crecimiento testicular, que se vuelve muy rápido y ambos están íntimamente relacionados con la madurez sexual. Los machos al llegar al estado adulto deben tener el tamaño, peso y estructura óptimas y se tiene que evitar a toda consta que engorden y acumulen grasa, situación que afectará su función reproductora (de la semana trece a las veinticuatro semanas de edad los machos se preparan para alcanzar la madurez sexual).

Actualmente los machos de conformación, requieren que los programas de fotoestimulación (incrementos de luz) se inicien entre las dieciocho y diecinueve semanas de edad. A las tres

semanas posteriores al estímulo lumínico, da inicio el crecimiento testicular, es aquí donde se comienzan a manifestar los caracteres sexuales secundarios, la cresta y las barbillas se van desarrollando, van cambiando su coloración, aparecen los primeros cantos, el desarrollo sexual se acelera, los testículos van creciendo paulatinamente, y entre las veintitrés y veinticuatro semanas de edad, están en un rango de peso que va de los 25 a los 30 gramos el par. Esta es la etapa de la pubertad y el desarrollo testicular alcanza el 75% después de la fotoestimulación, la ganancia de peso debe ser muy consistente para que los machos puedan alcanzar su máximo desarrollo testicular entre las veinticinco y treinta semanas de edad (madurez sexual), donde los testículos llegan a un peso aproximado de 35 a 45 gramos el par.

El peso corporal no está correlacionado con el peso de los testículos, pero el peso de los testículos si tiene una alta correlación con la producción hormonal (FSH) y con la producción diaria de esperma. Un adecuado manejo de la fotoestimulación inicial de los machos reproductores, tiene un profundo efecto sobre la función testicular. Cabe mencionar también que la altura de la cresta y su coloración tienen una buena correlación con el adecuado desarrollo corporal como también, con un buen desarrollo testicular. El tamaño de la cresta representa la integración de la respuesta del axis gonadal hipotalámico – pituitario a la estimulación lumínica; y podemos considerarla como una característica rutinaria, e importante de la madurez sexual externa y del estatus reproductivo de los machos. Otros signos de buena actividad sexual, son el enrojecimiento de los tarsos y la lubricación, la perdida de plumón y el enrojecimiento de los folículos, en el área de la cloaca a causa de la fricción durante la cópula.

ETAPA DE PRODUCCIÓN

Esta parte del manejo da inicio con el apareamiento, que es un proceso consistente en juntar a los machos con las hembras en una proporción adecuada (8 a 9 machos por cada 100 gallinas) y con fines reproductivos, es un período crítico de gran importancia, hacerlo correctamente es clave para obtener el éxito futuro en la fertilidad y reproducción correcta de la parvada. Es fundamental la madurez sexual tanto de los machos como de las hembras, esta sincronización evitará agresiones, lesiones, mortalidad y rechazos. Se requiere de supervisión para verificar la armonía de la parvada en el galpón.

El peso de los machos para aparearlos, debe ser de un 20% a un 25% mayor al de las hembras y su estructura física (morfológica) recta, y con una configuración de pechuga en forma de "v" que es fundamental para poder realizar adecuadamente el acoplamiento durante la cópula.

Con respecto a la alimentación se considera que las necesidades nutricionales de los machos en edad reproductiva, son inferiores a las de las hembras, por lo cual bajo condiciones de termo neutralidad, un gallo entre las 33 y 34 semanas de edad, requiere aproximadamente un consumo de 390a 400 Kcal. Kg/ave día, con un alimento que contenga idealmente 12% de

proteína cruda o como máximo un 14%, si es que vamos a usar el mismo alimento que en las hembras. Cubrir sus necesidades nutricionales les permite a los machos mantener un peso adecuado y una correcta estructura y conformación de pechuga ("fleshing" o "encarne"), para mantener una buena fertilidad. La alimentación separada de los machos y de las hembras es fundamental, para lo cual se deben usar comederos de hembras con rejillas de exclusión de machos (comúnmente estas miden 45 mm. De ancho por 60 a 65 mm. De alto).

Durante toda su vida los machos tienden a ganar peso, pero a partir de la semana 30 se requiere un mayor control de su ganancia, esta se da en una proporción de 25 a 30 gramos por semana (ganancia pequeña pero consistente).

Como ya hemos mencionado los testículos aumentan rápidamente su peso al darse la foto estimulación. Los machos con testículos de un peso menor a 12 gramos el par a las 20 semanas de edad, se consideran estériles y solo los machos que alcancen un peso testicular superior a los 22 gramos el par, serán capaces de fertilizar con mayor eficiencia. El pico de fertilidad suele darse entre las 30 y 36 semanas de edad en los machos y cerca de las 40 semanas de edad, da inicio la regresión testicular y normalmente va declinando la fertilidad.

Es conveniente que los machos pasen a la granja de producción para el proceso de apareamiento, por lo menos un par de días antes que las hembras. Previa selección, eliminando machos demasiado pasados de peso, así como los que tengan exceso de carne en la pechuga o machos muy ligeros con mala conformación de pechuga (revisar muy bien el "encarne" o "fleshing"). El sobrepeso puede causar problemas de patas y de piernas en los machos jóvenes afectando su habilidad para pisar (montar). En resumen, el peso, la uniformidad, el coeficiente de variación y la alimentación correcta, serán fundamentales para garantizar la talla y una buena conformación morfológica de los machos.

TÉCNICAS DE MANEJO PARA REDUCIR LA DECLINACIÓN DE LA FERTILIDAD EN LOS MACHOS:

Trabajos recientes en machos, nos dan evidencias científicas, que nos permiten encausar el manejo más al terreno de mantener una buena estructura morfológica, una adecuada conformación de pechuga ("encarne" o "fleshing"), un peso y uniformidad adecuados, patas fuertes y bien desarrolladas, así como un número correcto de machos en relación a la población de hembras; para garantizar la eficiencia en la cópula y mantener una buena fertilidad.

La información numérica y el análisis de los datos de lo que está pasando en el campo y en la planta de incubación, en forma sistemática, actualizada y comparada, con los estándares, nos permite evaluar nuestro trabajo y tomar acciones de manejo correctivo en caso necesario y a tiempo, para mantener la mayor fertilidad posible en las parvadas y alcanzar la mayor cantidad

de producción de huevo incubable, fértil, para lograr producir la mayor cantidad posible de pollitos de alta calidad. El objetivo será lograr nacimientos entre 10 a 20 semanas por arriba del 90% y un promedio anualizado que oscile de un 86% a un 88%. Cuando aparecen desviaciones, se pueden aplicar los programas de "spiking" que ayuden a reducir o compensar la declinación de la fertilidad en cualquier edad.

se llama "spiking" a la adición de machos jóvenes a parvadas de hembras de mayor edad, en el momento que esto sea necesario, con el objetivo de mantener o compensar cualquier disminución de la fertilidad, sobre todo la que ocurre en los machos después de la segunda mitad de su vida reproductiva, que puede estar relacionada principalmente con una falla de la eficiencia en la cópula, pérdida de libido, sobrepeso, exceso de mortalidad, o eliminación por cualquier otra causa imprevista, como falta de machos, reducción de la movilidad y/o descenso en la calidad espermática.

El procedimiento consiste en remplazar parcialmente la población de machos adultos o viejos, por machos jóvenes de por lo menos 28 semanas de edad y con un peso mínimo de 3.8 kilogramos. Estos machos se integran todos juntos en una sola caseta, en un área determinada, preferentemente al centro del gallinero, separados de los machos viejos, para evitar bajas por combates. La adición se da en una proporción de un 25% del total. Estos machos revitalizan la disputa de la jerarquía y estimulan la monta. Los resultados son manifiestos entre dos y tres semanas posteriores y deben dar como resultado una persistencia de 6 a 8 semanas.

PROGRAMAS DE SPIKING:

1. Spiking necesario, se aplica en cuanto la fertilidad comienza a declinar o llega a valores inferiores a un 90%. Esto se detecta monitoreando cuidadosamente los nacimientos y los valores de fertilidad en campo mediante el quebrado de huevo, así con la técnica de incubación en campo y la revisión del desarrollo embrionario a los ocho días. Existen también técnicas de laboratorio, que consisten en el conteo de los orificios internos de la capa perivitelina, alrededor del disco germinal, producidos por la penetración de los espermatozoides, conocido como prueba de penetración (una buena fertilidad requiere de por lo menos 100 orificios).
2. En algunas compañías, en forma preventiva y sin que haya declinado la fertilidad en la parvada, se separan los machos que no se ven con una buena configuración, peso y aspecto; y se adicionan machos jóvenes para hacer un spiking, en edades tan tempranas como pueden ser las 28 o 30 semanas.
3. El intraspiking, es otra posibilidad y consiste en seleccionar e intercambiar machos de la misma edad en su misma parvada, entre casetas o entre divisiones, buscando romper el orden jerárquico establecido, para estimular la monta, la cópula y por ende buscar mantener la fertilidad.
4. Los programas de spiking tienen como desventaja que aparte de que se requiere contar con instalaciones para mantener machos excedentes para este proceso, en divisiones

con diferentes edades, para poder intercalarlos a las parvadas en donde sea necesario; tiene un costo económico de operación y un grado de riesgo sanitario.

CONCLUSIONES

1. La industria avícola continuará creciendo y las exigencias en mejoras genéticas seguirán aumentando cada vez más.
2. Durante toda la etapa de crianza de los machos, es muy importante salvaguardar su salud general, la integridad intestinal en lo particular y la modulación del crecimiento, mediante la aplicación de programas de manejo, programas de alimentación, y de una adecuada nutrición, que nos garanticen alcanzar los pesos adecuados en base a la edad, la conformación correcta de su estructura morfológica y el desarrollo correcto de su aparato reproductor, para lograr un crecimiento armónico de todo su organismo, fundamental para alcanzar una buena fertilidad inicial.
3. El consumo acumulado de energía y de proteína en los machos a la edad de recibir la fotoestimulación es de gran relevancia para un buen desempeño reproductivo. No existe una correlación entre el peso corporal y el peso de los testículos, pero cabe destacar, que el peso de los testículos, es muy importante y está íntimamente relacionado con la concentración de FSH y la producción diaria de esperma.
4. La fertilidad debe verse como un asunto de parvada, que involucra tanto a las hembras como a los machos.
5. Parvadas bien manejadas y con un desarrollo adecuado, tienen el potencial para alcanzar a las 25 semanas de edad, una producción de huevo fértil, que permita obtener nacimientos de un 77% a un 78%.
6. La consistencia y objetividad de la información avalada con un análisis y estudio comparativo, le dan valor a los datos y permiten tomar decisiones financieras adecuadas.
7. La validación económica es tanto o más importante que solo hacer mediciones de parámetros productivos.
8. La nutrición y los programas de alimentación de los machos de conformación, así como su manejo, están cambiando y continuarán haciéndolo en el futuro.
9. Los programas de spiking, tienen implicaciones económicas y sanitarias que deben ser seriamente analizadas; existen opiniones encontradas con respecto al valor real de su utilización. En nuestra experiencia y con base a los resultados productivos obtenidos, así como en su evaluación económica, es una buena alternativa rentable, para reducir la declinación de la fertilidad de las parvadas.

Regresar a lista de contenidos

EMPLEO DE DIFERENTES NIVELES DE ENERGÍA METABOLIZABLE Y LISINA DIGESTIBLE EN GALLINAS HY-LINE W36 AL INICIO DE LA PRODUCCIÓN

Fuente MB, Cortes HE, Jiménez MT, Ávila GE
Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
benjaminfuente@yahoo.com.mx, barbaraelian4@hotmail.com

Resumen
Con objeto de evaluar de diferentes niveles de lisina digestible y energía metabolizable en dietas para gallinas al inicio de la producción, se realizó un experimento. Se utilizaron 960 gallinas Hy-Line W36 de 18 a 28 semanas de edad, alojadas en jaulas. Se empleó un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial de 4x4; el primer factor, fueron los niveles de energía metabolizable (2700, 2800, 2900 y 3000 kcal/kg) y el segundo la inclusión de diferentes niveles de lisina digestible (0.56, 0.67, 0.78 y 0.89%). Cada tratamiento, contó con 4 repeticiones de doce gallinas cada uno. Los resultados obtenidos mostraron que para obtener una máxima masa de huevo/ave se requieren 0.89% de lisina digestible y 3000 Kcal EM/Kg en la dieta. Se puede concluir que para obtener una máxima masa de huevo en las primeras 10 semanas de produccion de la gallina ligera se requieren 890 mg/ave/día y un consumo de 291 kcal de EM/ave/día.
Palabras clave**:** Lisina digestible, gallina de postura, energía metabolizable, masa de huevo

Introducción

La aves consumen alimento en primera instancia, para satisfacer sus necesidades de energía, si la dieta es deficiente de energía la aves consumirán mayor cantidad de alimento, por el contrario, si el contenido es mayor menor será su consumo de alimento. También el consumo de alimento es regulado por el balance de aminoácidos esenciales, siendo mayor cuando está bien equilibrada. El consumo de alimento varía de acuerdo a la edad y a la etapa de produccion. El consumo de energía el principio de la produccion es un factor muy importante que influye en el pico de postura y en el peso del huevo. Desde el punto de vista nutricional el tamaño de huevo puede manipularse a través del aporte adecuado de energía metabolizable y aminoácidos esenciales en las dietas para gallinas de postura.[1]
El peso del huevo es el resultado de caracteres genéticos cuantitativos con un alto grado de heredabilidad (55%).la selección genética trata de aumentar el tamaño de huevo las razas más pesadas y semipesadas tienden a producir huevos de mayor peso con respecto a la gallina ligera. Los principales avances en la genética de la gallina de postura comercial se manifiestan en la edad al inicio de la postura y en la mortalidad durante el inicio de produccion, así como el

aumento de números de huevos producidos y en el peso de los mismo (al inicio de la postura).[2] Con estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes niveles de energía metabolizable en la dieta y diferentes niveles de lisina digestibles desde el inicio hasta el pico de producción.

Material y métodos

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.A.v) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle de Salvador Díaz Mirón No.89, en la Colonia Santiago Zapotitlán de la Delegación Tláhuac, Distrito Federal, a una altura de 2250 msnm entre los paralelos 19°15´ latitud Oeste. Bajo condiciones de clima templado húmedo Cw, siendo enero el mes más frío y mayo el más caluroso, su temperatura promedio anual es de 16°C, con una precipitación pluvial anual media de 747 mm.

Se utilizaron 960 gallinas Hy-Line W36 de 18 semanas de edad, con un peso corporal promedio de 1501±20g. Las gallinas fueron alojadas en jaulas, en una caseta de ambiente natural. Las aves, se distribuyeron conforme a un diseño completamente al azar, en 80 grupos de 12 aves cada uno. Los tratamientos consistieron en el empleo de diferentes niveles de energía metabolizable y lisina digestible. Se empleó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 4x4; donde el primer factor, fueron los niveles de energía metabolizable (2700, 2800, 2900 y 3000 kcal/kg) y el segundo factor la inclusión de diferentes niveles de lisina digestible (0.56, 0.67, 0.78 y 0.89 %).Cada tratamiento, conto con 4 repeticiones de doce gallinas cada uno.

Los tratamientos o dietas experimentales y los análisis calculados se muestran en el Cuadro 1, donde se cubrieron los requerimientos que marca el manual de la estirpe a excepción de la energía metabolizable y la lisina digestible; se adicionó un inerte a las dietas basales para sustituirlas por L-lisina HCl y tener los diferentes niveles de lisina digestible estudiados. El alimento y el agua se ofrecieron a libre acceso durante todo el experimento.

Se llevaron registros semanales durante 10 semanas de porcentaje de postura, peso promedio de huevo, consumo de alimento; se calculó la masa de huevo por ave y el índice de conversión alimenticia.

A los datos obtenidos de las variables estudiadas, se les realizaron análisis estadísticos conforme al diseño experimental empleado y comparación de medias con la prueba de Tukey cuando hubo diferencias entre tratamiento.

Resultados

Los resultados promedio obtenidos en 10 semanas de experimentación (Cuadro 2) indicaron que la produccion de huevo, la masa de huevo por ave día y la conversión alimenticia fueron mejores (P< 0.05) con el nivel más alto de lisina digestible. No se encontró efecto para peso promedio de huevo y conversión alimenticia a niveles de lisina.

Para niveles de energía metabolizable, se encontró mayor peso de huevo fue con el nivel de 3000 Kcal EM (55.6 g) y el mayor consumo de alimento con el nivel de 2700 Kcal EM (101 g) (P< 0.05). No se encontró respuesta a porcentaje de postura, masa de huevo, ni conversión alimenticia (P< 0.05) a energía metabolizable. Lo anterior indica que 0.89% de lisina digestible fue el nivel optimo para una máxima masa de huevo ave día, lo equivalente a 890 mg de lisina por ave por día, considerando un consumo de alimento diario de 100g y un consumo de 290 a 300 kcal de EM por ave por día. Es decir se requieren 18.7mg de lisina por cada gramo de masa de huevo (890/47.4) y 6.3 kcal de energía metabolizable.

Discusión

El incremento del peso de huevo al incrementar la energía metabolizable esto se pudo deber a que las aves se encontraban al inicio de la producción y tienen un alto requerimiento de energía; además se pudo apreciar que las aves regularon su consumo de alimento consumiendo una mayor cantidad cuando el nivel fue más bajo varios autores mencionan que la gallina de postura es capaz de regular su consumo por la cantidad de energía presente en el alimento. En cuanto al efecto benéfico al adicionar el nivel más alto de lisina digestible (0.89%) en la dieta sobre el porcentaje de postura concuerdan con los resultados obtenidos por Novak et al (1996)[4] y Fuente et al (2005)[3] quienes indican mayor requerimiento de este aminoácido para la producción de huevo en las estirpes actuales.

Conclusiones

De los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales empleadas se puede concluir que para obtener una máxima masa de huevo en las primeras 10 semanas de produccion de la gallina ligera se requieren 890 mg /ave/día de lisina y un consumo de 291 kcal/ave/día.

REFERENCIAS

1. Cuca GM. Ávila GE, Pro MA. 2008. Alimentación de las aves. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario. Departamento de Zootecnia.
2. Fuente MB. Factores que afectan el tamaño del huevo. Zootecnia y manejo de las aves productoras de huevo comercial. SUA. México D.F (en prensa)
3. Fuente MB, Díaz CA, Lecumberri LJ, Ávila GE. Digestible lysine and sulfur amino acids requirements in White Leghorn hens. Veterinaria México 2005; 2: 135-145.
4. Novak C. Yakout H. Scheideler S. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Delkab Delta laying hens. Poultry Science 2004; 83: 977-984.

Cuadro 1.Composición de las dietas basales empleadas con diferentes niveles de EM y lisina digestible (kg)

Ingredientes(kg)	2700	2800	2900	3000
	Kcal/Kg			
Sorgo	644.557	621.630	598.701	576.191
Pasta de Soya	209.612	213.779	217.947	221.272
Carbonato de Calcio	99.400	99.363	99.327	99.295
Fosfato de Calcio	16.766	16.830	16.894	16.960
Celulosa	8.000	8.000	8.000	8.000
Aceite Vegetal	5.939	24.709	43.480	62.084
Sal	4.288	4.290	4.291	4.293
Gluten de Maíz	4.000	4.000	4.000	4.577
DL-Metionina	2.088	2.110	2.132	2.147
Minerales traza	1.000	1.000	1.000	1.000
Secuestrante	1.000	1.000	1.000	1.000
Pigmento amarillo (15g/kg)	1.000	1.000	1.000	1.000
L-Treonina	0.847	0.842	0.837	0.831
Cloruro de Colina 60%	0.500	0.500	0.500	0.500
Bacitracina de zinc	0.300	0.300	0.300	0.300
Vitaminas Ponedoras	0.200	0.200	0.200	0.200
Pigmento rojo (5g/kg)	0.200	0.200	0.200	0.200
L-Lisina HCl	0.153	0.097	0.041	0.000
Antioxidante	0.150	0.150	0.150	0.150
Total	1000	1000	1000	1000
Análisis Calculado				
Energía Metabolizable Kcal/Kg	2700	2800	2900	3000
Proteína Cruda %	16.03	16.05	16.07	16.09
Met+Cistina %	0.67	0.67	0.67	0.67
Lisina %	0.69	0.69	0.69	0.69
Treonina %	0.63	0.63	0.63	0.63
Met+Cistina Digestible %	0.54	0.54	0.54	0.54
Lisina Digestible %	0.56	0.56	0.56	0.56
Treonina Digestible %	0.46	0.46	0.46	0.46
Calcio %	4.00	4.00	4.00	4.00
Fosforo %	0.44	0.44	0.44	0.44
Sodio %	0.18	0.18	0.18	0.18
Linolenico %	1.13	2.04	2.96	3.87

Cuadro 2. Resultados del comportamiento productivo en gallinas Hy-Line W36 alimentadas con diferentes niveles de energía metabolizable y lisina digestible.

Energía Metabolizable Kcal/kg	Lisina digestible %				
	0.56	0.67	0.78	0.89	Promedio
	Porcentaje de postura				
2700	83.5	82.8	84.9	85.6	84.2[a]
2800	82.2	83.9	84.1	86.1	84.1[a]
2900	84.2	85.2	85.7	82.5	84.5[a]
3000	81.2	84.5	82.4	87.4	83.9[a]
Promedio	82.8[b]	84.2[ab]	84.3[ab]	85.4[a]	
	Peso promedio de huevo g				
2700	55.3	54.6	54.7	54.5	54.8c
2800	54.5	54.9	55.3	54.5	54.8c
2900	55.0	55.6	55.2	55.1	55.2b
3000	55.6	55.6	55.7	55.4	55.6[a]
Promedio	55.1[a]	55.2[a]	55.2[a]	54.9[a]	
	Masa de huevo ave día g				
2700	46.9	46.0	47.0	47.2	46.8[a]
2800	45.5	46.6	47.0	47.5	46.7[a]
2900	47.0	48.0	47.9	46.1	47.3[a]
3000	45.7	47.7	46.6	48.9	47.3[a]
Promedio	46.3[a]	47.1[b]	47.1[b]	47.4[b]	
	Consumo de alimento ave día g				
2700	99.9	102.0	103.0	100.5	101.0[a]
2800	100.9	100.2	100.2	101.2	100.7[ab]
2900	97.6	99.4	100.8	101.3	99.8[b]
3000	95.2	97.5	98.1	97.2	97.0[c]
Promedio	98.4[b]	99.6[a]	100.3[a]	100.0[a]	
	Índice de conversión alimenticia Kg: Kg				
2700	3.010	2.750	2.460	2.450	2.668[a]
2800	3.220	2.450	2.470	2.510	2.663[a]
2900	2.410	2.400	2.470	2.590	2.468[a]
3000	2.370	2.400	2.690	2.170	2.408[a]
Promedio	2.753[a]	2.500[b]	2.523[c]	2.430[c]	

Diferentes letras en filas y columnas muestran diferencias estadísticas (P<0.05)

Regresar a lista de contenidos

MANEJOS EN CRIANZA PARA EL INICIO OPORTUNO DE LA PRODUCCIÓN

José Raúl Ferzuli Rangel
Incubadora Mexicana, S.A. de C. V.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de que no se logre el número total de huevos por ave alojada es el retraso del inicio de la producción, retraso que, a pesar de que la persistencia final sea superior a la meta de producción, hará que no se llegue al cumplimiento de los estándares fijados.

Este retraso en el inicio de la producción es debido a problemas durante la crianza, que pueden ser desde problemas infecciosos, hasta problemas de manejo, que no permiten que la polla logre el peso y la madurez necesarios para iniciar producción a la edad esperada.

Un retraso en el inicio de producción de entre 2 a 3 semanas, invariablemente hará que el logro final de los parámetros productivos no se logre, a menos que la persistencia sea exageradamente superior al estándar, situación que difícilmente se presenta en el campo.

Dentro de los manejos más importantes de la crianza de una polla y que deben ser controlados para el logro de los pesos corporales y uniformidades, podemos citar:

- Calidad y peso de la pollita a la recepción.
- Programa de alimentación
- Despique.
- Programas de vacunación.
- Programa de iluminación.

CALIDAD Y PESO DE LA POLLITA A LA RECEPCIÓN

Es importante conocer el peso de la pollita al llegar ya que nos permite tener un parámetro para planear el criterio sobre el manejo de la crianza y darle las condiciones optimas de temperatura; el peso a la llegada debe ser entre 30 a 32gr, por lo que si se registran pesos de pollita menores a estos se debe tener mayor cuidado con las bajas temperaturas, esto quiere decir, que por las madrugadas no baje a menos de 30 grados como normalmente sucede en las casetas de crianza. La temperatura al llegar debe ser alrededor de 34 grados por lo menos los primeros 6 días, después baja entre 28 a 30 grados en la segunda semana y así se disminuye por semana y se ventila hasta que la pollita esté en condiciones para retirar el calor de las casetas (esto de acuerdo a la época del año y la zona). El uso de termómetros nos permite regular la temperatura para darle el confort necesario a las aves, además de que su comportamiento será el mejor parámetro para saber si están bien o no, esto es muy clásico si tienen calor se observarán hacia

las orillas de la fuente de calor o echadas en el piso con poca actividad en lugar de correr, tomar agua, y ocupar el espacio total de donde se encuentren, pero si tienen frío estarán debajo de la fuente de calor amontonadas, lo que provocará que no beban ni coman adecuadamente. Si las aves son expuestas a temperaturas muy elevadas sin buena ventilación podríamos provocar en las pollitas por ejemplo taponamientos, deshidratación, y si llegaran con problemas de ISV se aumentaría la mortalidad por este concepto, en caso contrario, si se enfriaran podrían sufrir hipotermia y morir, además tampoco comen ni beben adecuadamente lo que nos lleva a iniciar con retraso en el peso y mala uniformidad. El buen manejo de la temperatura en la crianza se refleja en menor mortalidad, mejor ganancia de peso, uniformidad, respuesta a vacunaciones, tratamientos, etc.

La calidad de la pollita se refiere a un ave que sea viable con buena actividad, peso, condición física es decir no dedos torcidos, picos chuecos, problemas de ISV o cualquier otro problema infeccioso o de manejo durante su tiempo de incubación.

Al llegar las aves a la crianza se debe de asegurar que beban y coman, ya que en el transporte normalmente viajan muchas horas sin acceso al agua y alimento.

PROGRAMA DE ALIMENTACIÓN

El programa de alimentación de las aves debe de estar adecuado a las instalaciones de la empresa y necesidades de la misma, esto es que, no pueden ignorar la densidad con que trabajan ya que el acceso al alimento es una limitante importante y si fuera el caso, en los gramos que pueda consumir la pollita deberá tener los nutrientes necesarios para su desarrollo. La recomendación general e crianza:

Iniciador	0 - 8 semanas, o, 0.560 Kg.
Crecimiento	9 – 15 semanas, o, 1.110 Kg.
Postura	16 semanas en adelante

Nota: Importante subir el nivel de calcio entre 14 y 16 semanas a 3% partícula fina, y realizar los cambios de fase tomando en cuenta el peso de las aves y no la edad.

DESPIQUE

Este manejo es decisivo en el desarrollo del ave debido a que dependiendo del trabajo que se realice pueden o no obtenerse los resultados productivos en la parvada. Se ha observado ya en múltiples parvadas que si se deja un pico demasiado corto no se lograrán las producciones adecuadas (picos de producción), si se dejan picos muy largos el ave desperdicia alimento y se puede provocar picaje (esto dependiendo de las condiciones de cada granja), por lo que es necesario desarrollar por empresa el tipo de despique de acuerdo a sus condiciones.

Si el manejo de despique no se hace adecuadamente se provocará un retraso en el desarrollo de la parvada, que se refleja en menor peso corporal y mala uniformidad de la misma, lo que traerá como consecuencia un retraso en el inicio de postura hasta que el ave obtenga las condiciones físicas para ello o si a pesar de su bajo peso corporal se presentara el inicio de producción, se pueden tener mortalidad elevada por prolapso o desgaste de las aves.

La recomendación para un buen despique se deberá establecer dependiendo de las condiciones de manejo, instalaciones y necesidades de cada empresa. Para las aves Bovans contacte al departamento de servicio técnico de Incubadora Mexicana.

PROGRAMAS DE VACUNACIÓN

Los programas de vacunación se han vuelto un problema en el desarrollo de las aves debido a que cada vez son mas las vacunas que se deben aplicar (dependiendo de la zona en que se produzca) y se maneja a las aves continuamente. Algunos manejos son suaves, pero la mayoría producen además del estrés que involucra el manejo, disminución en el consumo de alimento que nos lleva de nuevo a un retraso en el peso y uniformidad de la parvada. Por lo que se ha vuelto una lucha constante de los técnicos por reducir estos manejos y utilizar nuevas alternativas para inmunizar a las aves basándose en los nuevos productos que aparecen en el mercado continuamente. Esto no es nada fácil debido a que los problemas infecciosos son cada vez mayores y es necesario estar seguro de que las parvadas tengan adecuadamente sus niveles de protección contra los desafíos que enfrentarán en el campo.

PROGRAMA DE ILUMINACIÓN CRIANZA

Esta es un arma que nos ayuda a lograr que el ave tenga el tiempo suficiente para comer logrando mejores pesos corporales y uniformidad, al mismo tiempo participa en la uniformidad de la maduración de la parvada al llegar a postura, logrando con esto mejores picos de producción y mejores persistencias a lo largo de su ciclo.

Sin embargo, el manejo del programa de luz no debe ser estricto, es decir, se elabora el programa de crianza y postura al inicio de la recepción y después se debe aplicar el criterio del médico para su manejo, basándose en el comportamiento de cada parvada a lo largo de su desempeño y problemas que haya enfrentado durante su desarrollo para que sea realmente útil para las aves.

En general los manejos de crianza buenos o malos, así como los problemas que pueda sufrir la parvada, se reflejarán en el resultado que se tenga en la etapa de producción, por lo que es importante identificar los puntos críticos y trabajar en ellos para minimizar errores, ya que al llegar a postura no será fácil corregir las fallas de desarrollo.

Cuando una parvada no tiene las condiciones físicas adecuadas para su inicio de postura se presenta un retraso en el mismo de una o dos semanas, lo que provoca una pérdida de hasta 5 o 6 huevos por ave alojada al final del ciclo y se necesitarían condiciones muy especiales para recuperar estos huevos, las cuales normalmente no se presentan en el campo.

ETAPA DE PRODUCCIÓN

En este período se reflejará, como ya se mencionó, el trabajo realizado en crianza, ya que dependiendo de las condiciones de las aves, la parvada iniciará a tiempo su postura o se presentará un retraso de la misma.

Las líneas actuales ya no dependen tanto del estímulo del programa de luz para iniciar su producción, ahora normalmente si tienen buen peso corporal se verán los primeros huevos, independiente de la edad (influye la genética de la línea), sin embargo, los criterios recomendados para manejos en el inicio de postura son los siguientes:

1. Las aves deben tener 1,250 kg de peso corporal
2. La uniformidad no menor al 80 %
3.

Si las dos anteriores se cumplen entonces, iniciar los estímulos de luz, si no, entonces no dejar pasar más allá de la semana 20.

Se debe tener cuidado de que la parvada esté consumiendo alimento de postura por lo menos una semana antes de que tenga producción por que es común que se le de al presentar los primeros huevos, este criterio fue bueno anteriormente solo que ahora las aves tienen genéticamente un arranque a edad temprana (17-18 semanas de edad) y su producción aumenta muy rápido por lo que se necesita un alimento con los niveles nutricionales en el momento de su arranque.

Es importante recordar que se vive una etapa comercial en la que los costos son los que deciden la vida de una empresa y la etapa de desarrollo representa una inversión muy grande para las empresas avícolas por lo que se necesita que lo antes posible la parvada se empiece a pagar y esto sólo será posible con su producción de huevo, lo que hace mas crítico el lograr que inicie pronto su ciclo productivo.

En algunos casos se habla de que los primeros huevos no son comerciales por su peso y tamaño, pero se deben tomar en cuenta algunos aspectos:

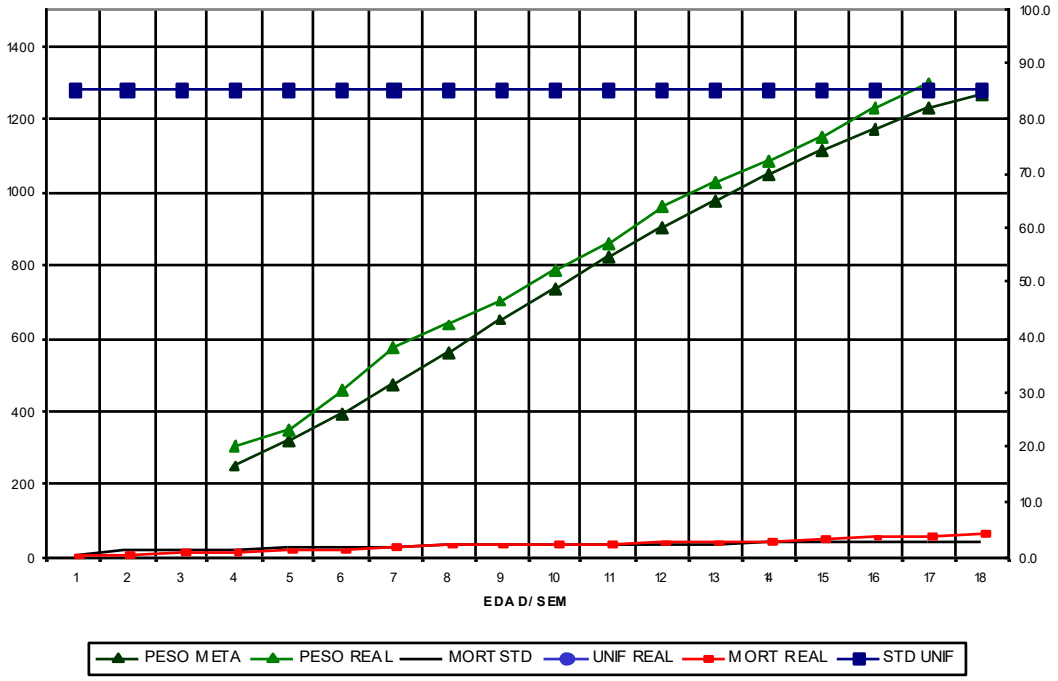
- Si se venden estos huevos siempre será un ingreso para la empresa.
- No todas las líneas tienen el mismo peso inicial de huevo y de crecimiento del mismo en las primeras semanas de producción.
- El inicio temprano de postura ayudará de alguna manera a mantener el tamaño de huevo en la parvada.

- No será fácil recuperar los huevos que se pierdan, a pesar de que si hay un retraso en el inicio de producción, el peso de huevo al arranque y durante todo el ciclo, sea mayor.

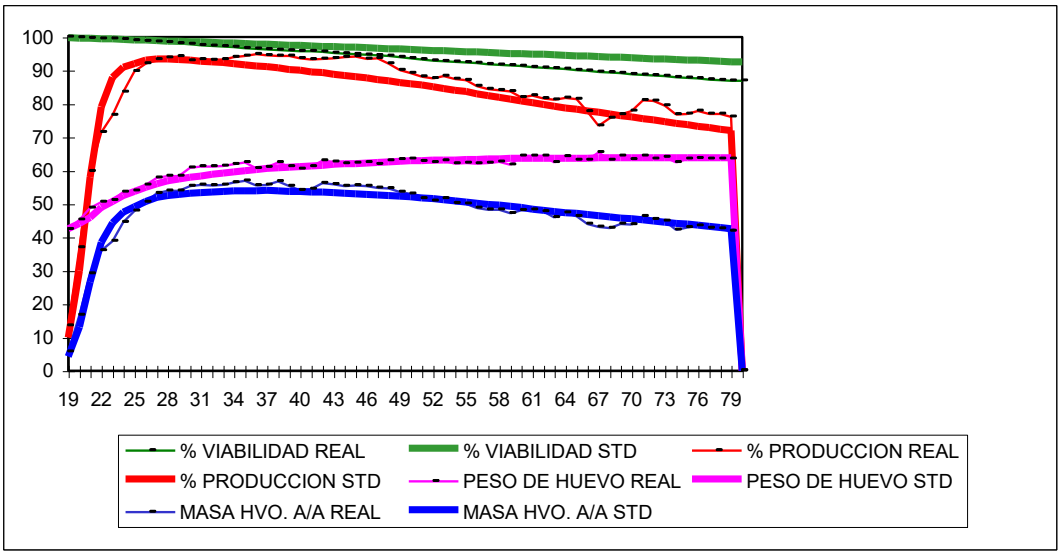
Actualmente existe la tendencia de pasar cada vez más joven a las parvadas a las áreas de producción con el fin de tener mejores resultados en los arranques de postura y en su desempeño a lo largo de su ciclo, sin embargo, no recordamos que si además de pasar antes a las aves, todavía se retrasa el inicio de producción, estamos dejando más semanas abiertas entre la salida y entrada de las parvadas, lo que significa para las empresas períodos muy grandes sin su volumen de huevo necesario para mantenerse y mantener su demanda en el mercado. Un Ejemplo de Calendario de vacunación es:

EDAD	VACUNA	VIA DE APLICACIÓN
3 día	Gumboro Lukert	Agua de bebida
8 días	Newcastle+Bronquitis virus vivo	Ocular
14 días	Gumboro Lukert	Agua de bebida
3 semanas	Newcastle+Bronquitis virus vivo. Newcastle+Bronquitis emulsión.	Ocular Subcutánea
5 semanas	Laringotraqueítis Viruela aviar Bact. Coriza-Pasteurella.en caldo.	Ocular Punción ala Intramuscular
8 semanas	Newcastle+Bronquitis virus vivo	Ocular
11 semanas	Corizan Laringotraqueítis Viruela+Encéfalo	Intramuscular Ocular Punción ala
13 semanas	Bronquitis Con-Mass	Agua de bebida
14 semanas	Coriza-New-Bronq-EDS. Newcastle	Intramuscular Ocular
16 semanas	Pasteurella	Intramuscular
18 semanas	New	Subcutánea

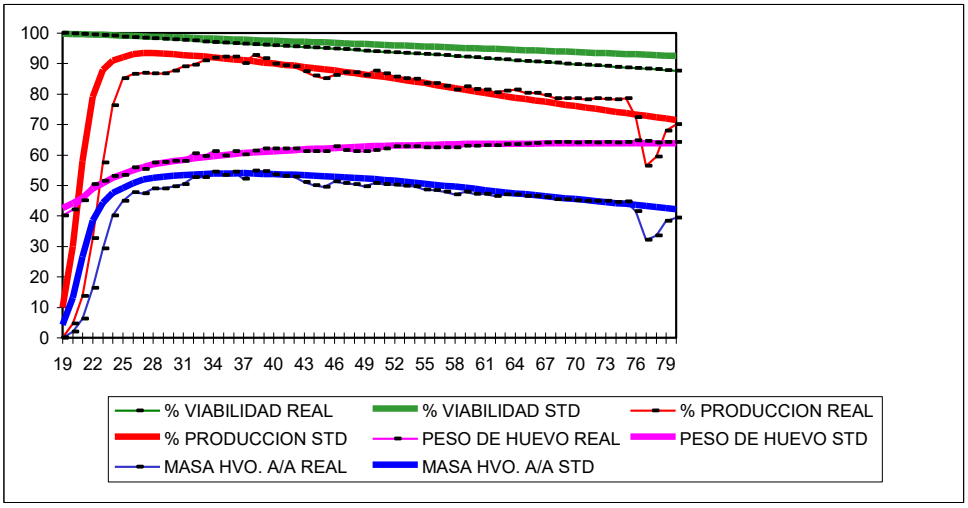
A continuación veremos algunos ejemplos en gráficas tanto de pesos corporales de crianza como de resultados de producción con los diferentes inicios de postura, así como sus parámetros productivos acumulados.



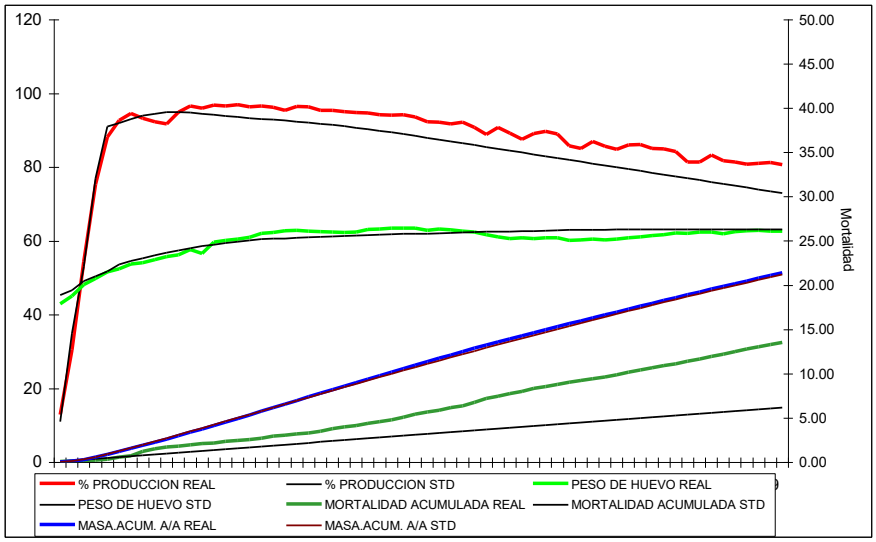
RESUMEN	REAL	STD	EFIC
NUMERO DE HUEVOS POR AVE ALOJADA	335.45	336.3	99.7%
MASA DE HUEVO ACUMULADA AVE/ALOJADA	20.52	20.44	100.4%
PESO PROMEDIO DE HUEVO AVE/ALOJADA	60.818	60.48	100.6%
MORTALIDAD	13.17	7.4	56.2%
CONSUMO DE ALIMENTO AVE/ALOJADA	44.45	43.95	98.9%
CONVERSION ALIMENTICIA	2.03	2.07	102.2%
INDICE DE PRODUCTIVIDAD	237	231	102.5%



RESUMEN	REAL	STD	EFIC
NUMERO DE HUEVOS POR AVE ALOJADA	317.9	340.9	93.3%
MASA DE HUEVO ACUMULADA AVE/ALOJADA	19.47	20.73	93.9%
PESO PROMEDIO DE HUEVO AVE/ALOJADA	60.4	60.5	99.8%
MORTALIDAD	12.4	7.5	60.7%
CONSUMO DE ALIMENTO AVE/ALOJADA	41.335	44.7	108.1%
CONVERSION ALIMENTICIA	1.99	2.07	104.3%
INDICE DE PRODUCTIVIDAD	226	230	98.0%



RESUMEN	REAL	STD	EFIC
NUMERO DE HUEVOS POR AVE ALOJADA	355.33	350.32	101.4%
MASA DE HUEVO ACUMULADA AVE/ALOJADA	21.423	21.217	101.0%
PESO PROMEDIO DE HUEVO AVE/ALOJADA	59.89	60.32	99.3%
MORTALIDAD	13.53	6.20	46%
CONSUMO DE ALIMENTO AVE/ALOJADA	42.987	43.394	101%
CONVERSION ALIMENTICIA	1.882	1.980	105%
INDICE DE PRODUCTIVIDAD	262.34	246.94	106%



Al final de cada parvada se debe analizar el resultado productivo basándose en los parámetros por ave alojada como: masa de huevo, número de huevos, peso promedio de huevo, mortalidad, conversión, índice de productividad, etc.

Y por supuesto no estará completo hasta que se exprese en dinero, ya que los números como tales podrían ser engañosos si no se llega a este punto.

Comparativo PARVADA A (BUEN INICIO) CONTRA PARVADA B (INICIO TARDE)

	PARVADA A	PARVADA B	Diferencia
Masa de huevo a/a Kg	21.42	20.39	1.030
Consumo alimento a/a Kg	42.980	41.860	1.120
Conversión	1.88	1.94	-0.06
Costo Alimentación	$ 2.25	$ 2.25	$ -
$ Kg Huevo	$ 7.00	$ 7.00	
Ingreso extra por masa	$ 7.21		$ 7.21
Costo alimentación	$ 96.71	$ 94.19	$ 2.52
Diferencia Ingreso-Costo			$ 4.69
Parvada de	100,000		
Diferencia Total Parvada			**$469,000.00**
Mortalidad	13.50%	11.27%	
Edad	80	SEMANAS	

DISTRIBUCIÓN PESO DE HUEVO

	Semanas		
Peso			DIFERENCIA
60-62 g			#¡DIV/0!
62-64 g			#¡DIV/0!
60-64 g			#¡DIV/0!
Kg de Huevo 60-62 g	0	0	
Kg de Huevo 62-64 g	0	0	
Kg de Huevo 60-64 g	0	0	#¡DIV/0!

Regresar a lista de contenidos

CONSEJOS PRÁCTICOS PARA EL MANEJO DE LAS PONEDORAS EN PRODUCCIÓN

José Luis Avilés Galván
Incubadora Mexicana S.A. de C. V.

Dentro de los puntos prácticos más importantes para el manejo de ponedoras durante producción tenemos los siguientes:

- Traspaso
- Iluminación
- Selección
- Alimentación
- Calcio
- Control de peso corporal y peso de huevo

TRASPASO

Es importante conceptualizar el traspaso de las pollonas de la granja de desarrollo a postura, no sólo como pasar aves de un gallinero a otro, hay que tener en cuenta que el momento adecuado para hacerlo es clave para un buen inicio del ciclo productivo.

El tipo de alimento es la principal razón para hacerlo al cumplir las 16 semanas de edad. Durante el período final de la crianza, las pollas han estado consumiendo un alimento pobre en nutrientes y en especial y de crucial importancia, de calcio.
La polla está terminando de prepararse para el inicio de producción, por lo que es importantísimo que su ingesta de Calcio se eleve al 4%, ya que una vez que se inicia la producción, la demanda de este mineral es muy elevada.

Niveles de 2.5% de calcio pudieran parecer suficientes a 15 semanas de edad, pero si el traspaso se retrasara más allá de las 16 semanas, 2.5% de calcio será insuficiente.

Es de igual importancia que la polla se adapte a su nuevo ambiente de manera que pueda ganar peso y uniformidad, responsables del inicio oportuno de la producción, así como del pico y la persistencia.

ILUMINACIÓN

La polla debe traspasarse con el mismo número de horas de luz para evitar otro factor de estrés. Una vez que la polla se ha adaptado a las nuevas instalaciones, se pueden dar incrementos de luz de ½ hora por semana hasta llegar a 16 horas totales. La polla debe pesar al menos 1.250 Kg.

Iluminación Nocturna. La gallina no percibe estímulos luminosos cortos después de 2 horas de oscuridad, por lo que se puede implementar un programa temporal de iluminación de 12 a 1 ó 2 AM para estimular el consumo de alimento y así ganar peso y uniformidad.

Este programa en nada interfiere con el programa normal de estimulación y puede ser retirado en el momento que así se decida sin causar algún efecto adverso.

SELECCIÓN

Es necesario poner en las mismas condiciones de desarrollo a las gallinas para poder lograr el pico de producción y evitar retrasos severos que pudieran ser irreversibles.

De no hacerlo, tendremos gallinas demasiado flacas y gordas para producir, lo cual incrementará la mortalidad y no se lograrán los parámetros productivos.

ALIMENTACIÓN

Es importante dar el tipo de alimento adecuado para la fase de producción, así como la cantidad adecuada.
Cada fase de alimento está diseñada para el momento que está viviendo la gallina.

La primera fase está diseñada para lograr que la gallina siga ganando peso corporal, para que levante la curva de producción y para que el huevo incremente su peso y obtenga la resistencia necesaria.

El resto de las fases está formulado con menor concentración de nutrientes, toda vez que las gallinas lograr consumir mayor cantidad.

En el caso del Calcio y Fósforo, existe una relación inversa, conforme avanza la edad de la gallina, las necesidades de Calcio se incrementan y las de Fósforo disminuyen. Si no respetamos esta relación, tendremos un problema de descalcificación que nos ocasionará cascarones frágiles, así como mayor mortalidad de gallinas.

Para conservar esta relación, se tienen que cambiar las fases de alimento independientemente del porcentaje de producción.

La fase de alimento puede cambiarse por edad, por porcentaje de producción o por peso de huevo. Es recomendable ajustarse a lo que el mercado nos pida y siendo el caso, lo correcto es hacerlo una vez que hemos logrado el peso de huevo deseado y que se ve que empieza a rebasarlo.

Si el alimento está formulado apropiadamente, no debe haber baja de producción al cambio de fase.

Desde el inicio de producción es importante acostumbrar a las gallinas a comer sólo lo necesario para cumplir con los parámetros. Un comedero vació después de que las gallinas han consumido su ración, no implica una deficiencia de nutrientes.
Es vital apegarse al consumo de alimento para el cual la fase fue diseñada.
Sobre consumo de alimento causará engordamiento de las aves, mayor mortalidad y menor tasa de producción.

Ante la duda de si la gallina pudiera estar produciendo más de dársele mayor cantidad de alimento, se puede desafiar el consumo, agregando de 1 a 2 gr. extras de alimento y ver su efecto sobre la postura. Si esta incrementa, el alimento se deja, de lo contrario, se vuelve al consumo original.

Prolongar el consumo de las fases de alimento más allá de lo recomendado, nos traerá problemas de sobrepeso de huevo, sobrepeso de la gallina con mayor mortalidad, desequilibrio Ca-P y con él fragilidad de cascarón y finalmente desperdicio de dinero.

CALCIO
Niveles. El ave está preparada para consumir hasta 4 gr. de Calcio desde las 15-16 semanas sin causar problemas metabólicos. Esto en lugar de causar problemas, ayuda a preparar a la polla para el inicio de producción, que suele ser abrupto una vez que inicia. Dar el calcio "al primer huevo" o "al 5% de producción", nos llevará invariablemente a problemas de descalcificación, mismo que no podrá ser subsanado durante el resto de la vida de la gallina, independientemente de los intentos que se hagan.

Cuando el porcentaje está en 5%, no quiere decir que todas las gallinas estén produciendo 5%, habrá aves que aún no pongan y otras que ya vayan cerca del 10% y hacer esto sin el suministro adecuado de calcio es contraproducente.
Tamaño de Partícula. Igual de importante es dar el tamaño de partícula adecuado a la edad de la gallina.

Durante la crianza y desarrollo el tamaño de partícula deberá ser fino, no mayor a 0.2 mm. Durante la preparación para la producción y la producción, se requiere tanto de calcio fino, como de calcio grueso, 3 a 5 mm. La proporción al inicio de la producción puede ser 60-40 respectivamente, para posteriormente ser 50-50.

Partículas mayores a 0.2 mm. y menores a 3-5 mm. serán menos aprovechadas por el ave y dependiendo de las circunstancias de cada granja, pudieran ocasionar problemas de descalcificación.

CONTROL DE PESO CORPORAL

Lograr los pesos corporales en crianza es vital para el desarrollo y producción. En postura es importante para evitar engrasamiento de la gallina, que lleva a bajas de producción y mortalidad.

El que la gallina sobrepase el estándar de peso corporal en producción, es un indicativo de sobreconsumo de alimento, el cual debe ser atendido de inmediato.

Lo mejor es prevenir que las gallinas engorden y esto se logra a través del control del consumo de alimento, no de restricción de consumo, sino de vigilancia, que el ave se coma estrictamente lo necesario para la etapa de producción.

CONTROL DE PESO DE HUEVO

50% del peso del huevo está dado por el peso corporal al inicio de postura.

Aves ligeras producirán huevos ligeros, aves pesadas producirán huevos más pesados. Huevos pesados al final del ciclo tendrán menor calidad de cascarón.

Regresar a lista de contenidos

EFECTOS DE 3 DISTINTOS APORTES ALIMENTICIOS RESTRINGIDOS COMO INDUCTORES DE LA MUDA EN GALLINAS PONEDORAS, SOBRE LA PÉRDIDA DE PESO VIVO, LA REGRESIÓN DE OVARIO Y OVIDUCTO Y LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS

Callejo*, A.; Cardoso[1], W., Sanz, S., Daza, A; Buxadé, C.
Dpto. de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España
[1] Lab. de Estudios Ornitológicos. Facultad de Veterinaria. Universidad Estatal de Ceará. Brazil.
antonio.callejo@upm.es

La producción de huevos disminuye a medida que las ponedoras envejecen. Un método para contrarrestar, al menos parcialmente, esta evolución natural del rendimiento productivo es la muda inducida. El rendimiento productivo de las gallinas tras la muda se debe a un proceso de rejuvenecimiento fisiológico de las aves, relacionado con la regresión del ovario y del oviducto durante la muda, siendo la pérdida de peso corporal decisiva para la regresión de estos órganos (Brake y Thaxton, 1979). En este trabajo estudiamos los efectos de 3 dietas distintas, utilizadas para inducir la muda (salvado de trigo, cebada y pienso comercial suministrado de forma restringida), sobre la pérdida de peso vivo, sobre la regresión del ovario y del oviducto, y sobre los rendimientos productivos posteriores, en gallinas ponedoras de 2 estirpes comerciales, alojadas con dos densidades diferentes (4 y 6 gallinas, por jaula). Se trabajó con 120 gallinas de cada estirpe, sacrificándose 36 animales (18+18) para poder evaluar la regresión del ovario-oviducto. La menor pérdida de peso se produjo con el salvado y con la cebada, aunque la intensidad de puesta (IP), en las 6 primeras semanas postmuda no varió entre tratamientos, excepto en gallinas ligeras mudadas con salvado de trigo, que alcanzaron una IP significativamente menor. Tampoco tuvo efecto significativo el número de gallinas por jaula sobre la IP, ni sobre la pérdida de peso.
Palabras clave: ponedora, muda, densidad, peso, ovario, oviducto, producción

INTRODUCCIÓN

La muda es un proceso natural en las aves durante el que reducen la ingestión de alimento, pierden peso corporal, interrumpen la producción de huevos y renuevan el plumaje (Sherry *y col*., 1980). En la producción industrial de huevos es preciso que esto se produzca de forma simultánea en todas las aves de un lote, para lo cual es necesario inducir dicho proceso de muda. Para la inducción de la muda pueden utilizarse diversos procedimientos, como son la modificación del fotoperiodo, la privación o la restricción del alimento, o el suministro de dietas conteniendo exceso de algún nutriente (Zn) o, más habitualmente, déficit (energía, proteína, Ca, Na). El interés de inducir la muda radica en alargar la vida productiva de las gallinas durante un segundo ciclo de puesta y mejorar la calidad del albumen y de la cáscara, habitualmente deficientes al final del primer ciclo de producción (Keshavarz & Quimby, 2002). En general, también se reduce la mortalidad, los costes de producción y la inversión en reposición de animales y en incubadoras (Yousaf & Chaudry, 2008).El método de inducción de muda más habitualmente utilizado ha consistido en someter a las gallinas a una privación total de alimento durante varios días para acelerar el proceso de iniciar un segundo ciclo de puesta (North & Bell,

1990). Este método es fácil de aplicar, ventajoso económicamente y con resultados de producción post-muda satisfactorios (Brake, 1993). Sin embargo, este método ha sido prohibido en la Unión Europea y muchos países, entre ellos EE.UU., también recomiendan evitar su uso. La razón de esta prohibición está en la consideración de que la privación de alimento provoca un estrés considerable en el animal, además de deprimir sus sistema inmunitario e incrementar, por ello, su susceptibilidad a la colonización de su aparato digestivo por *Salmonella enteritidis* (Holt, 2003); (Ricke, 2003). Consecuentemente, incide muy negativamente sobre el bienestar del animal, así como en la seguridad alimentaria, pues se produce una transmisión transovárica de esta bacteria a los huevos, contaminando éstos (Patwardhan, et al., 2011).

Por consiguiente, es necesario que la inducción de la muda se realice por otros métodos que no supongan la privación de alimento, pero que tampoco perjudiquen la rentabilidad económica de la producción, es decir, que los resultados productivos tras la muda sean satisfactorios.

A lo largo de los años se ha investigado sobre diversos procedimientos alternativos para inducir la muda. Aquéllos que implican la suplementación con oligoelementos como el Zn (Creger & Scott, 1977), el Iodo (Arrington, et al., 1967) o el Aluminio (Lipstein & Hurwitz, 1982) también están muy cuestionados o, incluso, prohibidos por el riesgo de acumulación en ciertos órganos, además de que su aplicación práctica en granjas comerciales es complicada por la dificultad de conseguir una buena uniformidad de la mezcla en la ración (Buxadé & Flox, 2000).

En los últimos años se ha investigado en dietas de alto nivel de fibra y, por ello, de bajo nivel energético y proteico, mediante la incorporación de distintos ingredientes. Así, se encuentran trabajos con harina de jojoba (Vermaut y col, 1998), harina de algodón en proporciones del 20, 40 y 50% (Davis y col, 2002), tercerillas de trigo (Biggs y col., 2003), alfalfa en diferentes porcentajes (Donalson y col., 2006), pulpa de uva (McKeen, 1984) o pulpa de tomate (Patwardhan y col., 2011). También se están ensayando dietas a base de ingredientes más habituales, como cebada y harina de alfalfa (Petek y Alpay, 2008) o distintas proporciones de maíz (Bell y Kuney, 2004).

Sea cual sea el método empleado para inducir la muda, el objetivo es conseguir una pérdida de peso adecuada y una interrupción de la puesta lo más rápida posible. La pérdida de peso es el resultado de la regresión del ovario y del oviducto, de la movilización de las reservas lipídicas y de proteínas termolábiles, y de la pérdida de contenido digestivo (Brake y Thaxton, 1979; Berry and Brake, 1985; Ruszler, 1998). La recuperación de la producción tras la muda se relaciona con el grado de regresión y subsiguiente recuperación de los órganos y tejidos citados. Lee (1982) encontró una correlación positiva significativa entre la duración del período de reposo (parada de puesta) y la producción por gallina alojada, tras la muda. Brake y col. (1982) sugieren que es precisa una completa involución del oviducto y de la glándula coquilaria para lograr un completo rejuvenecimiento del tracto reproductor.

Muchos investigadores recomiendan pérdidas de peso en el rango del 25 al 35% (Baker y col., 1983, Gordon y col., 2009), si bien en otros trabajos, utilizando métodos distintos al de la privación de alimento, se obtienen resultados productivos similares con pérdidas de peso corporal más reducidas (Fontana y col., 1991; Buhr y Cunningham, 1994; Hnin y col., 2007;

Khodadadi y col., 2008; Mejía y col. 2011)), junto a un mejor estado inmunitario y menor mortalidad (Yousaf y Chaudry, 2008).

Los resultados generales de los numerosos trabajos desarrollados hasta la fecha muestran con bastante claridad que los métodos alternativos para inducir la muda permiten obtener resultados productivos que no difieren de los obtenidos con la privación absoluta de alimento a las ponedoras durante varios días. El reto es tratar de estandarizar una metodología adecuada a cada circunstancia (estirpe, época del año, disponibilidad de ingredientes a incorporar en las dietas de muda, etc.). Quizá el éxito del sistema tradicional estaba no sólo en sus buenos resultados sino también en su facilidad de aplicación.

El objetivo de nuestro trabajo ha sido comparar tres alimentos distintos utilizados para inducir la muda en la pérdida de peso de la gallina así como en la regresión del ovario y oviducto, y relacionar estos resultados con la producción de huevos posterior a la muda.

MATERIAL Y MÉTODOS

La prueba experimental se llevó a cabo en la nave experimental de ponedoras del Departamento de Producción Animal de la Universidad Politécnica de Madrid. Dicha nave dispone de 2 baterías tipo semi-California, con 3 pisos, lo que supone 12 filas de 28 jaulas por fila (Figura 1). Para el trabajo sólo se utilizaron las cuatro filas centrales. Las dimensiones de las jaulas son de 50,8 cm de frente, 45 cm de fondo y 45 cm de altura en la parte frontal, lo que supone una superficie de 2.286 cm². La nave es de ambiente controlado (ventilación dinámica) y dispone de sistema de refrigeración evaporativa mediante paneles humectantes.

Para esta prueba experimental se utilizaron un total de 496 animales, 248 ponedoras de estirpe semipesada (Lohman Brown) y 248 de estirpe ligera (Hy-Line) de 67 semanas de edad, tras un primer período de puesta de 49 semanas.

En esta prueba se indujo a las ponedoras a un proceso de muda forzada mediante el suministro de 3 alimentos, adoptándose un diseño experimental factorial 2x3x2, con dos estirpes, tres tratamientos de muda (salvado, cebada y restricción de pienso) y dos densidades de animales en jaula (4 y 6).

Para inducir la muda, la iluminación se redujo de 16 a 8 horas/día y se suministraron los 3 alimentos citados de forma que la máxima pérdida de peso vivo fuera del 30%, en la forma que se resume en el Cuadro 1.

Cuadro1. Cantidades de alimento suministradas

ALIMENTO	**CANTIDADES SUMINISTRADAS**
Salvado de trigo	- Días 1 a 9: *ad-libitum* - Días 10 a 20: 50g ave/día
Cebada	- Días 1 a 9: *ad-libitum* - Días 10 a 20: 50g ave/día
Pienso comercial restringido	Días 1 a 20

	Lohmann Brown: 48g ave/día Hy-Line: 44g ave/día

En el cuadro 2 figura la composición de los alimentos utilizados para inducir la muda.

Cuadro 2. Composición y características de los alimentos utilizados para inducir la muda

Composición (%)	Salvado de trigo	Cebada	Pienso comercial
E. Metabolizable (kCal(kg)	1.850	2.800	2.750
Humedad	11,9	9,80	
Ceniza	4,60	2,20	
Proteína Bruta	14,9	11,3	16,3
Extracto etéreo	3,50	2,00	
Fibra Bruta	8,00	4,50	
Almidón	23,0	51,1	
Azúcares	4,70	2,60	
Ca	0,13	0,03	3,50
Pdisponible	0,36	0,13	0,35
Na	0,03	0,02	0,35
$C_{18:2}$	1,40	0,78	1,10

Además de la estirpe y el alimento, el tercer factor de variación fue la densidad de animales en la jaula. Considerando los tres factores, las ponedoras fueron distribuidas tal y como indica el cuadro 3. El hecho de intercalar jaulas de dos animales de la estirpe Hy-Line entre animales de la estirpe Lohmann Brown, y viceversa, tiene la misión de que dichos animales ejerzan de testigo a la hora de identificar qué huevos provienen de cada jaula, aunque no se analizaron sus resultados.

Las jaulas 27 y 28 de las filas centrales se ocuparon con un grupo de gallinas denominadas Grupo Control. Las gallinas de estos grupos no se sometieron a muda; continuaron con un consumo de pienso igual al que tuvieron durante el primer ciclo de puesta, y se utilizó para comparar resultados de regeneración de ovario-oviducto con los grupos que sí fueron mudados

Las animales alojados en las jaulas cuyos caracteres figuran en negrita en el Cuadro 3 fueron los seleccionados para los 3 controles de peso que se realizaron, además de a los animales de las jaulas 19 y 20 de los pisos inferiores, y los de los grupo control.

Para estudiar cómo los diferentes métodos nutricionales de muda empleados en la prueba experimental afectaron a la regeneración del sistema reproductor de los animales se practicaron tres disecciones de ponedoras, en los días 1, 14 y 20 desde el inicio del tratamiento. Las ponedoras, de las dos estirpes, de los 3 tratamientos y de densidades 4 y 6, fueron sacrificadas aplicándoles monóxido de carbono.

Los parámetros medidos en todas las disecciones realizadas fueron el peso vivo del animal, el peso del ovario, el peso del oviducto y la longitud del oviducto.

Cuadro 3: Distribución de los animales durante la fase de muda.

JAULAS																										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Total gallinas
Pasillo lateral																												
4 S	**4 S**	2 S	**4 C**	**4 C**	2 C	**4 R**	**4 R**	2 R	4 S	4 S	2 S	4 C	4 C	2 C	4 R	4 R	2 R	**6 S**	**6 S**	**6 C**	**6 C**	6 S	6 S	6 C	6 C	2 GC	2 GC	112
4 S	4 S	**2 S**	4 C	4 C	**2 C**	4 R	4 R	**2 R**	**4 S**	**4 S**	**2 S**	**4 C**	**4 C**	**2 C**	**4 R**	**4 R**	**2 R**	6 S	6 S	6 C	6 C	**6 S**	**6 S**	**6 C**	**6 C**	**2 GC**	**2 GC**	112
Pasillo central																												
4 S	4 S	2 S	4 C	4 C	2 C	4 R	4 R	2 R	**4 S**	**4 S**	2 S	**4 C**	**4 C**	2 C	**4 R**	**4 R**	2 R	6 S	6 S	6 C	6 C	**6 S**	**6 S**	**6 C**	**6 C**	2 GC	2 GC	112
4 S	**4 S**	2 S	**4 C**	**4 C**	2 C	**4 R**	**4 R**	2 R	4 S	4 S	2 S	4 C	4 C	2 C	4 R	4 R	2 R	**6 S**	**6 S**	**6 C**	**6 C**	6 S	6 S	6 C	6 C	2 GC	2 GC	112
Pasillo lateral																												

S: Salvado; C: Cebada; R: Restricción; GC: grupo control
Las celdas sombreadas albergan ponedoras semipesadas;
Las celdas con caracteres en negrita albergan animales seleccionados para control de peso
Las celdas con caracteres subrayados albergan animales para sacrificio
2, 4 y 6 indican el número de ponedoras en cada jaula

En las jaulas 19 y 20 de las 4 filas inferiores se albergaron 6 animales por jaula y en los que la muda se indujo mediante restricción de pienso.

A partir del día 21 desde el inicio de la inducción a la muda se aplicó un programa de iluminación creciente para estimular la puesta, aumentando 1 hora a la semana hasta alcanzar las 16 horas/día. También se suministró gradualmente un pienso comercial: días 21 a 24, 40 g/ave y día; días 25 a 28, 60 g/ave y día; a partir deL día 29, *ad libitum.*

Los datos recogidos fueron estudiados mediante un análisis de varianza que consideraba como efectos fijos la estirpe, los días de muda (14 ó 20), el alimento utilizado para inducirla y el número de aves por jaula (4 ó 6), analizándose también las interacciones. Las medias se compararon mediante el test de Scheffe. Para estudiar las relaciones entre las variables "pérdida de peso corporal", "pérdida de peso del ovario" y pérdida de peso del oviducto" según la estirpe, se llevó a cabo un análisis de correlación y de regresión simple. Todos los análisis se llevaron a cabo mediante la ayuda del software SG-Plus.

RESULTADOS

En el Cuadro 4 se muestra el efecto de la estirpe, de los días de muda, del alimento recibido durante ésta y del número de gallinas por jaula en la pérdida de peso vivo, de peso del ovario de las aves durante el periodo de muda.

Cuadro 4. Efectos de la estirpe (ST), de los días de muda (MD), del alimento recibido durante ésta FM) y del número de gallinas por jaula (NB) y en la intensidad de puesta durante las seis primeras semanas postmuda.

Factor variación		n	PINI (g)	PPeso (%)	PPova (%)	PPovi (%)	PP(ova+ovi) (%)	Long. ovi (cm)	IP (%)
ESTIRPE	Ligeras	36	1724,6^{a}	19,4	44,4	83,8^{a}	79,3^{a}	39,9	42,1^{b}
	SPesadas	36	2064,6^{b}	20,2	45,4	79,6^{b}	75,5^{b}	39,7	50,3^{a}
	Sem		20,1	0,66	1,59	0,46	0,53	0,61	1,30
	P <		0,0001	0,38	0,64	0,0001	0,0001	0,04	0,0001
ALIMENTO	Salvado	24	1902,5	18,2^{b}	49,4^{a}	84,1^{a}	79,6^{a}	38,6^{b}	43,6
	Cebada	24	1875,2	18,1^{b}	47,6^{a}	83,4^{a}	79,4^{a}	38,1^{b}	48,7
	Restricción	24	1906,0	23,1^{a}	37,4^{b}	77,6^{b}	73,1^{b}	42,7^{a}	48,3
	Sem		24,4	0,81	1,94	0,56	0,65	0,75	1,59
	P<		9,63	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,09
GALLINAS/ JAULA	4	36	1853,6^{b}	19,4	44,0	81,1	76,9	39,2	46,2^{a}
	6	36	1935,6^{a}	20,2	45,8	82,3	77,9	40,4	55,2^{a}
	sem		20,1	0,66	1,59	0,46	0,53	0,61	3,6
	P<		0,006	0,40	0,43	0,08	0,21	0,057	0,09

PINI: Peso inicial de las gallinas; PPeso: pérdida de peso vivo; PPova: Pérdida de peso del ovario; PPovi: pérdida de peso del oviducto; PP (ova+ovi): pérdida de peso del ovario + oviducto; Long. ovi: longitud del oviducto; IP: intensidad de puesta

El porcentaje de pérdida de peso fue similar en las gallinas blancas y en las morenas y, como era de esperar, la pérdida de peso (en porcentaje) también fue superior tras 20 días de muda. La muda inducida mediante el suministro restringido de pienso comercial condujo a una pérdida de peso vivo superior que en los animales que consumieron salvado o cebada

El número de gallinas por jaula no tuvo efecto significativo en la pérdida de peso vivo.

No se observó efecto significativo de la estirpe en la pérdida de peso del ovario, aunque las ponedoras ligeras tuvieron un mayor porcentaje de pérdida de peso del oviducto. Como cabía esperar, los días de muda afectaron a ambos órganos, y las gallinas mudadas con restricción de pienso comercial tuvieron una menor pérdida de peso del ovario y del oviducto que aquéllas cuya muda se indujo con salvado o con cebada.. No se observaron efectos significativos del número de animales por jaula en la perdida de peso del ovario y del oviducto, expresado en porcentaje. En conjunto, la pérdida de peso del aparato reproductor (ovario+oviducto) fue significativamente mayor en las gallinas blancas y en los animales a los que se indujo la muda

con salvado y con cebada. La longitud del oviducto se redujo a lo largo de la muda y fue mayor en las gallinas alimentadas con pienso restringido que con salvado o cebada. Finalmente, la intensidad de puesta durante las seis primeras semanas postmuda sólo se vio afectada por la estirpe, con valores más altos en ponedoras semipesadas. El alimento empleado para inducir la muda no tuvo efecto sobre este parámetro productivo.

La intensidad de puesta durante el período de recuperación de la puesta (6 semanas) fue significativamente más elevada en las ponedoras morenas que en las blancas, no observándose, en cambio, diferencias significativas debidas al tipo de alimentación recibida durante la muda. Como cabía esperar, la intensidad de puesta aumenta a lo largo del período de recuperación, habiendo diferencias significativas en las cuatro primeras semanas. Posteriormente, el aumento de la puesta se ralentiza, lo que explica que haya diferencias significativas entre la cuarta y la sexta semanas, pero no entre la cuarta y la quinta y entre la quinta y la sexta.

Por lo que respecta al alimento empleado durante la muda, no se encontraron diferencias entre la cebada y el salvado en cuanto a pérdida de peso, pérdida de peso del ovario y pérdida de peso del oviducto, pero estos parámetros fueron inferiores en las gallinas mudadas con restricción de pienso comercial. Aunque estos resultados no se tradujeron en diferencias significativas en la intensidad de puesta, sí se observa una ligera tendencia a una menor producción cuando se indujo la muda con salvado.

Las gallinas alojadas a mayor densidad tuvieron mayor producción que las que dispusieron de mayor superficie por ave.

En el Cuadro 5 se resumen los resultados de las interacciones que resultaron con diferencias significativas. Hubo diferencias significativas ($P<0,05$) entre estirpes según el alimento utilizado para inducir la muda en lo que respecta a la pérdida de peso vivo y a la pérdida de peso del ovario, de forma que las gallinas blancas que fueron mudadas con restricción de pienso perdieron más porcentaje de peso que las mudadas con salvado o con cebada, resultado que, sin embargo, no se observó en ponedoras semipesadas. Ello, no obstante, no repercutió sobre la producción de huevos de las seis primeras semanas, período en el que sólo se observó una menor producción en las gallinas blancas mudadas con salvado.

En las ponedoras blancas la pérdida de peso del ovario se produjo, principalmente, en las 2 primeras semanas del periodo de muda, mientras que en las gallinas morenas sucedió entre los días 14 y 20 de dicho período. Por otra parte, la mayor pérdida de peso del ovario debida a la restricción de pienso como método de muda se produjo en esas 2 primeras semanas

Cuadro 5. Interacciones estirpe (ST) x alimentación durante la muda (FM), días de muda (MD) x FM, y FRM x número de gallinas por jaula (NB)

		n	PPeso (%)	PPova (%)	PPovi (%)	PP(ova+ovi) (%)	IP (%)
ST	**FM**						
Ligera	Salvado	12	17,2	51,14^{a}	86,3^{a}	81,5^{a}	33,90^{b}
	Cebada	12	16,4	51,30^{a}	86,0^{a}	82,5^{a}	46,50^{a}
	Restricción	12	24,5	30,74^{b}	79,0^{ab}	74,1^{b}	45,91^{a}
Semipesada	Salvado	12	19,14	47,63^{a}	81,8^{ab}	77,8^{ab}	53,35^{a}
	Cebada	12	19,70	43,89^{a}	80,8^{ab}	76,4^{ab}	50,82^{a}
	Restricción	12	21,78	44,77^{a}	76,1^{b}	72,1^{b}	46,73^{a}
	sem		1,15	2,75	1,51	1,68	2,26
	P<		0,032	0,0005	0,72	0,50	0,003
MD	**FM**						
14	Salvado		13,16^{c}	44,24	81,73	76,43	
	Cebada		11,98^{c}	39,52	79,76	75,24	
	Restricción		13,73^{c}	26,50	71,75	67,33	
20	Salvado		23,22^{b}	54,54	86,40	82,85^{c}	
	Cebada		24,15^{b}	55,67	87,13	83,54^{c}	
	Restricción		32,47^{a}	49,01	83,37	78,91^{d}	
	sem		1,15	2,75	0,80	0,92	
	P<		0,011	0,05	0,002	0,024	
FM	**NB**						
Salvado	4	12		42,89^{b}	82,77^{a}	77,59^{ac}	
	6	12		55,88^{a}	85,35^{a}	81,69^{b}	
Cebada	4	12		47,20^{b}	82,23^{a}	78,08^{a}	
	6	12		47,99^{ab}	84,65^{a}	80,11^{ab}	
Restricción	4	12		41,96^{b}	78,32^{b}	74,45^{c}	
	6	12		33,55^{c}	76,79^{b}	71,78^{d}	
	sem			2,75	0,80	0,92	
	P<			0,001	0,0019	0,0023	

PPeso: pérdida de peso vivo; PPova: Pérdida de peso del ovario; PPovi: pérdida de peso del oviducto; PP (ova+ovi): pérdida de peso del ovario + oviducto; IP: intensidad de puesta

Un mayor número de animales por jaula supuso una mayor pérdida de peso del ovario cuando las ponedoras fueron mudadas con salvado, pero el resultado fue el inverso (mayor pérdida de peso del ovario con menor número de animales por jaula) cuando las ponedoras fueron mudadas con suministro restringido de pienso.

La muda inducida mediante el método de salvado es la que provoca una menor intensidad de puesta en gallinas ligeras, no habiendo diferencias significativas entre el uso de cebada y el suministro de pienso restringido. En gallinas semipesadas, sin embargo, no se encuentran

diferencias estadísticamente significativas en la influencia del método de inducción de muda sobre la intensidad de puesta en el período de recuperación.

Con el fin de cuantificar las relaciones entre pérdida de peso vivo de las aves y pérdida de peso del ovario y oviducto, así como entre la pérdida de peso del ovario y la pérdida de peso del oviducto, se calcularon ecuaciones de regresión lineal según la estirpe (Cuadro 3)

Cuadro 3. Relaciones entre la pérdida de peso del ovario (Ovario WL) y del oviducto (Oviducto WL) y la pérdida de peso vivo del ave (LWL), en g o en %, y entre la pérdida de peso del ovario y oviducto según la estirpe (ST).

ST	Ecuación de regresión	R^2	RSD	P <
Blanca	Ovario WL (g) = 3.95^a + 0.00076^a LWL (g)	0.0072	1.56	**0.62**
Morena	Ovario WL (g) = 1.77^b + 0.0069^b LWL (g)	0.48	1.23	0.0001
Blanca	Oviducto WL (g) = 60.21^a + 0.013^a LWL (g)	0.035	11.83	**0.27**
Morena	Oviductp WL (g) = 74.76^b – 0.023^b LWL (g)	0.43	4.65	0.0001
Blanca	Oviducto WL (g) = 53.27^a + 3.14^a Ovario WL(g)	0.49	5.00	0.0001
Morena	Oviducto WL (g) = 70.58^b – 1.19^b Ovario WL(g)	0.14	5.54	0.035
Blanca	Ovario WL (%) = 44.92^a – 0.027^a LWL (%)	0.0003	15.33	**0.92**
Morena	Ovario WL (%) = 11.73^b + 1.67^b LWL (%)	0.64	10.16	0.0001
Blanca	Oviducto WL (%) = 78.07 + 0.29^a LWL (%)	0.17	5.96	0.012
Morena	Oviducto WL (%) = 72.16 + 0.37^b LWL (%)	0.33	4.23	0.0001
Blanca	Oviducto WL (%) = 70.85 + 0.29^a Ovario WL (%)	0.44	5.01	0.0001
Morena	Oviducto WL (%) = 69.98 + 0.21^b Ovario WL (%)	0.48	3.74	0.0001

R^2 =coeficiente de determinación, RSD =desviación estándar residual, P = probabilidad
Para cada variable, las ordenadas en el origen y las pendientes con las letras distintas son significativamente diferentes P <0.05.

Para las ponedoras blancas se detectó una relación lineal no significativa (P>0.05) entre la pérdida absoluta de peso del ovario y oviducto y la pérdida absoluta de peso vivo. Asimismo, también se encontró una relación lineal no significativa (P>0.05) entre el porcentaje de pérdida de peso del ovario y el porcentaje de pérdida de peso vivo de las aves. En las ponedoras morenas, sin embargo, sí se observó una relación positiva entre la pérdida de peso vivo y la pérdida de peso del ovario y una relación negativa significativa entre la pérdida de peso vivo y la pérdida de peso del oviducto. La relación entre pérdida de peso del ovario y pérdida de peso del oviducto fue positiva en las ponedoras blancas, pero negativa en las morenas.

De acuerdo con los resultados de la Tabla 12, por cada punto de aumento del porcentaje de pérdida de peso vivo, el porcentaje de pérdida de peso del oviducto fue menor en las ponedoras blancas que en las morenas. Sin embargo, cuando se calculó la relación entre porcentaje de pérdida de peso del ovario y porcentaje de pérdida de peso del oviducto, se obtuvieron resultados contrarios.

DISCUSIÓN

Ocak y col. (2004) no encontraron diferencias en los rendimientos pos muda en gallinas con pesos iniciales diferentes, al contrario de lo que sucede en nuestra prueba, donde las gallinas más pesadas tuvieron mayor producción en las primeras seis semanas del segundo ciclo, si bien en el trabajo citado se utilizaron gallinas de la misma estirpe y línea genética (pero de

diferentes pesos) y la producción se calculó sobre la totalidad del segundo ciclo (17 semanas). Frente a nuestros resultados, Aksit y col. (2003) mostraron lo contrario, es decir, la producción en el segundo ciclo de puesta de las gallinas de menor peso fue más alta que la de las gallinas más pesadas, lo que puede atribuirse a que la pérdida de peso de las gallinas ligeras durante la muda fue más alta en comparación con las aves de mayor peso. No obstante, estos autores usaron el método de privación de alimento para inducir la muda.

Los resultados contradictorios en la relación entre la pérdida de peso vivo durante la muda y la producción posmuda probablemente se deben al cese incompleto de la puesta durante el período de inducción de la muda en las gallinas que experimentaron menor pérdida de peso, a los programas de muda que utilizan piensos de prepuesta después de alcanzar la pérdida de peso vivo prevista y al período de tiempo pos muda en el que se está comparando el nivel de producción. La duración de la parada de puesta incluye el periodo en el que la gallina recibe el tratamiento de muda y el período de prepuesta, y aquélla puede ser tan decisiva como la pérdida de peso corporal. Cuando se compara la producción de las primeras semanas tras la muda se favorece a las gallinas con menor pérdida de peso que, frecuentemente, no han interrumpido completamente la puesta. Por el contrario, cuando se comparan las producciones de todo el segundo ciclo, se ven favorecida las gallinas de mayor pérdida de peso, y que reiniciaron la producción más tarde (Buhr y Cunningham, 1994).

El porcentaje de pérdida de peso obtenido con los 3 alimentos empleados para inducir la muda se sitúa por debajo de los niveles recomendados en las referencias más antiguas (Baker y col., 1983) y de alguna más reciente (Gordon y col., 2009). Es más bajo en las gallinas que consumieron salvado o cebada que en las que fueron alimentadas con pienso restringido. A pesar de ello, esta menor pérdida de peso no se ve reflejada en la producción de huevos obtenida en nuestra prueba durante las seis primeras semanas postmuda, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre tratamientos. Como tampoco las encontraron Petek y col. (2008) induciendo la muda con cebada o con harina de alfalfa y pérdidas de peso del 19,4 y 17,54%, respectivamente. Hnin y col. (2008), utilizando dietas con distintos niveles de energía (1,6, 1,9 y 2,3 kcal EM/kg), no obtuvieron diferencias significativas en lo que respecta a la pérdida de peso vivo, ni en la pérdida de peso del ovario (resultados que coinciden con los nuestros), lo que se tradujo en que tampoco hubo diferencias en la producción entre la 3ª y la 6ª semana pos muda.

De forma similar a los trabajos de Donalson y col. (2005), no hemos encontrado diferencias entre métodos de muda respecto a la evolución de la recuperación de la puesta en las primeras semanas postmuda.

Los resultados revisados por Koelkebeck y Anderson (2007) ponen de manifiesto que los resultados productivos globales fueron similares en gallinas mudadas con dietas de baja energía y proteína (empleando diversas materias primas) que en las mudadas mediante ayuno total. Khododadi y col. (2008) tampoco encontraron diferencias en el pico de puesta alcanzado con gallinas mudadas mediante diversos tratamientos.

Anderson y col. (2004) obtuvo una mayor producción en las gallinas alojadas a menor densidad, de forma opuesta a lo hallado por nosotros en esta prueba y en otra posterior, con gallinas diferentes. Nuestros resultados pueden interpretarse teniendo en cuenta que las necesidades de mantenimiento de las gallinas con menor disponibilidad de espacio se deben a una menor posibilidad de movimiento y, por tanto, conducen a una mayor disponibilidad de nutrientes para la producción.

CONCLUSIONES

La estirpe no influyó en el porcentaje de peso perdido durante la muda, pero sí en la pérdida de peso del aparato reproductor (ovario+oviducto), así como en el nivel de puesta durante las seis primeras semanas, siendo mayor en gallinas semipesadas.

La producción tras la muda fue similar para los 3 alimentos utilizados, lo que abre la posibilidad a utilizar distintas materias primas con resultados igualmente satisfactorios.

El número de gallinas por jaula no influyó en las distintas pérdidas de peso estudiadas, pero sí se obtuvo mayor producción en las gallinas que dispusieron de menor superficie, aunque es preciso realizar más estudios por los resultados contradictorios de algunos de las pruebas realizadas.

REFERENCIAS

1. Aksit, M.A., y M.M. Mashaly. 1999. Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. Poult. Sci. 78:171-177.
2. Anderson, K.E., G.S. Davis, P.K. Jenkins, y A.S. Carroll.2004. Effects of bird age, and molt on behavioral profiles of two commercial layer strains in cages. Poult. Sci. 83-15-23.
3. Arrington, L.R., E.A. Santa Cruz, R.H. Harms, y H.R. Wilson. 1967. Effects of excess dietary iodine upon pullets and laying hens. J. Nutr. 92:325-330.
4. Baker, M., J. Brake, y G.R. McDaniel. 1983. The relationship between body weight loss during and induced molt and postmolt, postmolt egg production, egg weight, and shell quality in caged layers. Poult. Sci. 62:409-413.
5. Bell, D.D., y D.R. Kuney. 2004. Farm evaluation of alternative molting procedures. J. Appl. Poult. Res. 13:673-679.
6. Biggs, P.E., M.W. Douglas, K.W. Koelkebeck, y C.M. Parsons. 2003. Evaluation of nonfeed removal methods for molting programs. Poult. Sci. 82:749-753.
7. Brake, J. 1993. Recent advances in induced moulting. Poult. Sci. 72:929-931.
8. Brake, J., y P. Thaxton. 1979. Physiological changes in caged layers during a forced moulting. 2.
9. Buhr, R.J., y D.L. Cunningham. 1994. Evaluation of molt induction to body weight loss of fifteen, twenty, or twenty-five percent by feed removal, daily limited, or alternate.day feeding of a molt feed. Poult. Sci. 73:1499-1510.
10. Buxadé, C., y J. R. Flox. 2000. La muda forzada en las gallinas ponedoras comerciales. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 369-416.
11. Creger, C.R., y J.T. Scott. 1977. Dietary zinc as an effective resting agent for the laying hen. Poult. Sci. 56:1706. (Abstr.)
12. Davis, A.J., M.M. Lordelo, y N. Dale. 2002. The use of cottonseed meal with or without added soap stock in laying hens diets. J. Appl. Poult. Res. 11:127-133.
13. Donalson, L.M., W.K. Kim, C.L. Woodward, P. Herrera, L.F. Kubena, D.J. Nisbet, y S.C. Ricke. 2005. Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. Poult. Sci. 84:362-369.
14. Donalson, L. M., W. K. Kim, C. L. Woodward, P. Herrera, L.F. Kubena, D. J. Nisbert, y S. C. Ricke. 2005 Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. Poult. Sci. 84:362-369.

15. Gordon, R., M.M. Bryant, y D.A. Roland Sr. 2009. Performance and profitability of second-cycle laying hens as influenced by body weight and body weight reduction during molt. J. Appl. Poult. Res. 18:223-231.
16. Hnin Yi Soe, N. Uozomi, M. Yayota, y S. Ohtani. 2008. Investigation of ME level of molt diet for full fed induced molting in laying hens. J. Poult. Sci. 45:101-109.
17. Hnin Yi Soe, Y. Makino, N. Uozomi, M. Yayota, y S. Ohtani. 2007. Evaluation of non-feed removal induced molting in laying hens. J. Poult. Sci. 44:153-160.
18. Holt, P.S. 2003. Moulting and *Salmonella enteritidis* infection: the problem and some solutions. Poult. Sci. 82:1008-1010.
19. Keshavarz, K, y F.W. Quimby. 2002. An investigation of different moulting technics with an emphasis on animal welfare. J. of App. Poult. Res. 11:54-67.
20. Khodadadi, I.H., H. Moravej, M. Shivazad, y H. Mehrabani-Yeganeh. 2008. Comparison of four induced molting methods base on subsequent performance and welfare of single comb White Leghorn hens. Pakistan J. of Biol. Sci. 11(1):98-102.
21. Koelkebeck, K. W., y K. E. Anderson. 2007. Molting layers – Alternative methods and their effectiveness. Poult. Sci. 86:1260-1264.
22. Lee, K. 1982. Effects of forced moltperiod on postmolt performance of Leghorn hens. Poult. Sci. 61:1594-1598.
23. Lipstein, B., y S. Hurwitz. 1982. The nutritional value of sewage-grown, alum-flocculated micractnium algae in broiler and layer diet. Poult. Sci. 60:2628-2638.
24. McKeen. W.D. 1984. feeding grape pomace to Leghorn hens as an alternative to starvation to induce a molt. Poult. Sci. 63(Suppl. 1):148-149.
25. Mejia, L., E.T. Meyer, D.L. Studer, P.L. Utterback, C.W. Utterback, C.M. Parsons, y K.W. Koelkebeck. 2011. Evaluation of limit-feeding varying levels of distillers dried grains with solubles in non-feed-withdrawal molt programs for laying hens. Poult. Sci. 85:761-769.
26. North, M.O., y D.D. Bell, 1990. Commercial chicken production manual. Chapman & Hall, London, pp. 472-473.
27. Ocak, N., M. Sarica, G. Erener, y A.V. Garipoglu. 2004. The effect of body weight priot to molting in brown laying hens on egg yield and quality during second production cycle. Int. J. of Poult. Sci. 3(12):768-772.
28. Patwardhan, D.S., A.J. King, y A. Mireles. 2011. Tomato pomace and safflower meal as ingredients in non-feed-removal molt diets. J. Appl. Poult. Res. 20:291-302.
29. Petek, M., y F. Alpay. 2008. Utilization og grain barley and alfalfa meal as alternative moult induction programmes for laying hens: body weight losses and egg production traits. Bulgarian J. of Vet. Med. 11(4):243-249.
30. Ricke, S.C. 2003. The gastrointestinal ecology of *Salmonell enteritidis* colonization in molting hens. Poult. Sci. 82:1003-1007.
31. Sherry, D.F., N. Mrosovsky, y J.A. Hogan. 1980. Weight loss and anorexia during incubation in birds. J. of Comparative Physiology and Psychology 94:89-98.
32. Vermaut, S., K. De Coninck, y O. Onagbesan. 1998. A jojoba-rich diet as a new forced molting method in poultry. J. Appl. Poult. Res. 7:239-246.
33. Yousaf, M. y A. S. Chaudry. 2008. History, changing scenarios and future strategies to induce moulting in laying hens. World's Poult. Sci. 64:65-75.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO DE LA DENSIDAD DE GALLINAS POR JAULA Y DE LA ESTIRPE SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DEL HUEVO

Nicodemus, N.; Callejo*, A.; Blanco, D.; Buxadé, C.
Dpto. de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España
antonio.callejo@upm.es

Resumen
La nueva normativa de la UE referida al bienestar de las gallinas ponedoras exige, en sus alojamientos, una superficie útil (S.U.) por gallina muy superior a la que es habitual fuera de sus fronteras. El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia de una S.U. inferior a la indicada en la normativa UE sobre los resultados productivos. La población estudiada fue de 1008 gallinas ponedoras, 504 de estirpe semipesada y 504 de estirpe ligera, alojadas en 168 jaulas (84 por estirpe), dispuestas en 8 filas, a razón de 4 y 5 gallinas/jaula (571,5 y 457,2 cm^2/ave, respectivamente). Las gallinas alojadas con una mayor densidad produjeron huevos de mayor peso medio (64,8 vs 63,6 g; P=0,012) y, por ende, también un mayor porcentaje de huevos de gramaje elevado (XL), de más de 73 g (12,3 vs 8,96%; P=0,0015). También se observó el mismo efecto en las gallinas semipesadas (64,8 vs 63,5 g; P=0,03), con un porcentaje de huevos XL superior al doble (15,3 vs 7,11%; P<0,001). No hubo diferencias en la intensidad de puesta media a lo largo de la puesta. El color de la yema tendió a ser más elevado en las gallinas alojadas con mayor densidad (10,1 vs 9,74). Las gallinas ligeras mostraron una mejor calidad de albumen (95,1 U Haugh vs 92,1; P<0,001) y menos color de la yema (9,55 vs 10,3; P<0,001). No hubo efecto de la densidad sobre la mortalidad, siendo ésta de un 10% en las gallinas que dispusieron de menos espacio, frente al 7,81%.
Palabras clave: ponedora, estirpe, densidad, rendimiento, calidad huevo, mortalidad

Introducción

Desde hace bastantes años, en la Unión Europea ha habido una fuerte presión social respecto a las condiciones en que se crían los animales de granja, en general, y las gallinas ponedoras, en particular, alegándose estrés, daño físico y la imposibilidad de que las gallinas puedan manifestar algunas de sus pautas naturales de conducta. Ello ha llevado a la aplicación de sucesivas normas legales que, paulatinamente, han ido exigiendo proporcionar a las gallinas mayor superficie disponible dentro de la jaula. Así, la Directiva 86/113/CE, de 1986, aumentó dicha superficie a 450 cm^2/ave, y la Directiva 99/74/CE, de 1999, a 550 cm^2/ave a partir de 2003 y 750 cm^2/ave a partir del 1 de Enero de 2012.

Según los datos del Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente (2009) la producción de huevos por gallina experimentó un notable incremento a partir del año 2001 con respecto a la década

anterior. Podría pensarse que, al menos, una parte de este mayor rendimiento pudiera deberse a la mayor disponibilidad de superficie por gallina en las jaulas, tal y como comentábamos en el párrafo anterior. También Valdivié y col. (2003) obtuvieron una mayor producción de huevos en gallinas alojadas en jaulas (de 1640 cm^2) en grupos de 2 y 3 animales (+36 y +29 huevos, respectivamente) en comparación con las gallinas alojadas en grupos de 4. En estas últimas, además, fueron más elevados tanto el consumo de pienso por huevo producido como la mortalidad. Fuenmayor y col. (1992) obtuvieron resultados similares en dos experimentos, con 600 y 400 cm^2 por ave, respectivamente. Si bien en los diferentes periodos productivos de las ponedoras los resultados difieren y los datos parecen confusos, en el resultado final de la puesta total de las gallinas en su vida productiva, estos datos indican un aumento en el número de huevos por ave según aumenta el espacio que se le da a cada ponedora (234,04 huevos/ave en el experimento 1 frente a 230,62 huevos/ave en el experimento 2).

Igualmente, otros autores comprobaron que cuando la densidad de ocupación aumentaba, la producción y el peso de los huevos disminuía (Robinson 1979; Cunningham y col., 1982; Quart y col., 1982; Sütö y col., 1997; Anderson y col., 2004). Resultados muy parecidos encontró Onbaşilar (2005), quien observó una mayor producción de huevos a medida que disminuía la densidad de ocupación de las jaulas (94,1% en jaulas con 1 ponedora, 89,3% con 3, y 78,5% con 5), aunque los resultados con respecto al peso del huevo fueron mejores en las jaulas con 3 ponedoras, seguido de las jaulas con 1 y finalmente con 5 ponedoras (63,6, 63,4 y 62,4 gramos respectivamente).

Algunos autores (Koelkebeck y col., 1987; Brake y col., 1992; Carey y col., 1995; İşcan y col., 1998) no encontraron relación entre la densidad de ocupación y la producción y peso de los huevos, mientras que otros (Cook y col., 1966; Dorminey y col., 1971) obtuvieron un aumento en la puesta y en el peso del huevo con densidades altas. Estas diferencias, como mantiene Onbaşilar (2005), pueden ser debidas al genotipo y edad de las aves, época del año, espacio de alimentación y condiciones del alojamiento.

Los ensayos llevados a cabo por Roush y col. (1984), Davami A. y col. (1987), Cook y col. (1966) y Dorminey y col. (1971) tuvieron el resultado de que al aumentar la densidad de ocupación de las jaulas de ponedoras, el tamaño del huevo tendía a aumentar. Esto último puede ser debido a que las aves que tienen menor espacio en jaula no consumen energía en desarrollar ciertas aptitudes o movimientos al no disponer del suficiente espacio para realizarlos, energía que destinan a la producción. Por el contrario,, Onbaşilar (2005) obtuvo en su ensayo con ponedoras semipesadas que, de las tres densidades de ocupación de las jaulas con las que experimentó (1968, 656 y 393,8 cm^2/ponedora), el peso del huevo era mayor en la situación de más alta densidad ($P<0.01$).

Autores como Lee (1989), Mench y col. (1986), Koelkebeck y col. (1987), Break y col. (1992), Carey y col. (1995) e İşcan y col. (1998) realizaron estudios que sostienen que no existe relación alguna entre la densidad de ponedoras en jaula y el tamaño de los huevos
Otro aspecto importante es que, según aumenta el tamaño del grupo, se dan más casos de picaje y canibalismo, lo cual provoca un aumento del estrés (que también puede ser debido a la sensación de falta de espacio) y, por lo tanto, un peor aprovechamiento del pienso puesto a disposición, ya que los casos de estrés producen un aumento de la frecuencia respiratoria y la movilización de la energía almacenada hacia ciertos procesos metabólicos que priman sobre los procesos productivos (Siegel y col., 2000).

Los porcentajes de huevos rotos y en fárfara son indispensables no sólo para orientarnos sobre la dureza de la cáscara, sino también para conocer, en nuestro caso, la forma en que afecta la densidad de población en jaulas de ponedoras sobre la proporción de huevos que deben desecharse y, por lo tanto, sobre la proporción de huevos útiles.

Para que el número de huevos que llegan intactos al consumidor sea una proporción alta frente a los huevos desechados por roturas, no solamente es importante la solidez de la cáscara, sino que dichos huevos no sean sometidos a golpes que puedan fracturarlos. Es razonable pensar que, a medida que aumenta la densidad de ponedoras, el número de huevos rotos también irá en aumento, ya que la cantidad de obstáculos (picos, patas, etc.) que encuentra el huevo en su camino hacia la cinta transportadora, es mayor.

El aumento del número de huevos rotos a medida que aumentan las densidades de ponedoras en jaula fue el resultado del ensayo de Fuenmayor y col. (1992) con gallinas de la línea Babcok-380 y empezando el experimento a las 22 semanas de edad, donde el tratamiento 1 (600 cm²/ ave) obtuvo menor porcentaje de huevos rotos (1,29%) que el tratamiento 2 (400 cm²/ave; 1,69%)

Por lo que se refiere al papel que la densidad puede tener en el índice de mortalidad, Valdivié y col., (2003) encontró que al alojar 2, 3 y 4 gallinas por jaula, la viabilidad era del 98,4, 94,6 y 89,1%, respectivamente; es decir, la mortalidad aumentaba a medida que lo hacía la densidad de ocupación de las jaulas de ponedoras, lo que concuerda con lo informado por Moinar y Morisse (2000), al disminuir el estrés, el canibalismo y la transmisión de enfermedades, causas principales de muerte en gallinas ponedoras.

Los resultados de Carey (1986), con 239 cm²/ave en el experimento 1, y 222 cm²/ave en el experimento 2, corroboran que al aumentar la densidad de ocupación aumenta, a su vez, la mortalidad, como diversos autores defienden (Koelkebeck y col., 1984; Roush y col., 1984; Adams y col., 1985). En el ensayo realizado por Bilčík (1999) con grupos de 15, 30, 60 y 120

ponedoras blancas Hisex, se encontró una mayor agresividad y picaje en los grupos más grandes, aumentando la agresividad según aumentaba el número de ponedoras (Hughes y col., 1977; Allen y col., 1975; Wegner, 1990). Aunque otros autores mantienen que la relación podría no ser lineal, y al aumentar el número de ponedoras, no necesariamente tiene que aumentar la agresividad, sino que las gallinas optan por diversas estrategias para establecer relaciones de grupo, según sea éste de numeroso (Pagel y col., 1997; Bilčik y col., 1999).

Otros trabajos no hallaron relación entre la densidad de ocupación de las jaulas y la mortalidad (Onbaşilar y col., 2005; Cunningham y col., 1981; Cunningham, 1982; Davami y col., 1987; İşcan y col., 1998).

Material y métodos

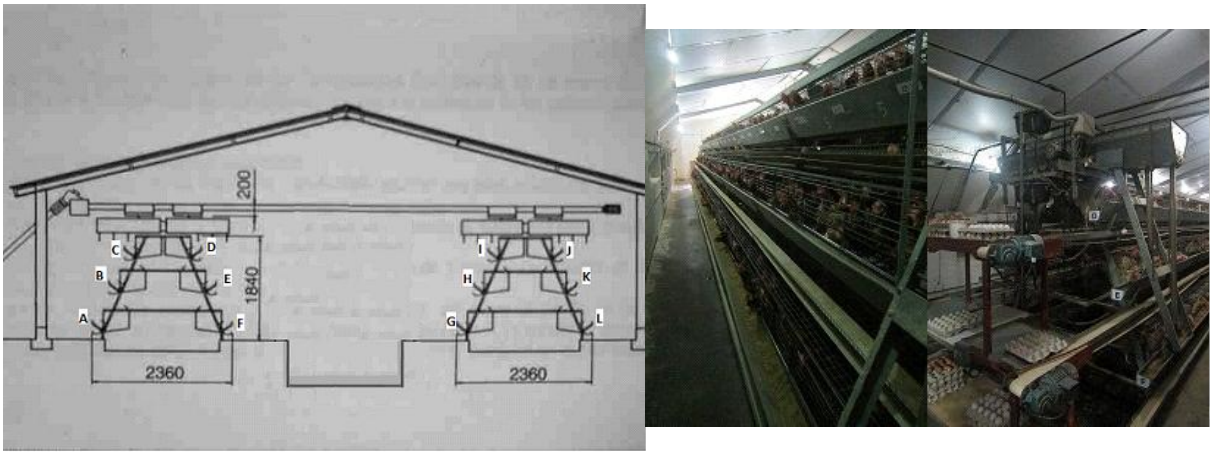
El ensayo se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Producción Animal de la Universidad Politécnica de Madrid. Las ponedoras se alojaron en jaulas del tipo Semi-california (ver figura 5), cuyas dimensiones son: 50,8 cm de frente, 45 cm de fondo y 45 cm de altura en la parte frontal, alcanzando entonces los 2.286 cm² de piso de jaula.

Se utilizaron un total de 1.008 gallinas ponedoras, 504 de estirpe ligera (Hy-Line) y otras 504 de estirpe semipesada (Lohmann Brown), que fueron alojadas en la nave experimental a las 15 semanas de edad en distintas filas según la estirpe y el número de gallinas por jaula (Figura 1). Cada fila contaba con 28 jaulas. En las filas A, F, G y L se alojaron 5 ponedoras por jaula (140 gallinas/fila) y en las filas B, E, H y K se alojaron 4 (112 gallinas/fila)

El programa de luz aplicado fue desde las 12 horas/día a la llegada de los animales aumentando progresivamente media hora a la semana hasta las 16 horas/día.

Se efectuaron al menos dos recogidas diarias, durante los 14 meses (53 semanas) que duró el periodo experimental, manteniendo los huevos en almacén refrigerado hasta su clasificación por clases comerciales según Normativa Europea (DOCE, 2008) al día siguiente. También se anotaron los huevos no clasificados (rotos + fárfaras), los huevos rotos clasificados, el peso total de los huevos clasificados y los animales muertos.

Figura 1. Distribución de las filas de ponedoras dentro de las naves.



El ensayo fue diseñado con una estructura factorial (2x2), con dos tipos de estirpes (morena *vs* blanca) y dos densidades (4 *vs* 5 gallinas/jaula). Cada tratamiento correspondiente a los dos tipos de estirpes y densidades se replicó cuatro veces y la unidad experimental fue la fila de jaulas (28 jaulas por fila), existiendo 4 unidades experimentales por cada estirpe y densidad (2 filas con 112 gallinas/fila y 2 filas con 140 gallinas/fila, respectivamente). La superficie disponible por animal en las jaulas de 5 gallinas y de 4 fue, respectivamente, de 457,2 cm²/ave y de 571,5 cm²/ave.

Las jaulas fueron del mismo tipo en todos los casos (baterías semi-california), dotadas del mismo número y tipo de comederos (lineal) y bebederos (tetina).
Una vez al mes, a lo largo de las 53 semanas de duración del ensayo, se recogieron 30 huevos al azar de cada una de las unidades experimentales (240 huevos en total), para analizar su calidad (Figura 2).

Figura 2. Instrumentación utilizada para determinar los parámetros de calidad del huevo

Reflectómetro

Peso en el aire

Peso en el agua

Altura de albumen

Color de yema

Espesor de cáscara

En primer lugar se midió el color de la cáscara de los huevos morenos con un reflectómetro. Luego se evaluó la solidez de la cáscara mediante un método indirecto tales como el cálculo de la densidad específica y, finalmente, midiendo el espesor de la cáscara con el micrómetro digital de espesores. Seguidamente se midió la altura del albumen denso sobre una superficie plana y horizontal, usando un micrómetro electrónico sobre trípode. Con la altura del albumen y el peso del huevo en el aire se calculan los valores de Unidades Haugh, cuya fórmula de cálculo es la siguiente: U.H. = 100 log (h - 1.7p0.37 + 7.57), donde "U.H" son Unidades Haugh, "h" es la altura de albumen denso en milímetros, y "p" es el peso del huevo en gramos.

Finalmente, la coloración de la yema se cuantificó según su coloración con el Abanico colorimétrico Roche®. Este abanico está numerado del 1 al 15, correspondiendo los valores más bajos a las yemas con tonalidades más claras y los valores más altos a las tonalidades más oscuras.

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (Statical Systems Institute Inc., Cary, NC, 1999). Los resultados obtenidos de los parámetros productivos y de los análisis cualitativos durante los catorce períodos de 4 semanas de estudio se analizaron con una estructura factorial mediante un análisis de medidas repetidas utilizando en procedimiento MIXED del SAS (Littell et al., 1996), siendo el período de 4 semanas la unidad temporal repetida

a lo largo del tiempo. Se incluyeron en el modelo como efectos principales, la estirpe, la densidad, el mes y sus interacciones.

Se consideró una estructura de varianzas y covarianzas simétrica compuesta según el criterio de información de Schwarz (Littell et al., 1998). Esta estructura asume que las medidas entre ciclos tienen la misma varianza y que la correlación entre los pares de medidas dentro del mismo animal es la misma. Todas medias se han presentado corregidas por mínimos cuadrados.

La clasificación de los huevos por tamaños y la proporción de huevos rotos y útiles se analizaron con una regresión logística mediante el procedimiento GENMOD del SAS utilizando una distribución binomial (McCullagh y Nelder, 1989; Agresti, 1990). Para ello, todas estas variables se expresaron como porcentaje sobre el total de huevos puestos en el período de 4 semanas citado. Se incluyeron como efectos fijos en el modelo el período, la estirpe, la densidad y sus interacciones. Las estimas de los valores medios (μ) de las variables analizadas mediante regresión logística se determinaron a partir de las estimas de los coeficientes de regresión (ß0 y ß1) de las ecuaciones obtenidas.

En todas las variables estudiadas se utilizó un test LSD protegido para la comparación de medias, y las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P < 0,05$.

Resultados

El Cuadro 1 muestra el efecto de la estirpe (semipesada y ligera) sobre los parámetros productivos estudiados. Podemos observar cómo la estirpe no tuvo influencia significativa sobre la intensidad de puesta ni sobre la masa de huevos diaria, lo que viene a corroborar cómo las líneas genéticas actuales de gallina morena alcanzan un nivel de producción similar al de las estirpes ligeras, cuando hace unos cuantos años era netamente inferior.

Sin embargo, las gallinas morenas presentan un peso medio del huevo significativamente superior a las gallinas blancas, lo que tampoco resulta sorprendente por la correlación existente entre peso de la gallina y peso del huevo.

Cuadro 1. Efecto de la estirpe sobre los parámetros productivos.

	Tratamiento			
	Blancas	Morenas	sem.	P<
n	4	4		
Intensidad de puesta (%)	78,0	77,0	1,145	N.S.
Peso medio del huevo (g)	63,5^{b}	64,8^{a}	0,755	0,003
Masa huevo diaria (g/ave)	50,7	51,3	0,810	N.S.
Huevos S (%)	2,69^{a}	1,75^{b}	-	<0,001
Huevos M (%)	21,5^{a}	16,9^{b}	-	<0,001
Huevos L (%)	66,0^{a}	62,7^{b}	-	<0,001
Huevos XL (%)	7,11^{b}	15,3^{a}	-	<0,001
Rotos clasificados (%)	1,49^{b}	2,11^{a}	-	<0,001
Total clasificados (%)	97,3^{a}	96,7^{b}	-	<0,001
S: < 53 g; M: 53 a 63 g; L: 63 a 73 g; XL: >73 g				

Como cabía esperar, el mayor peso medio del huevo en ponedoras semipesadas conduce a diferencias significativas en la distribución de la puesta en clases comerciales a lo largo del ciclo de producción estudiado. De esta forma, el porcentaje de huevos muy grandes (XL) es significativamente mayor en gallinas morenas. Del mismo modo, el porcentaje de los gramajes más pequeños (M y S) también es significativamente menor.

Aparentemente, la calidad de la cáscara de los huevos morenos es significativamente menor que la de los huevos blancos, dado el mayor número de huevos rotos durante el ciclo de puesta.

El Cuadro 2 muestra el efecto del número de gallinas por jaula estudiadas sobre los mismos parámetros cuantitativos de producción que en el Cuadro 1.

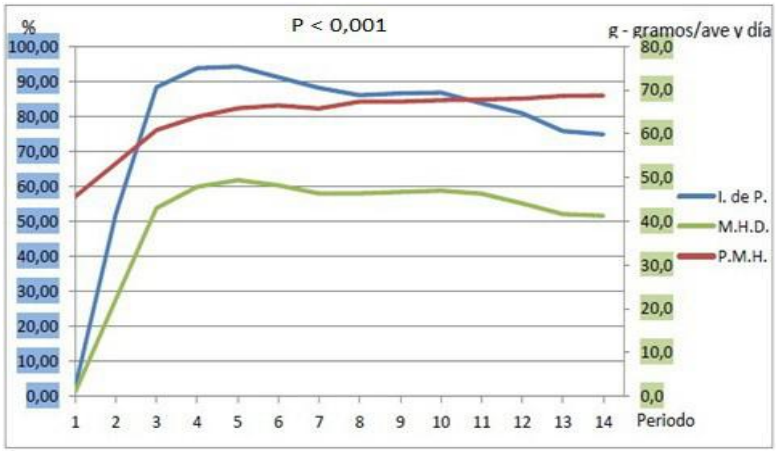
Cuadro 2. Efecto de la densidad (ponedoras/jaula) sobre los parámetros productivos.

	4 ponedoras	5 ponedoras	sem	P<
n	4	4		
Intensidad de Puesta (%)	77,8	77,3	1,145	N.S.
Peso medio del huevo (g)	63,6[b]	64,8[a]	0,755	0,012
Masa de huevo diaria (g/ave)	50,9	51,3	0,81	N.S.
Tamaño comercial S (%)	2,43[a]	2,13[b]	-	0,0078
Tamaño comercial M (%)	21,2[a]	17,9[b]	-	<0,001
Tamaño comercial L (%)	64,6	64,4	-	N,S,
Tamaño comercial XL (%)	8,96[b]	12,3[a]	-	<0,001
Rotos clasificados (%)	1,69	1,84	-	N.S.
Total clasificados (%)	97,2[a]	96,8[b]	-	0,0015

El número de gallinas por jaula no tuvo efecto significativo sobre la intensidad de puesta ni sobre la masa de huevo diaria. Sí la tuvo sobre el peso medio del huevo, obteniéndose valores más altos de este parámetro en las jaulas que alojaban más animales (5 *vs.* 4), lo que puede ser debido a que las aves que tienen menor espacio en jaula no consumen tanta energía en desarrollar ciertas aptitudes o movimientos al no disponer del suficiente espacio para realizarlos, energía que destinan a la producción.

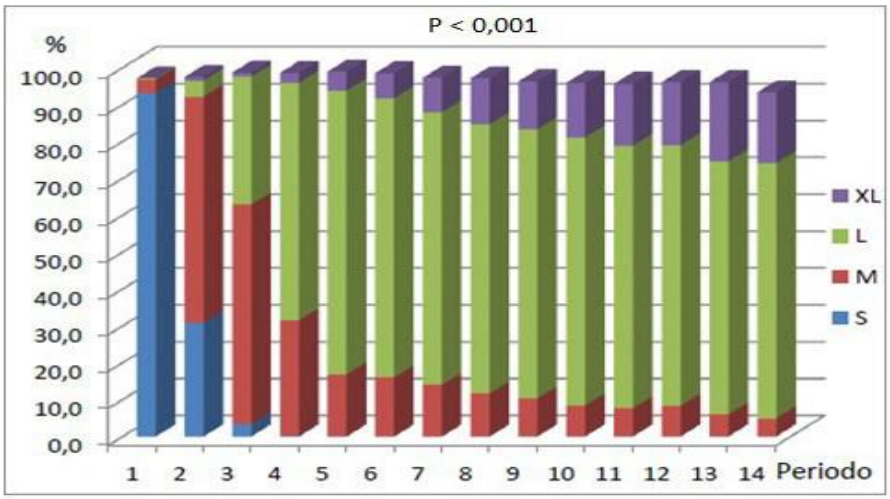
En la figura 1 se representan los resultados de la evolución del índice de puesta, masa de huevo diaria y peso medio del huevo. En ella se puede observar que, lógicamente y según lo explicado, el peso medio del huevo (P.M.H.) se incrementa rápidamente en la primera fase de puesta (+ 20 gramos), llegando a alcanzar los 64 gramos; la masa de huevos diaria (M.H.D.) también se incrementa con rapidez, alcanzando en el 4º-5º periodo su mayor valor (60-62 g/ave), y casi en paralelo con el índice de puesta (I. de P.), que alcanza un valor en torno al 94%.

Figura 1. Efecto del periodo de producción sobre el índice de puesta, masa de huevo diaria y peso medio del huevo.



La figura 2, relativa a la distribución de pesos a lo largo del periodo productivo, es bastante clara. Los huevos pequeños (S) prácticamente desaparecen a partir de la 9ª semana de producción. Los huevos medianos (M), a partir de la semana 17ª (período 5º) apenas suponen el 16% del total, y ya a partir de ese momento, los huevos grandes (L) y muy grandes (XL) representan más del 80% de la producción total, alcanzando casi el 90% en los últimos dos meses de puesta.

Figura 2. Efecto del periodo de producción sobre la distribución de clases comerciales.



Al analizar las interacciones dobles y triples entre los 3 efectos fijos que hemos señalado (estirpe, densidad y periodo de puesta), sólo ha resultado ser significativa la interacción estirpe-periodo de puesta, y únicamente sobre los parámetros productivos Intensidad de puesta y masa de huevo diaria.

Finalmente, hemos estudiado también el efecto de la estirpe y de la densidad sobre la mortalidad de las gallinas. A este respecto hay que comentar que las gallinas blancas han presentado una tasa de mortalidad que es, a nuestro juicio, anormalmente elevada. Desde el inicio de la producción se observó una manifiesta agresividad de estas ponedoras, lo que condujo a un elevado índice de picaje. Si a ello le unimos que las pollitas llegaron a la nave de producción con un pico mal cortado, las consecuencias fueron muy evidentes.

Una gran parte de las gallinas blancas muertas retiradas de las jaulas mostraban signos inequívocos de agresión. En el caso de las gallinas morenas, no pocas de las gallinas muertas lo fueron por accidentes, no por causas naturales. Por ejemplo, algunas se quedaron con la cabeza atrapada entre la canaleta de recogida de agua de las tetinas y los barrotes de la jaula.

El Cuadro 3 muestra los resultados, los cuales fueron significativamente diferentes entre estirpes, como hemos explicado, aunque las dos densidades de ocupación de las jaulas no mostraron estas diferencias.

Cuadro 3. Efecto de la estirpe y la densidad de ocupación sobre la mortalidad de las aves

Efecto estirpe		Blancas	Morenas	P
n		4	4	
		13,5[a]	4,56[b]	<0,001
Efecto densidad		4 ponedoras	5 ponedoras	
		7,81	10	0,23
	Estirpe	Densidad		
Interacciones	Morenas	2,68	6,07	0,08
	Blancas	12,9	13,9	0,75
		4 ponedoras	5 ponedoras	

El efecto de la estirpe sobre los parámetros de calidad del huevo estudiados se muestra en el Cuadro 4. En él observamos cómo la estirpe sólo tuvo efecto significativamente diferente sobre la calidad del albumen, expresada en Unidades Haugh, y sobre el color de la yema

Cuadro 4. Efecto de la estirpe sobre los parámetros cualitativos.

Tratamiento	n	U.H.[1]	P.E.[2] (g/cm^3)	E.C.[3] (mm)	Color yema	Color cáscara
Blancas	4	95,1^a	1,0963	355	9,55^b	-
Morenas	4	92,1^b	1,0956	352	10,3^a	26,8
sem		4,195	0,004	13,100	0,575	1,95
P		<0,001	N.S.	N.S.	<0,001	-

[1] U.H.: Unidades Haugh, [2] P.E.: Peso específico, [3] E.C.: Espesor de cáscara,

En el primer parámetro citado las gallinas blancas tuvieron mejor calidad de albumen, mientras que las gallinas morenas fueron las que presentaron una coloración de yema más alta, medida con la escala Roche®; por tanto, una coloración más anaranjada.

El Cuadro 5 expone los resultados del efecto de la densidad de ocupación de las jaulas sobre los mismos parámetros cualitativos. En este caso, sólo hay una cierta tendencia a una mayor coloración de la yema en las gallinas morenas, a pesar de que consumieron exactamente el mismo pienso, lo que podría indicar una mayor capacidad de las primeras en la absorción, transporte y deposición de pigmentos.

Cuadro 5. Efecto de la densidad de ocupación de las jaulas sobre los parámetros cualitativos.

Gallinas/jaula	n	U.H.[1]	P.E.[2] (g/cm^3)	E.C.[3] (mm)	Color yema	Color cáscara
4 ponedoras	4	93,8	1,0957	352	9,74	26,6
5 ponedoras	4	93,4	1,0962	354	10,10	26,9
sem.		4,195	0,004	13,100	0,575	1,95
P		N.S.	N.S.	N.S.	0,095	N.S.

[1] U.H.: Unidades Haugh, [2] P.E.: Peso específico, [3] E.C.: Espesor de cáscara,

Discusión

Nuestros resultados sobre el efecto de número de ponedoras por jaulasobre la producción de huevos son opuestos a muchos de los obtenidos por investigadores citados en la Introducción (Fuenmayor, 1992; Valdivié y col., 2003; Robinson, 1979; De Acosta, 2002, entre otros). Por el contrario, concuerdan con los de Roush (1984) y Onbaşilar (2005), quienes también obtienen mayor P.M.H. con mayor densidad de gallinas.

Por su parte, Lee (1989), Mench y col. (1986), Koelkebeck (1987) no encontraron relación entre la densidad de ponedoras en jaula y el tamaño de los huevos puestos.

Tampoco coinciden los resultados que obtuvimos en el ensayo con relación al efecto de la densidad de gallinas en el porcentaje de huevos rotos (sin diferencias significativas) con los expuestos por Fuenmayor (1992), quien encuentra mayor porcentaje de huevos rotos con mayor densidad de ponedoras.

Fuenmayor (1999) obtuvo siempre mayores producciones a lo largo de la puesta en gallinas alojadas con menor densidad, aunque estos resultados no fueran finalmente significativos. También encontró menor porcentaje de huevos rotos con menores densidades, siendo en esta ocasión resultados significativamente diferentes.

Por su parte, Craig y Milliken (1989) encontraron un efecto negativo de una mayor densidad de ocupación de las jaulas sobre la intensidad de puesta; efecto negativo que se hacía más evidente conforma el ciclo de puesta avanzaba.

No obstante, se observa una clara tendencia a que la mortalidad aumente con mayor densidad, lo que coincide con lo obtenido por Cepero (2002), Carey (1986), Koelkebeck y col. (1984), Roush y col. (1984) y Adams y col. (1985).

Algunos autores defienden que el riesgo y la intensidad del picaje dependen del hacinamiento al que estén sometidas las ponedoras, ya que éstas, en situaciones de gran densidad de ocupación, no pueden realizar sus pautas normales de picoteo sobre la superficie (ya sea suelo arenoso o jaula), debido a la imposibilidad de moverse libremente, y ante tal frustración, realizan sus pautas de picoteo sobre las plumas del resto de gallinas del grupo, pero con poca intensidad, siendo los picajes de mayor intensidad los causados por el establecimiento de la jerarquía (Savory, 1995; Hansen y col*.,* 1994; Vestergaard y col*.,* 1993).

La interacción estirpe-densidad sólo resulta significativa en el caso de las gallinas morenas, con una mayor mortalidad en las jaulas de 5 gallinas que en las de 4 animales, de la misma forma que encontramos en Bilčik (1999), aunque con gallinas blancas, por una mayor agresividad y picaje.

El que las gallinas blancas de nuestro trabajo no presenten diferencias significativas según la densidad de ocupación podría estar enmascarado por la agresividad mostrada por estos animales.

Al ser el peso específico y el grosor de la cáscara dos estimadores de la calidad de ésta, parece lógico que no presenten diferencias significativas entre estirpes de forma simultánea. De hecho, la correlación entre ambos estimadores (R^2=0,78) está bien establecida (Stadelman y col., 1986) Este resultado parece contradecir el obtenido respecto al mayor porcentaje de huevos

rotos observado en gallinas morenas y que se comentaba unas páginas más atrás. Debemos señalar que como huevos rotos se han contabilizado no sólo los que se han fracturado por una mala calidad de cáscara, sino también aquéllos rotos por accidente o los que son picados por las gallinas. Por tanto, un alto porcentaje de huevos rotos no implica necesariamente una peor calidad de cáscara.
Büttow (2005) en su Tesis Doctoral concluyó que los huevos procedentes de la estirpe semipesada utilizada presentaron mayor de fortaleza de la cáscara (densidad, espesor y peso) que los procedentes de gallinas ligeras, si bien estos animales estaban alojados en jaulas enriquecidas.

La ausencia de efecto de la densidad de animales sobre la calidad interna del huevo ya fue expresada por Adams y col (1975). Tampoco Davami (1987) ni Sütö (1997) encontraron diferencias en las Unidades Haugh al variar la densidad de ocupación de las jaulas, al contrario que Onbaşilar (2005), quien obtuvo mejor calidad de albumen en jaulas ocupadas por 5 gallinas que en las ocupadas con 1 ó con 3 animales, aunque los resultados fueron muy variables a lo largo del tiempo.

Ni estos mismos autores citados, ni Wells (1972), obtuvieron diferencias por efecto de la densidad de gallinas respecto a la resistencia a la rotura y al grosor de la cáscara.

Conclusiones
La estirpe influyó clara y significativamente sobre el peso medio del huevo, siendo las ponedoras morenas las que mayores valores alcanzaron.

La influencia de la estirpe también fue significativa en la cantidad de huevos rotos, siendo las ponedoras morenas las que registraron un mayor porcentaje de éstos.
La estirpe ligera empezó a poner antes y con un ascenso de la producción más rápido que la semipesada, presentando también un descenso más lento en la producción de la fase descendente, aunque las gallinas morenas mostraron un mayor pico de de puesta y de M.H.D.

La mortalidad fue más elevada en ponedoras blancas que en morenas, fundamentalmente debido a su mayor agresividad.

Las ponedoras morenas obtuvieron los mejores resultados en cuanto a color de yema y las blancas en calidad de albumen en casi todos los meses de producción y en los resultados totales. Ambas estirpes presentaron una calidad de cáscara similar.

En lo referente a la densidad de ocupación, el peso medio del huevo, el porcentaje de huevos XL y de huevos rotos fue significativamente mayor en las jaulas de 5 ponedoras, mientras que

en las de 4 ponedoras lo fue en el porcentaje de huevos S y M, y de huevos enteros clasificados. Las diferencias en Intensidad de puesta y la M.H.D. no fueron significativas.

Los datos de mortalidad no fueron significativos salvo en la interacción estirpe-densidad en gallinas morenas, con mayor mortalidad en jaulas de 5 ponedoras frente a las de 4 ponedoras.

La densidad de ocupación, en cuanto a calidad del huevo, solamente influyó significativamente en el color de yema, siendo las jaulas de 5 ponedoras las alcanzaron valores más altos de Unidades Haugh.

REFERENCIAS

1. Acosta I.R de., A. Márquez-Araque, e I. Angulo. 2002. Respuestas de gallinas ponedoras a diferentes densidades en jaulas y niveles de energía dietética. Arch. Latinoam. Prod. Anim.10(1):1-6.
2. Adams A. W., y J.V. Craig. 1985. Effect of crowding and cage shape on productivity and profitability of caged layers. Poult. Sci. 64:238-242.
3. Allen, J., y G.C. Perry. 1975. Feather pecking and cannibalism in a caged layer flock. Brit. Poult. Sci. 16:441–451.
4. Anderson, K.E., G.S. Davis, P.K. Jenkins, y A.S.Carroll. 2004. Effects of bird age, density and molt on behavioral profiles of two commercial layer strains in cages. Poult. Sci. 83:15–23.
5. Bilcîk, B., y B. Keeling. 1999. Changes in feather condition in relation of feather pecking and aggressive behaviour in laying hens. Brit. Poult. Sci.40:444–451.
6. Bilcîk, B., y B. Keeling. 1999 Relationship between feather pecking and group pecking in laying hens and the effect of group size. Applied Anim. Behav. Sci. 68: 55-66.
7. Brake, J.D., y E.D. Peebles. 1992. Laying hen performance as affected by diet and caging density. Poult. Sci. 71:945–950.
8. BÜTTOW, V.F. 2005. Bienestar animal y productividad en gallinas ponedoras comerciales alojadas en jaulas enriquecidas. Tesis Doctoral. Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España. http://tede.ibict.br/tde_arquivos/1/TDE-2005-09-26T07:26:59Z-96/Publico/VictorFernandoBRoo.pdf
9. Carey, J.B., F.L. Kuo, y K.E. Anderson. 1995. Effects of cage population on the productive performance of layers. Poult. Sci. 74:6533-637.
10. Carey, J.B. 1996. Effects of pullet-stocking density on performance of laying hens Poultry Science Association. Poult. Sci. 68:1283-1287.
11. Cepero, R. 2002. Producción de huevos: Situación actual y nueva normativa comunitaria. Lecciones sobre el huevo. Instituto de estudios del huevo. (Coord.: Sastre A y col. Madrid).
12. http://www.institutohuevo.com/images/archivos/lecciones_del_huevo_completo.pdf
13. Cook, R.E., y E.F. Dembnicki. 1966 Performance and interactions of seven egg production stocks in three cage housing regimens. Poult. Sci. 45:17–21.
14. Cunningham. D.L., y C.E. Ostrander. 1982 The effects of strain and cage shape and density on performance and fearfulness of White Leghorn layers. Poult. Sci. 61:239–243.
15. Davami, A., M.J. Wineland, W.T. Jones, R.L. Ilardi, y R.A. Peterson. 1987. Effects of population size, floor space, and feeder space upon productive performance, external appearance, and plasma corticosterone concentration of laying hens. Poul. Sci. 66:251-257.
16. Dorminey, R.W., y G.H. Arscott. 1971 Effect of bird density, nutrient density and perches on the performance of caged White Leghorn layers. Poult. Sci. 50:619–624.
17. Fuenmayor, G., O. Hernández, N. Leidenz, y J. Aguirre. 1992. Efectos de dos densidades de gallinas en jaulas sobre la producción de huevos. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 9(4):271-280.
18. Hansen, I., y B.O. Braastad. 1994. Behavioural expressions of laying hens in aviaries and cages – frequencies, time budgets and facility utilization. Brit. Poult. Sci. 35:491–508.

19. Hughes, B.O., y D.G.M. Wood-Gush. 1977. Agnostic behavior in domestic hens: The influence of housing method and group size. Anim. Behav. 25(4):1056-1062.
20. İscan, M.İ., M.E. Tekin, y Ş. İnal. 1998. Gallinas de puesta, su posicionamiento y el comportamiento adquirido con el cambio de posicionamiento. Investigación Avícola (Yumurta tavuklarının kafeslerde farkli yerleşim sıklığında performansları. Hayvancılık Araştırma) Derg. 8 (1–2):111–114.
21. Koelkebeck, K.W., y J.R. Cain. 1984. Performance, behaviour, plasma corticosterone, and economic returns of laying hens in several management alternatives. Poult. Sci. 63:2123–2131.
22. Koelkebeck, K.W., M.S. Amoss, y J.R. Cain. 1987. Production, physiological and behavioral responses of laying hens in different management environments. Poult. Sci. 66:397–407.
23. Lee K. 1989. Laying performance and fear response of white leghorns as influenced by floor space allowance and group size. Poult. Sci. 68:1332-1336.
24. Mench, J. A., A. Van Tienhoven, J.A. Marsh, C.C. McCormick, D.L. Cunningham, y R.A. Baker. 1986. Effects of cage and floor pen management on behavior, production, and physiological stress responses of laying hens. Poult. Sci. 65:1058-1069.
25. Onbasilar, E.E., y F.T. Aksoy. 2005. Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. Livest. Prod. Sci. 95:255–263.
26. Quart, M.D., y A.W. Adams. 1982. Effects of cage design and bird density on layers: 1.Productivity, feathering and nervousness. Poult. Sci. 61:1606-1613.
27. REGLAMENTO (CE) No 598/2008 DE LA COMISIÓN de 24 de junio de 2008 que modifica el Reglamento (CE) no 589/2008 por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 1234/2007 del Consejo en lo que atañe a las normas de comercialización de los huevos.
28. Robinson, D. 1979. Effects of cage shape, colony size, floor area and cannibalism preventative measures on layer performance. Brit. Poult. Sci. 20:345–356.
29. Roush, W.B., M.M. Mashaly, y H.B. Graves. 1984. Effect of increased bird population in a fixed cage area on production and economic responses of single comb white leghorn laying hens Poult. Sci. 63:45-48.
30. Savory, C.J. 1995. Feather pecking and cannibalism. World's Poult. Sci. J. 51:215-219.
31. Siegel, P.B., y W.B.Gross. 2000. Livestock handling and transport. In: Grandin, T. (Ed), General Principles of Stress and Well-being, 2nd ed. CAB International, Wallingham, pp. 27 – 41.
32. Stadelman, W.J., y O.J. Cotterrill. 1986. Quality identification of shell eggs. Pages 37-62 en Egg Science and Technology. W.J. Stadelman y O.J. Cotterrill, ed. AVI Publ. Co. Inc., Westport, CT. USA.
33. Sütö, Z., P. Horn, y J. Ujvari. 1997. The effect of different housing systems on production. Acta Agrar, Kvar. 1(1):29–35.
34. Valdivié, M., y A. Pérez. 2003. Densidad de gallinas ponedoras en Cuba. Revista Cubana de Ciencia Avícola 7(2):179-182.
35. Vestergaard, K.S., J.P. Kruijt, y J.A. Hogan. 1978. Feather pecking and chronic fear in groups of red junglefowl: their relations to dustbathing, rearing environment and social status. Anim. Behav. 45:1127–1140.
36. Wegner, R.M. 1990. Experience with the get-away cage system World's Poult. Sci. 46:41–47.
37. Wells, R.G. 1972. A comparison of the shell strength of eggs from battery and deep-litter units. Brit. Poult. Sc. 13:410–421.

Regresar a lista de contenidos

EFECTOS DE 3 DISTINTOS APORTES ALIMENTICIOS RESTRINGIDOS COMO INDUCTORES DE LA MUDA EN GALLINAS PONEDORAS, DEL MES POST-MUDA Y DEL NÚMERO DE GALLINAS POR JAULA SOBRE LA CALIDAD DEL HUEVO

Callejo, A.; Cardoso[1], W., Sanz, S., Daza, A; Buxadé, C.*
Dpto. de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España
[1] Lab. de Estudios Ornitológicos. Facultad de Veterinaria. Universidad Estatal de Ceará. Brazil.
antonio.callejo@upm.es

Resumen
En la Unión Europea los métodos de muda en gallinas ponedoras, basados en la supresión de la alimentación sólida a las mismas durante un determinado período, están prohibidos por su negativa incidencia en el bienestar de las aves. Por esta razón, se están estudiando otros sistemas para inducir y realizar la muda que no perjudiquen su bienestar y, paralelamente, que no impliquen un empeoramiento global de la producción de aquéllas, tanto cuantitativa como cualitativamente. En el presente trabajo se han comparado 3 alimentos distintos utilizados para inducir la muda (salvado de trigo, cebada y un pienso comercial suministrado en cantidad restringida), aplicados a 240 gallinas semipesadas, de 53 a 73 semanas de edad, alojadas en grupos de 4 y 6 gallinas por jaula. Todas las variables cualitativas estudiadas se vieron afectadas ($p<0,001$) por el mes de puesta tras la muda. El tipo de restricción utilizado tuvo un efecto ($p<0,001$) en el espesor de cáscara y en su peso específico (mayor con pienso restringido), en el color de yema (menor con salvado), en la altura del albumen y en las U. Haugh (menor con pienso restringido). El peso del huevo no se vio afectado por el tipo de dieta ingerida durante el proceso, pero sí por el número de gallinas por jaula ($p<0,05$); tipo de dieta que también influyó ($p<0,001$) en los parámetros de calidad estudiados, aunque de forma variable en cada caso.
Palabras clave: ponedora, muda, densidad, producción, calidad

Introducción

La inducción de la muda en gallinas ponedoras ha sido históricamente una práctica habitual en la producción intensiva de las gallinas ponedoras. Con esta práctica se logra que los animales puedan afrontar más de un ciclo de puesta.

Tras la muda, se observa una mejora de los resultados productivos de las aves. Estas mejoras son no tanto cuantitativas (mayor peso del huevo, menor número de huevos rotos, mayor masa de huevo) (Yousaf, 2006a), como, básicamente, cualitativas (calidad interna del huevo expresada en Unidades Haugh, calidad del albumen, espesor y textura de la cáscara, peso específico del huevo) (Zimmermann *et al*, 1987; Hansen, 1967; Yousaf, 2006b).

El mayor peso del huevo tras la muda resulta de sumo interés en países, como es el caso de España, cuyo mercado ha tenido una clara predilección por el huevo grande (en razón de sus

hábitos de consumo). Además, con la aplicación de esta técnica se alarga el período de vida útil de las aves y se disminuye la tasa unitaria de su amortización.

La muda, básicamente, persigue regenerar el aparato reproductor de la gallina, para lo que resulta necesaria una completa interrupción de la puesta y la regresión del aparato reproductor. Ello permitirá su "rejuvenecimiento" e iniciar, posteriormente, un nuevo ciclo productivo.

Durante muchos años, el método más habitual utilizado para inducir la muda ha consistido en someter a las aves a un ayuno alimenticio durante un determinado período de tiempo. A pesar de los incuestionables buenos resultados de este método (Brake, 1993), actualmente, especialmente en el ámbito de la Unión Europea, se considera que esta privación de alimento genera un fuerte estrés en la gallina ponedora, además de hacerla más susceptible a la invasión y posterior colonización de su aparato digestivo por *Salmonella enteritidis* (Park *et al*., 2004). En efecto, los cambios hormonales observados en gallinas privadas de alimento incluyen un largo período con mayor nivel de corticosterona en la sangre (Etches *et al., 1983)* lo cual reduce la capacidad inmunológica contra infecciones y patologías.

Debido a esta pérdida de bienestar por el animal, este método de muda fue finalmente prohibido en la Unión Europea. Por ello, desde hace algunos años se está trabajando en poner a punto distintos métodos de inducción de la muda que no exijan la supresión de la alimentación de la gallina, que no le generen estrés y que, paralelamente y en la medida de lo posible, no disminuyan los resultados cuantitativos y cualitativos de la producción posterior.

En este sentido, se han ensayado gran diversidad de tipos de dietas. En general, se trata de dietas con unas bajas densidades energética y proteica, y un alto nivel de fibra. Estas dietas contienen diversos porcentajes de cereales y de otros alimentos como alfalfa (Kwon et al, 2001; Landers et al., 2005; Donalson *et al.*, 2005), orujo de uva (Zimmermann *et al.* 1987), harina de algodón (Davis et al., 2002), etc.

En el presente trabajo se analizan los efectos de tres métodos nutricionales de inducción de la muda sobre resultados cuantitativos y cualitativos resultantes. Asimismo, se pretende ver el efecto del número de gallinas por jaula (densidad de ocupación) sobre dichos resultados

Material y Métodos

La experiencia se realizó en la nave experimental de ponedoras ubicada en el Campus de Prácticas de la E.T.S. de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid (España). Dicha nave es oscura, sin ventanas, cuenta con ventilación dinámica y sistema de refrigeración evaporativa.

La base animal experimental estuvo constituida por 240 gallinas semipesadas, de 57 semanas de puesta y 73 semanas de edad al inicio del tratamiento, colocadas aleatoriamente en el nivel central de una batería tipo semi-California de 3 pisos, 120 aves a cada lado. En cada una de las filas, las gallinas se alojaron en jaulas de idénticas dimensiones (50,8 x 45 = 2.286 cm^2), pero con cargas de 2, 4 ó 6 gallinas. Por tanto, la superficie disponible era de 1.143, 571,5 y 381 cm^2/ave, respectivamente.

Los tratamientos de muda se realizaron utilizando tres alimentos distintos: salvado, cebada y un pienso comercial suministrado en cantidad restringida (55 g/ave y día), siguiendo el esquema que se muestra en la Figura 1.

Figura 1. Distribución de las gallinas ponedoras por método de muda y densidad de ocupación.

Jaula	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Tratamiento	S	S	**S**	C	C	C	R	R	R	S	S	C	C	C	S	R	R	R	S	S	C	C	S	S	C	C	R	R
Nº gallinas	4	4	**2**	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tratamientos: S: salvado; C: cebada; R: restricción; * = Nº de gallinas x jaula

El programa de iluminación durante el tratamiento de muda fue reducido a 8 horas de luz/día.

Los huevos se clasificaron por pesos atendiendo a la normativa europea distribuyéndose en las clases XL (> 73 g), L (63-73 g), M (53-63 g) y S (< 53 g).

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza que incluía como factores principales de variación el número del mes transcurrido tras la muda, el alimento utilizado para inducir la muda y el número de gallinas por jaula. También se consideraron las interacciones dobles entre dichos factores. Se utilizó el test de Newman-Keuls para comparar las medias obtenidas.

Por otra parte, se realizó un análisis de regresión con el fin de calcular las correlaciones entre el color de la cáscara, el espesor de cáscara, el color de yema, la densidad específica, la altura del albumen y las Unidades Haugh, y el mes transcurrido tras la muda. Todos los análisis se efectuaron con la ayuda del software Stat - Graphics® (v. Centurion).

Resultados

En el Cuadro 1 se muestran las propiedades físicas del huevo en relación al mes tras la muda, el método de muda y el número de gallinas por jaula. El mes tras la muda y el método de muda no tuvieron influencia significativa sobre el peso del huevo y sobre su clase comercial. Sin embargo, se observó un menor peso del huevo y una clasificación comercial más baja en los grupos con 6 gallinas. Las variables color de cáscara, espesor de cáscara, color de yema, peso específico, altura de albumen y Unidades Haugh se vieron significativamente afectadas ($P<0,05$) por el número de meses transcurridos tras la muda. El Cuadro 2 muestra las relaciones entre las variables citadas.

Entre el color y espesor de cáscara, altura de albumen y Unidades Haugh y el mes tras la muda, se encontraron relaciones cuadráticas, aunque los coeficientes de determinación y las desviaciones estándar residuales obtenidas a partir de las ecuaciones de regresión utilizadas fueron bajas y altas, respectivamente, lo que pone en evidencia, que tales relaciones eran muy poco consistentes. Entre el color de la yema y el peso específico y el mes tras la muda se detectaron relaciones lineales y exponenciales, respectivamente, aunque tampoco dichas relaciones mostraban excesiva solidez. Como puede observarse en el Cuadro 1, el método de

muda tuvo influencia significativa (P<0,05) sobre el color y el espesor de la cáscara, sobre el peso específico y sobre la altura de albumen y Unidades Haugh.

Las gallinas que fueron mudadas con salvado tuvieron valores de color de cáscara más altos que las que fueron mudadas utilizando cebada, y los huevos procedentes de gallinas mudadas con salvado o cebada mostraron un espesor de cáscara inferior a los procedentes de gallinas mudadas mediante el suministro restringido de un pienso comercial. El color de la yema fue significativamente menor en los huevos de gallinas mudadas con salvado que los de los otros métodos. El peso específico fue más alto en los huevos de gallinas sometidas a restricción de pienso comercial que en los procedentes de gallinas mudadas con salvado o cebada. La altura del albumen y las Unidades Haugh fueron, sin embargo, inferiores en los huevos de gallinas sometidas a restricción.

Cuadro 1. Propiedades físicas del huevo según el mes post-muda (MAM), método de muda (MM) y número de aves por jaula (NB)

	n	Peso huevo (g)	Clase huevo (1)	Color cascara	Espesor cascara (mm)	Color Yema	Densidad específica	Altura albumen	Unidades Haugh
MAM									
Septiembre	127	72.51	3.39	24.88^{a}	0.336^{ab}	10.31^{a}	1.082^{ab}	5.66^{a}	80.13^{a}
Octubre	124	72.64	3.38	24.09^{a}	0.367^{c}	9.92^{b}	1.083^{b}	5.84^{a}	81.97^{a}
Noviembre	125	72.84	3.44	26.03^{b}	0.350^{b}	10.26^{a}	1.079^{cd}	5.63^{a}	80.99^{a}
Diciembre	120	73.84	3.48	25.04^{ab}	0.368^{c}	10.23^{a}	1.080^{ad}	5.84^{a}	81.92^{a}
Enero	125	72.89	3.40	26.38^{c}	0.341^{ab}	10.24^{a}	1.077^{ef}	6.20^{b}	84.51^{b}
Febrero	129	72.94	3.44	28.70^{d}	0.348^{ab}	11.31^{c}	1.078^{cf}	5.91^{ab}	81.96^{a}
Marzo	97	73.73	3.47	29.78^{d}	0.344^{a}	10.48^{a}	1.075^{e}	5.03^{c}	75.09^{c}
sem		0.55	0.053	0.42	0.035	0.088	0.00066	0.11	0.083
		NS	NS	*	*	*	*	*	*
MM									
Salvado	292	73.30	3.44	27.00^{a}	0.346^{a}	10.24^{a}	1.079^{a}	5.84^{a}	82.03^{a}
Cebada	313	73.13	3.45	25.95^{b}	0.347^{a}	10.52^{b}	1.078^{a}	5.85^{a}	81.65^{a}
Restricción	242	72.75	3.39	26.28^{ab}	0.359^{b}	10.42^{b}	1.080^{b}	5.50^{b}	79.14^{b}
sem		0.36	0.36	0.27	0.024	0.059	0.00042	0.076	0.55
		NS	NS	*	*	*	NS	*	*
NB									
2	202	74.04^{a}	3.52^{a}	26.45^{ab}	0.348	10.27^{a}	1.078^{a}	6.08^{a}	83.28^{a}
4	340	73.09^{a}	3.43^{a}	25.65^{a}	0.351	10.40^{b}	1.080^{b}	5.69^{b}	80.74^{b}
6	305	72.04^{b}	3.34^{b}	27.15^{b}	0.352	10.51^{b}	1.080^{b}	5.41^{c}	78.81^{c}
sem		0.37	0.035	0.28	0.0023	0.058	0.00043	0.074	0.54
		*	*	*	NS	*	*	*	*
P MMxNB<		NS	NS	NS	NS	*	NS	*	*

(1) 1 = huevos < 53 g; 2 = huevos de 53 g a 63 g; 3 = huevos de 63 g a 73 g; 4 = huevos> 73 g
n = numero de huevos.
sem = error estándar de la media.
De acuerdo al factor de variación, medias con superíndices diferentes son significativamente diferentes (P<0,05)

Como puede también observarse en el Cuadro 1, el número de gallinas por jaula tuvo efecto significativo (P<0,05) sobre el color de cáscara, color de yema, densidad específica, altura de albumen y Unidades Haugh. El valor más alto de color de cáscara se encontró en el grupo de 6 gallinas. Según se incrementa el número de aves por jaula disminuye significativamente la altura

del albumen y las Unidades Haugh, mientras que aumenta el color de la yema y el peso específico.

La interacción entre el método de muda y el número de gallinas por jaula, fue significativa (P<0,05) para las variables color de yema, altura de albumen y Unidades Haugh (Cuadro 2).

Cuadro 2. Interacción método de muda (MM) x número de gallinas por jaula (NB) para las variables color de yema, altura de albumen y Unidades Haugh.

MM	NB	n	Color Yema	Altura albumen	Unidades Haugh
	2	61	10.27^{ac}	6.03^{a}	83.37^{ab}
Salvado	4	112	10.19^{ac}	5.80^{a}	81.62^{ac}
	6	119	10.28^{ac}	5.70^{a}	81.05^{ac}
	2	77	10.47^{ab}	6.45^{b}	86.04^{b}
Cebada	4	114	10.65^{bc}	5.72^{a}	81.27^{ac}
	6	122	10.44^{ab}	5.39^{ac}	78.93^{cd}
	2	64	10.08^{c}	5.77^{a}	81.66^{ac}
Restricción	4	114	10.36^{ab}	5.57^{a}	79.67^{c}
	6	63	10.81^{d}	5.16^{c}	76.13^{d}
sem			0.097	0.12	0.97
P <			0.001	0.047	0.050

n = numero of huevos.
sem = error estándar de la media.
De acuerdo al factor de variación, medias con superíndices diferentes son significativamente diferentes (P<0,05)

El color de yema fue significativamente diferente según el método de restricción aplicado, mientras que no se observaron diferencias significativas cuando las gallinas fueron mudadas con salvado. Más aún, la disminución de los valores de altura del albumen y de las Unidades Haugh debido al mayor número de aves por jaula fue más alta en el método de muda con cebada que en el método de restricción del pienso.

Discusión

A la hora de estudiar la bibliografía disponible no se han encontrado referencias que incluyan la densidad de ocupación de la jaula sobre los resultados de la muda.

Los resultados obtenidos por nosotros indican que, cuando el espacio disponible es bajo (6 gallinas/jaula Ξ mayor densidad), todos los parámetros cualitativos analizados presentan peores valores, excepto el referido al peso específico. Los resultados son variables cuando a este factor se le añade el método de muda y se analiza su interacción.
La mejor calidad del albumen (medida tanto por su altura como por el valor de las unidades Haugh,) que obtenemos mediante métodos nutricionales alternativos (salvado o cebada) coinciden con los obtenidos por Landres et al. (2005) utilizando alfalfa.

Nuestros resultados, en lo concerniente al peso del huevo (sin diferencias significativas entre tratamientos), son coincidentes con los de Biggs *et al*. (2004), si bien estos autores utilizaron una mayor variedad de dietas. Donalson *et al* (2005) no encontraron diferencias utilizando alfalfa frente al método de restricción total del pienso. Este mismo autor obtuvo mejores resultados de

calidad de cáscara (midiendo la fuerza de rotura) con una dieta de alfalfa que con el método de restricción total.

Del mismo modo, los numerosos trabajos existentes que estudian la evolución de los parámetros cualitativos coinciden con los nuestros; la calidad del albumen, el espesor de cáscara y el peso específico experimentan un deterioro a lo largo del segundo ciclo de puesta, como también lo reflejan los resultados obtenidos al aplicar las correspondientes ecuaciones de regresión.

Conclusiones

Los métodos nutricionales alternativos a la restricción total o parcial del pienso constituyen técnicamente una posibilidad real para inducir la muda, no observándose que los resultados sean peores que con el método tradicional, al menos en lo referente a parámetros cualitativos del huevo, que son los estudiados en nuestro trabajo.

Sin duda, es preciso seguir investigando para alcanzar resultados concluyentes en cuanto a la materia prima a utilizar, su nivel energético y proteico (por tanto, nivel de fibra), de cara a estandarizar el uso de algunos de ellos y establecerlos como sistemas de inducción de muda de amplia utilización, tal y como lo llegó a ser el método del ayuno.

REFERENCIAS

1. Bell, D. D., y D. R. Kuney. 2004. Farm evaluation of alternative molting procedures. J. Appl. Poult. Res. 13:673-679.
2. Biggs, P. E., M. E. Persia, K. W. Koelkebeck, y C. M. Parsons. 2004. Further evaluation of nonfeed removal methods for molting programs. Poult. Sci. 83:745-752.
3. Brake, J. 1993. Recent advances in induced moulting. Poult. Sci. 72:929-931.
4. Donalson, L. M., W. K. Kim, C. L. Woodward, P. Herrera, L.F. Kubena, D. J. Nisbert, y S. C. Ricke. 2005 Utilizing different ratios of alfalfa and layer ration for molt induction and performance in commercial laying hens. Poult. Sci. 84:362-369.
5. Etches, R.J., J.B. Williams, y J. Rzasa. 1983. Corticosterone and nutritionally induced ovarian regression in the hen. Poult. Sci. 62:1417 (Abstr.).
6. Hnin Yi Soe, M. Yayota, y S. Ohtani. 2008. Investigation of ME level of molt diet for full fed induced molting in laying hens. The J. of Poult. Sci. 45:101-109.
7. Koelkebeck, K. W., y K. E. Anderson. 2007. Molting layers – Alternative methods and their effectiveness. Poult. Sci. 86:1260-1264.
8. Landers, K. L., C. L. Woodward, X. Li, L. F. Kubena, D.J. Nisbet, y S. C. Ricke. 2005. Alfalfa as a single dietary source for molt induction in laying hens. Bioresource Tech. 96:565-570.
9. Landers, K. L., Z. R. Howard, C. L. Woodward, S. G. Birkhold, y S. C. Ricke. 2005. Potential of alfalfa as an alternative molt induction diet for laying hens: egg quality and consumer acceptability. Bioresource Tech. 96:907-911.
10. Park, S. Y., W. K. Kim, S. G. Birkhold, L. F. Kubena, y D. J. Nisbet. 2004. Induced moulting issues and alternative dietary strategies for the egg industry in the United States. World's Poult. Sci. J. 60:196-209.

11. Yousaf, M. 2006a. Influence of different copper and aluminium levels on organ weights, feather renewal and production performance of molted layers. Pakistan J.l of Arid Agri. 9(1):35-39
12. Yousaf, m. 2006b. Induced molting: Tips for success. Poult. Int. 45(4): 36-40.
13. Zimmermann, N.N., D.K. Andrews, y J. Magginnis. 1987. Comparison of several induced moulting methods on subsequent performance of Single Comb White Leghorn hens. Poul. Sci 66:408-417.

Regresar a lista de contenidos

EFECTO DE LA ESTIRPE Y DEL TRATAMIENTO DE MUDA EN LA INTERRUPCIÓN DE LA PUESTA Y LA RECUPERACIÓN PRODUCTIVA POSTERIOR

Callejo*, A.; Nicodemus, N., Laínez, K.S.; Buxadé, C.
Dpto. de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. España
antonio.callejo@upm.es

La inducción de la muda en gallinas ponedoras, mediante la supresión total del alimento sólido, está prohibida en la UE. Por ello, es necesario estudiar sistemas alternativos que, logrando los mismos efectos, no causen en el ave una sensación de hambre que perjudique significativamente su bienestar. El objetivo es conseguir que la gallina experimente una adecuada pérdida de peso vivo para que la puesta cese rápidamente, su tracto reproductor se "rejuvenezca", restableciéndose la producción de huevos lo más rápida y satisfactoriamente posible, con una mínima mortalidad. En este trabajo se han utilizado 216 gallinas de una estirpe ligera (Hy-Line) y otras 216 gallinas semipesadas (Lohmann Brown), induciéndoles la muda con 3 alimentos diferentes: salvado de trigo, cebada y un pienso comercial suministrado en cantidad restringida. Las gallinas se alojaron en grupos de 4 aves por jaula, con 18 réplicas por estirpe y alimento. El salvado y cebada causaron el cese de la puesta más rápidamente (días 7 y 9 desde el inicio de la muda; respectivamente), que el pienso restringido (día14) (P<0,001). La intensidad de puesta en el día 30 desde el inicio de la inducción a la muda fue similar entre tratamientos (33,3%), pero mayor (P < 0,001) en las semipesadas (42,6%) que en las ligeras (23,9%). La mortalidad fue nula durante la muda y sólo en el segundo ciclo de puesta la estirpe tuvo un efecto significativo sobre este parámetro (19,04% en ligeras *vs* 5,09 en semipesadas; P<0,001).
Palabras clave: alimento, muda, mortalidad, producción, estirpe.

Introducción

La inducción de la muda en ponedoras comerciales es una práctica habitual en USA y en la UE, haciendo posible la prolongación de la vida productiva de la gallina hasta, aproximadamente, las 110 semanas de edad o hasta las 140, si se induce una segunda muda (Bell, 2003). La muda supone una renovación del plumaje y el "rejuvenecimiento" de los órganos reproductivos. Las gallinas vuelven a alcanzar niveles de producción y de calidad de huevo similares a los de gallinas jóvenes. También el índice de conversión y la tasa de mortalidad experimentan mejoras (Mansoori y col., 2007).

La pérdida de peso corporal que se debe producir durante el período de inducción de la muda es consecuencia de la involución del ovario y del oviducto, así como de la movilización del tejido lipídico y proteico, y de la pérdida de contenido digestivo (Brake y Thaxton, 1979; Berry and Brake, 1985; Ruszler, 1998). La recuperación de la producción después de la muda está relacionada con el grado de involución y subsiguiente recuperación de los órganos reproductores y de los tejidos lipídico y proteico movilizados. Lee (1982) encontró una correlación positiva significativa entre la duración del período de reposo (parada de puesta) y la producción por gallina alojada, tras la muda.

La muda puede inducirse utilizando diversos métodos, que incluyen la privación de alimento o el suministro de dietas con niveles limitantes de energía o ricas en fibra (frecuentemente en combinación con una reducción del fotoperiodo), de dietas con bajos niveles de sodio y de calcio o bajo nivel de energía y/o ricas en fibra (mediante el uso de subproductos como salvado de trigo o cascarilla de arroz, semilla de algodón), o de dietas donde se incrementa el nivel de zinc, iodo o aluminio (Bell, 2003). También se ha inducido la muda suministrando durante 12 días tiroxina T4 (Kuenzel y col., 2005).

Los métodos que implican la privación o limitación de alimento o de agua durante un cierto período provocan una pérdida de peso vivo de hasta el 30% y tasas de mortalidad entre el 1 y el 1,5%. El racionamiento severo de las ponedoras para inducir la muda está totalmente prohibido en la Unión Europea y en EE.UU (United Egg Producers) es considerado una práctica cruel y no recomendable. El suministro de dietas con niveles limitantes de sodio y calcio, o bajas en energía, o con elevada cantidad de oligoelementos también provocan una considerable reducción del consumo y pérdida de peso, pero perturban la fisiología y el comportamiento de la ponedora (Webster, 2003). Por ello, durante los últimos años se vienen realizando numerosos ensayos con el objetivo de desarrollar métodos alternativos de inducción de la muda que no se fundamenten en la privación de alimento (Landers y col., 2005; Koelkebeck y col., 2006; Yousaf y Chaudry, 2008; Aygun y Yetisir, 2010; De Souza y col., 2010). Estos trabajos muestran que la restricción cualitativa proporcionada por tercerillas o salvado de trigo, cascarilla de soja, cebada o avena combinada con alfalfa y cascarilla de arroz puede usarse satisfactoriamente para inducir la muda en gallinas ponedoras.

El objetivo de este trabajo es analizar la rapidez con que las gallinas pierden peso e interrumpen su puesta en función del alimento utilizado para inducir la muda y de la estirpe, así como la duración de la interrupción de la producción y la recuperación de ésta, a lo largo de un período de 5 semanas desde el inicio del tratamiento.

Material y métodos

La prueba experimental se llevó a cabo en la nave experimental de ponedoras del Departamento de Producción Animal de la Universidad Politécnica de Madrid. Dicha nave dispone de 2 baterías tipo semi-California, con 12 filas de 28 jaulas por fila, dispuestas en 3 pisos. Para el trabajo sólo se utilizaron las cuatro filas del nivel central. Las dimensiones de las jaulas son de 50,8 cm de frente, 45 cm de fondo y 45 cm de altura en la parte frontal, lo que supone una superficie de 2.286 cm². La nave es de ambiente controlado (ventilación dinámica) y dispone de sistema de refrigeración evaporativa mediante paneles humectantes.

Para esta prueba se han utilizado 216 gallinas ligeras (Hy-Line) y 216 gallinas semipesadas (Lohmann Brown), alojadas en grupos de 4. Cada estirpe se ubicó en 2 filas de 27 jaulas por fila, configurándose bloques de 3 jaulas (12 ponedoras), cada uno de los cuales recibió uno de los 3 alimentos experimentales como inductores de la muda: salvado de trigo (S), cebada (C) y pienso comercial restringido (R). Los bloques se distribuyeron al azar, de forma que el diseño experimental correspondió a un modelo factorial 2 x 3, con 18 bloques por estirpe y 12 por

tratamiento, tal y como se muestra en la Figura 1. Todas las gallinas tenían 68 semanas de edad y la muda se indujo tras un primer ciclo de puesta de 53 semanas de duración.

Figura 1. Distribución de los tratamientos de inducción de muda en bloques en cada fila

JAULAS																									
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**	**27**
Pasillo lateral																										
C			S			S			R			C			R			R			C			S		
C			R			S			S			S			C			R			C			R		
Pasillo central																										
R			S			C			S			C			R			C			S			R		
C			S			R			S			C			R			C			R			S		
Pasillo lateral																										
C: Cebada; R: Pienso restringido; S: Salvado Las celdas sombreadas están ocupadas por gallinas semipesadas																										

Para inducir la muda, la iluminación se redujo de 16 a 9 horas/día y se suministraron los 3 alimentos citados en la forma que se expresa en el Cuadro 1

Cuadro 1. Suministro de alimento a lo largo del período de muda

días	***Cebada***	***Pienso ponedoras***	***Salvado***
1-7	*ad libitum*	*60 g/ave y día*	*ad libitum*
8-14	*ad-libitum*	*45 g/ave y día*	*ad libitum*
15-21		*60 g/ave y día*	
22-29		*90 g/ave y día*	
>30		*Ad libitum*	

En el Cuadro 2 se muestra la composición química de los alimentos utilizados para inducir la muda.

Cuadro 2. Composición química de los alimentos utilizados para inducir la muda

Composición Química	Salvado de trigo	Cebada	Pienso comercial
Analizada (% Materia Seca)			
Materia Seca (MS)	89,3	90,6	90,3
Cenizas	5,18	2,73	16,6
Proteína Bruta (PB)	17,3	12,2	17,3
Fibra Neutro Detergente (FND)	38,9	18,0	12,5
Fibra Acido Detergente (FAD)	11,6	4,63	3,72
Lignina Acido Detergente (LAD)	3,08	0,00	0,02
Extracto Etéreo (EE)	3,52	2,65	5,39
Energía Bruta (Kcal/kg MS)	4.624	4.422	3.971
Estimada[1] (% Materia Seca)			
Almidón	26,1	57,2	
Azúcares	5,68	1,79	3,87
Ca	13,6	0,07	0,39
$P_{disponible}$	0,40	0,13	0,39
Na	0,03	0,02	1,22
$C_{18:2}$	1,64	0,87	
Energía Metabolizable (kcal/kg MS)	2.193	3.315	3.045

[1]La composición del salvado y la cebada se estimó de acuerdo a las Tablas de la Fundación Española para la Nutrición Animal (FEDNA) (2010). La del pienso se estimó a partir de los datos aportados por el fabricante.

Todos los análisis químicos de los alimentos se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por la AOAC (2000). La MS de las muestras se determinó mediante secado a 103º C durante 24 horas (934.01). La PB se analizó mediante el método Dumas (N x 6,25; FP-528 LECO®, St. Joseph, MI (USA). Para la determinación de las cenizas se siguió el método de incineración de la muestra a 550º C (942.05). Para determinar el EE se realizó una hidrólisis ácida, tratando la muestra en caliente con ácido clorhídrico. Posteriormente se filtró y el residuo se sometió a análisis (RD 609/1999 nº4). El contenido en FND, FAD y LAD se determinó secuencialmente utilizando el sistema de bolsas filtrantes (filter bag) (Ankom Technology, New York) de acuerdo con Mertens (2002) y AOAC (2000; procedimiento 973.187). Para medir la Energía Bruta (EB), se utilizó una bomba calorimétrica isoperibólica (Model 1356, Parr Instrument Company, Moline, IL).

La puesta se controló diariamente, recogiendo los huevos puestos por cada bloque de 12 animales. Las 4 gallinas de cada jaula se identificaron colocando una anilla en cada pata, de distinto color para cada una, lo que nos permitió realizar el control de peso de cada una de las 412 ponedoras utilizadas en este ensayo. Las gallinas fueron pesadas los días 1, 7, 10, 15 y 30, de forma que se calculó la pérdida o ganancia de peso entre los días 1 y 7, 7 y 10, 10 y 15, 1 y 15, y 15 y 30 tras el inicio de dicho tratamiento. El consumo de pienso, en g/ave y día, fue calculado igualmente para cada bloque experimental.

A partir del día 29 desde el inicio de la inducción a la muda se aplicó un programa de iluminación creciente para estimular la puesta, aumentando 1 hora a la semana hasta alcanzar las 16 horas/día.

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (Statical Systems Institute Inc., Cary, NC, 1999). Los resultados obtenidos de intensidad de puesta, de consumo, de peso vivo y de porcentajes de pérdida o ganancia de peso se analizaron con una estructura factorial mediante un análisis de medidas repetidas utilizando en procedimiento MIXED del SAS (Littell et al., 1996), siendo el período de 1 día la unidad temporal repetida a lo largo del tiempo en el caso de los datos de intensidad de puesta y de periodos agrupados de 5 a 6 días en el resto de las variables. Se incluyeron en el modelo, como efectos principales, la estirpe, el tipo de alimento, los días de muda y sus interacciones.

Se consideró una estructura de varianzas y covarianzas simétrica compuesta según el criterio de información de Schwarz (Littell et al., 1998). Esta estructura asume que las medidas entre ciclos tienen la misma varianza y que la correlación entre los pares de medidas dentro del mismo animal es la misma. Todas las medias se han presentado corregidas por mínimos cuadrados.

En todas las variables estudiadas se utilizó un test LSD protegido para la comparación de medias, y las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P < 0,05$.

Resultados

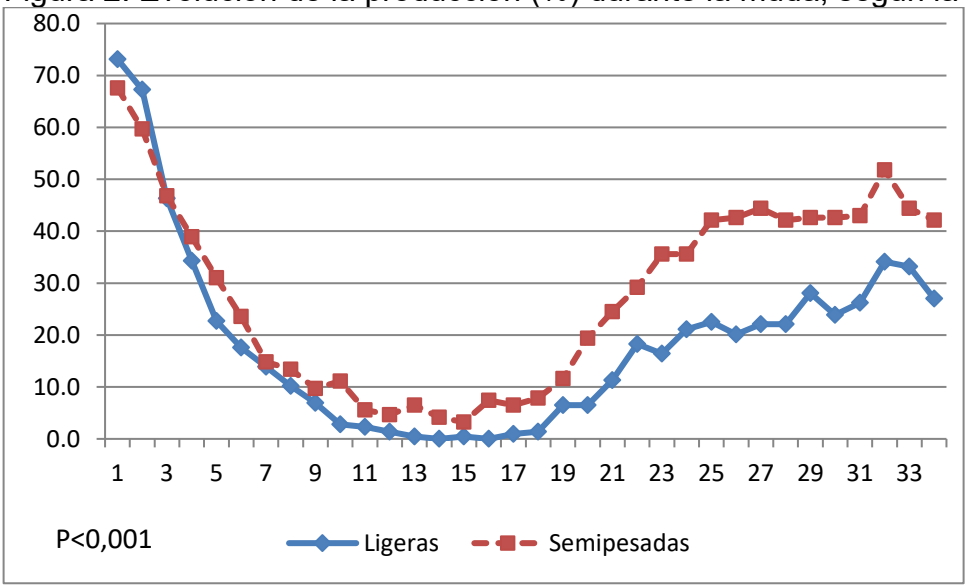
La estirpe de las gallinas influyó sobre la producción media en el período de muda estudiado (Cuadro 3), siendo el índice de puesta un 48,7% mayor en las estirpes semipesadas que en las ligeras. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el nivel de consumo medio durante dicho período entre estirpes.

Cuadro 3. Influencia de la estirpe de gallinas en la producción (%) y en el consumo (g/día) medios durante la muda.

Estirpe	**n**	**IP (%)**	**Consumo (g/día)**
Ligera	18	18,9	80,7
Semipesada	18	28,1	81,7
EEM		2,68	0,90
P		<0,001	0,21
IP: índice de puesta, sobre gallinas presentes EEM: Error estándar medio			

Cuando se estudió la evolución de la puesta de cada una de las estirpes durante el período de muda (Figura 2) se observó que las gallinas ligeras respondían antes que las semipesadas a la inducción de la muda, y que su nivel de producción además, de ser notablemente más bajo, se prolongó a niveles más bajos durante más tiempo.

Figura 2. Evolución de la producción (%) durante la muda, según la estirpe



En la estirpe ligera se logró el cese completo de la puesta (<2%) el día 12 tras el inicio del tratamiento, prolongándose esta puesta cero hasta el día 18. En la estirpe semipesada, el nivel más bajo de producción llegó hasta el 3,24%, el día 15.

El tipo de alimento utilizado para inducir la muda tuvo un papel determinante en la producción de las ponedoras durante la muda, aunque no en el consumo (Cuadro 4). Las gallinas pusieron menos huevos cuando la muda se indujo con cebada o con salvado, mientras que fue significativamente mayor la producción cuando la muda se indujo mediante restricción de pienso. Con salvado y con cebada, la producción fue muy similar.

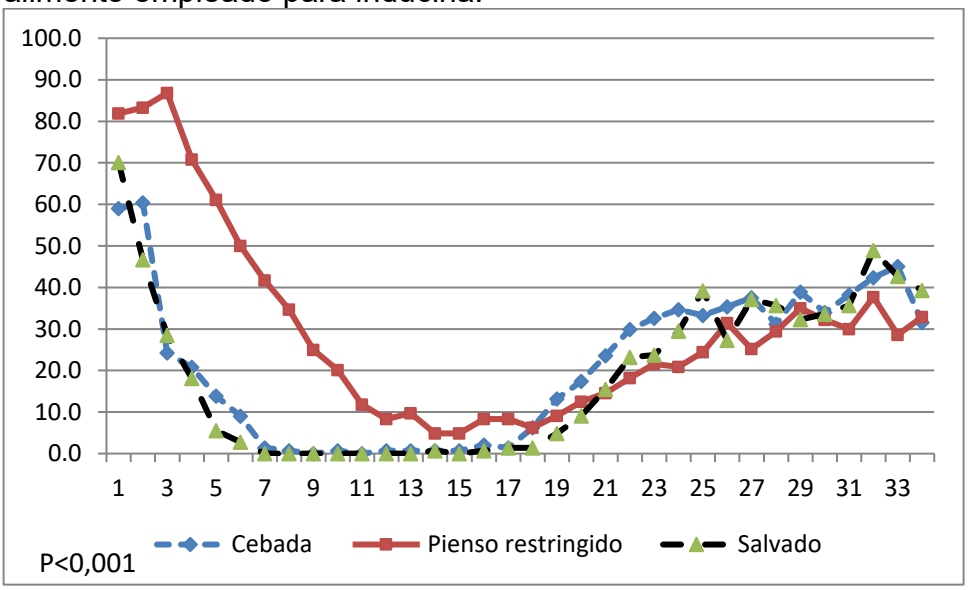
Cuadro 4. Influencia del alimento utilizado para inducir la muda en la producción (%) y en el consumo (g/ave y día) medios durante la muda.

Tratamiento	**n**	**IP (%)**	**Consumo (g/día)**
Cebada	12	21,2[b]	81,9
Pienso	12	30,0[a]	80,3
Restringido	12	19,2[b]	81,4
Salvado		3,29	1,1
EEM		<0,001	0,20
P			
IP: índice de puesta, sobre gallinas presentes EEM: Error estándar medio			

También se encontraron importantes diferencias en la respuesta de las gallinas a lo largo del periodo de muda, según el alimento utilizado para provocarla. En la Figura 3 se puede observar cómo la cebada y el salvado provocaron el cese de la puesta (< 2%) de forma relativamente

rápida, el día 7 tras el inicio del proceso, manteniendo esta interrupción durante 10 días. Incluso el salvado logró cesar la producción un día antes y prolongarla un día más, con relación a la cebada (datos no expuestos). El pienso comercial, suministrado en cantidad restringida, no consiguió interrumpir la puesta completamente (4,86%) y este nivel mínimo no se consiguió hasta el día 14 desde el comienzo del tratamiento y con muy escasa persistencia, apenas 2 días.

Figura 3. Evolución de la producción (%) durante la muda, según el alimento empleado para inducirla.



Se observó una interacción entre la estirpe y el tipo de pienso (Cuadro 5) debido a que en las gallinas ligeras la restricción de pienso fue el método menos eficiente en lograr que las ponedoras interrumpieran la puesta, no encontrándose diferencias entre el salvado y la cebada, mientras que en las gallinas semipesadas, el pienso también fue el tratamiento menos eficiente en provocar la muda, pero el salvado y la cebada se comportaron de manera distinta, siendo en estas ponedoras el salvado más efectivo que la cebada.

Cuadro 5. Efecto del alimento utilizado para inducir la muda sobre la producción (%) durante la misma, según la estirpe

Estirpe	Cebada	Pienso restringido	Salvado
Ligera	16,5^{b}	24,3^{a}	15,8^{b}
Semipesada	26,0^{b}	35,8^{b}	22,6^{c}
EEM: 4,65			
P = 0,074			

Tanto la estirpe como el alimento suministrado para inducir la muda tuvieron efecto sobre la evolución del consumo durante el periodo de muda, encontrándose diferencias entre estirpes

según el alimento utilizado. En el Cuadro 8 se muestra cómo las gallinas de ambas estirpes consumieron todo el pienso puesto a su disposición, mientras que el suministro *ad libitum* de cebada y salvado redujo el consumo voluntario de las aves, consiguiendo además una más rápida reducción de peso (Cuadro 6).

Cuadro 6. Evolución del consumo (g/ ave y día) durante el período de muda, según estirpe y alimento utilizado para inducirla.

		Días					
Estirpe	**Tratamiento**	**1-3**	**4-10**	**11-16**	**17-22**	**23-28**	**29-33**
Ligera	Cebada	43,8	54,2	75,3	78,7	96,5	128
	Restricción pienso	62,1	44,3	65,3	79,5	97,1	126
	Salvado	31,9	52,1	77,0	79,3	96,6	127
Semipesada	Cebada	38,7	53,2	77,4	79,7	98,0	126
	Restricción pienso	64,5	44,6	65,0	78,3	97,6	132
	Salvado	42,8	51,0	76,0	78,8	98,3	130
EEM: 2,45 P<0,001							

EEM: Error estándar medio

En el Cuadro 7 se puede observar cómo las gallinas ligeras perdieron peso más rápidamente que las semipesadas durante los primeros 7 días de muda y ello llevó a una pérdida de peso significativamente mayor al final del período de tratamiento (días 1-15). Posteriormente, el ritmo de recuperación de peso fue similar durante las primeras 2 semanas de suministro de pienso comercial (días 15 a 30). El salvado en primer lugar y a continuación la cebada fueron los tratamientos que consiguieron una pérdida de peso más rápida durante el periodo de muda (1-15 días; Cuadro 8), mientras que el suministro restringido de pienso provocó la mayor pérdida de peso desde los 7 a los 10 días de muda, período en el cual se redujo la cantidad suministrada. Posteriormente, durante los primeros 15 días tras reanudar la alimentación con pienso a todas las gallinas, la recuperación de peso fue más rápida en las gallinas que habían sido alimentadas con salvado y con pienso restringido que las que recibieron cebada.

Cuadro 7. Evolución del peso (g/gallina) y de la pérdida de peso (%) durante la muda según la estirpe

		Días				
Peso (g)	**N**	**1**	**7**	**10**	**15**	**31**
Ligera	216	1682	1393	1349	1341	1483
Semipesada	216	2059	1741	1679	1605	1845
EEM		14,40	12,4	12,0	11,4	11,4
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Pérdida de peso (%)		**1-7**	**7-10**	**10-15**	**1-15**	**15-30**
Ligera	216	17,1	3,06	0,99	20,3	-11,1
Semipesada	216	15,6	3,47	0,95	18,8	-11,4
EEM		0,34	0.23	0,23	0,40	0,63
P		<0,001	0.32	0,91	0,0084	0,76

EEM: Error estándar medio

Cuadro 8. Evolución del peso (g/gallina) y de la pérdida de peso (%) durante la muda según el alimento utilizado para inducirla

		Días				
Peso (g)	**N**	**1**	**7**	**10**	**15**	**31**
Cebada	144	1876^{ab}	1579^{a}	1554^{a}	1545^{a}	1683
Restricción pienso	144	1843^{b}	1593^{a}	1496^{b}	1494^{b}	1661
Salvado	144	1893^{a}	1528^{b}	1491^{b}	1470^{b}	1649
EEM		17,6	15,2	14,7	14,0	14,0
P		0,13	0,023	0,0067	<0,001	0,22
Pérdida de peso (%)		**1-7**	**7-10**	**10-15**	**1-15**	**15-30**
Cebada	144	15,7^{b}	1,55^{b}	0,39^{b}	17,4^{c}	-9,36^{b}
Restricción pienso	144	13,0^{c}	6,05^{a}	1,08^{ab}	18,8^{b}	-11,7^{a}
Salvado		19,5^{a}	2,18^{b}	1,45^{a}	22,4^{a}	-12,7^{a}
EEM		0,42	0,28	0,27	0,48	0,77
P<0,001		<0,001	<0,001	0,02	<0,001	0,008

EEM: Error estándar medio

Discusión

La creciente presión social durante la última década con respecto al bienestar animal, junto con las restricciones impuestas por algunas grandes compañías de alimentación para la aceptación de huevos procedentes de gallinas mudadas (Egg Industry, 2000), han impulsado la investigación para evaluar métodos alternativos a la supresión de alimento para inducir la muda en gallinas ponedoras.

Al contrario que Hurwitz y col., (1998), nuestros resultados sí que muestran diferencias de respuesta entre estirpes a la inducción de la muda, probablemente por haber utilizado 2 estirpes con diferencias de peso importantes. Ovejero (1991) concluye que la estirpe ligera responde mejor al tratamiento de inducción de muda que la semipesada, a pesar de que la aptitud de ambos tipos de ponedoras para la puesta de huevos se ha ido igualando a lo largo de los últimos 20 años.

El nivel de energía de la dieta parece ser un importante factor causante del cese de la puesta. Gallinas alimentadas con tercerillas de trigo y con gluten-meal tuvieron consumos muy bajos durante la primera semana, seguida de una consumo duplicado durante las 3 semanas siguientes (Biggs y col.,2004), resultados que fueron comparables a los obtenidos en nuestro trabajo con el salvado. En el caso del salvado, el bajo consumo de alimento durante la primera semana pudo ser debido a la menor palatabilidad o al brusco cambio en la densidad energética de la dieta. El incremento posterior, a partir de la segunda semana, probablemente se deba al reajuste o compensación por los efectos del bajo nivel energético y baja palatabilidad. También Novak y Ruszler (2007) observaron un brusco descenso del consumo durante la primera semana en gallinas alimentadas con dietas de alto contenido en fibra (cascarilla de soja y tercerillas de trigo).

También el bajo nivel proteico de la cebada parece ser efectivo en la reducción voluntaria del consumo, del mismo modo que encontramos en trabajos realizados con maíz (Biggs y col.,

2004) o con cebada (Petek y Alpay, 2008). También en nuestra prueba la disminución de la producción fue mayor y más rápida con salvado que con cebada, debida a la más rápida disminución del consumo de alimento durante la primera semana. Posteriormente, el consumo fue similar en ambos casos. Cuando se utilizan cereales con menor nivel proteico que la cebada, por ejemplo maíz, los efectos son más graduales; de algún modo, la deficiencia en proteína o aminoácidos toma más tiempo en manifestarse sobre la producción de huevos que una deficiencia energética. También es más gradual la recuperación de las reservas corporales y del peso de la gallina, por lo que la recuperación de la puesta es más lenta.

Los ensayos en los que la muda se indujo con distintos porcentajes de alfalfa (Donalson y col., 2005) la energía es el factor limitante, disminuyendo según aumenta la cantidad de este ingrediente. A menor energía ingerida, menor fue el consumo y mayor fue la pérdida de peso, a pesar de que la cantidad de proteína era ligeramente más alta. Sin embargo, no hubo diferencias respecto al momento de cese y recuperación de la puesta. En nuestra prueba, los tres tratamientos demoraron unos días más en parar la producción y en retomarla, si bien el período de puesta cero fue similar, con lo que cabe esperar alcanzar resultados globales de producción también similares durante el segundo ciclo de puesta (datos no analizados).

La eficacia de un método de inducción de muda debe medirse por la producción obtenida durante el segundo ciclo de puesta. En esta prueba no se han analizado los datos de producción posteriores a los que aquí se presentan. No obstante, de acuerdo con Lee (*op.cit*.), existiría una correlación positiva entre la duración del período de reposo y la producción tras la muda. El período de reposo de las gallinas mudadas con salvado o con cebada fue de, aproximadamente, de 10 días, muy inferior a las que resultaron en mudas efectuadas con dietas enriquecidas con harina de jojoba (Vermaut y col., 1998;) pero superiores a las realizadas con alfalfa (Donalson y col., *op.cit*; Landers y col.,2005), con buenos resultados de producción. También fue superior a la obtenida por Onbasilar y Erol (2007), utilizando también cebada entera para inducir la muda, que únicamente consiguieron parar la puesta en el día 12 y apenas durante 3 días, aunque estuvo por debajo del 3% durante una semana. Será preciso analizar la producción a lo largo del segundo ciclo para obtener resultados más concluyentes, aunque otras pruebas realizadas por nosotros (datos no publicados) no reflejan diferencias productivas en las 6 primeras semanas postmuda.

El pienso comercial, suministrado de forma restringida (60 g/ave y día) durante la primera semana, no logró una reducción de peso ni de producción similar a los otros 2 alimentos, optándose por restringir aún más el aporte de pienso durante la 2º semana (45 g/ave y día), acelerándose tanto la pérdida de peso como la reducción de la producción, aunque sin llegar a que ésta cesase por completo.

Los porcentajes de pérdida de peso alcanzados, bien considerando la estirpe, bien considerando el tratamiento, fueron inferiores a los recomendados por Baker y col. (1983) o por Gordon y col. (2009). A pesar de que en este estudio no se presentan los datos de producción posteriores a la mura, existen suficientes antecedentes de que pérdidas de peso vivo no superiores al 20% dan lugar a producciones posmudas comparables a las obtenidas en gallinas que perdieron hasta un 30-35% de peso corporal durante la muda, y con menor mortalidad que

estas últimas. Petek y Alpay (*op. cit.*), indujeron la muda con cebada o con harina de alfalfa, alcanzando pérdidas de peso del 19,4 y 17,54%, respectivamente.

Conclusiones

Alimentos simples, como el salvado y la cebada, con niveles deficitarios de energía o de proteína, constituyen alternativas válidas para la inducción de la muda, logrando rápidas interrupciones de la puesta y un tiempo de reposo suficiente.

No es necesario alcanzar altos porcentajes de pérdida de peso vivo para conseguir la interrupción de la producción y un tiempo de reposo suficiente, lo que redunda en un mejor bienestar del animal, lo que supone un factor a tener en cuenta dada la sensibilización social actual con respecto a esta cuestión.

El suministro restringido de pienso como método de inducción de muda, aplicado a nivel comercial, podría plantear ciertas dificultades de índole práctica en su distribución por medios mecánicos, por la dificultad en conseguir un ajuste preciso de la cantidad a distribuir.

También es preciso asegurarse que, de utilizarse alimentos simples como los de este ensayo, no presentan problemas de fluidez de tránsito en los silos y/o en los sistemas mecánicos de distribución de alimento.

El suministro *ad libitum* de alimentos simples o de piensos con bajo nivel de energía y/o proteína, mediante la incorporación a los mismos de ingredientes fibrosos, se muestra como la alternativa más razonable para la inducción de la muda.

Agradecimientos

A Francisco Javier Pérez y a David García Peral, por su inestimable ayuda en la toma de datos, pesaje de las gallinas y del pienso, y clasificación de huevos.

Referencias

1. AOAC. 2000. Association of Oficial Analytical Chemistis. Official Methods of Analysis (17th edition), Washington, DC, USA.
2. Aygun, A., y R. Yetisir. 2010. The relationships among egg quality characteristics of different hybrid layers to forced molting programs with a without feed withdrawal. J. Anim. Veter. Adv. 9:710-715.
3. Bell, D. 2003. Historical and current molting practices in the U.S. table egg industry. Poult. Sci. 82(5):965-970.
4. Berry, W., y J. Brake. 1985. Comparison of parameters associated with moult induced by fasting, zinc, and low dietary sodium in caged layers. Poult. Sci. 64:2027-2037.
5. Brake, J., y P. Thaxton. 1979. Physiological changes in caged layers during a forced moulting. 2. Gross changes in organs. Poult. Sci. 58:707-716.
6. De Souza, K.M.R., A.S. Carrijo, I.B. Allaman, V.B. Fascina, J.R.C. Mauad, y F.M. Suzuki. 2010. Alternative methods of feed restriction in the forced molt of laying hens. Brazilian J. Anim. Sci. 39:356-362.
7. FEDNA. 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3ª ed.). J.C. De Blas, G. G. Mateos, P. G. Rebollar (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España.
8. Hurwitz, S., E. Wax, Y. Nisenabaum, M. Ben-Moshe, y I. Plavnik. 1998. The response of laying hens to induced molt as affected by strain and age. Poult. Sci. 77:22-31.

9. Koelkebeck, K.W., C.M. Parsons, P. Biggs, y P. Utterback. 2006. Nonwithdrawal molting programs. J. Appl. Poult. Res. 15:483-491.
10. Kuenzel, W.J., R.F. Wideman, M. Chapman, C. Golden, y D.M. Hooge. 2005. A practical method for induced molting of caged layers that combines full access to feed and water, dietary thyroactive protein, and short day length. World's Poult. Sci. J. 61(4):599-624.
11. Landers, K.L., Z.R. Howard, C.L. Woodward, S.G. Birkhold, y S.C. Ricke. 2005. Potential of alfalfa as alternative molt induction diet for laying hens: egg quality and consumer acceptability. Biores Lee, K. 1982. Effects of forced moltperiod on postmolt performance of Leghorn hens. Poult. Sci. 61:1594-1598ource Technol. 96:907-911.
12. Mertens, D.R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. Journal Asociation Oficial Analytical Chemistis. 85: 1217-1240.
13. Mansoori, B., M. Modirsanei, M. Fharkoy, M.M. Kiaei, y J. Hornazard. 2007. The influence of different single dietary sources on moult induction in laying hens. J. Sci. Food Agricult. 87:2555-2559.
14. Novak, C., y P. Ruszler. 2007. The effect on postmolt performance of different crude protein and energy level during a full-fed molt procedure. J. Appl. Poult. Res. 16:262-274.
15. Onbasilar, E.E., y H. Erol. 2007. Effects of different forced molting methods on postmolt production, corticosterone level, and immune response to sheep red blood cells in laying hens. J. Appl. Poult. Res. 16:529-536.
16. Ovejero, I. 1991. Evolución de las principales variables productivas y la calidad física del huevo de gallinas ligeras y semipesadas sometidas a mudas forzadas consecutivas con óxido de zinc. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
17. Ruszler P.L. 1998. Health and Husbandry Considerations of Induced Molting. Poultry Science. Poult. Sci. 77:1789-1793.
18. Webster, A.B. 2003. Physiology and behavior of the hen during induced molt. Poult. Sci. 82:992-1002.
19. Yousaf, M. y A. S. Chaudry. 2008. History, changing scenarios and future strategies to induce moulting in laying hens. World's Poult. Sci. 64:65-75.

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

USE OF FIREFIGHTING FOAM FOR MASS DEPOPULATION AND IMPROVED CLEANING AND DISINFECTION OF POULTRY PREMISES

M. Farnell[1]*, J. Byrd[2], J. Hoffman[1], M. Ross[1], K. Stringfellow[1], D. Abi-Ghanem[1], L. Berghman[1], J. Lee1, D. Caldwell[1]

[1]Department of Poultry Science; Texas AgriLife Research and Extension; College Station, TX, USA

[2]USDA - Agricultural Research Service; College Station, TX, USA

Introduction

- The poultry industry is concerned about the spread of reportable diseases
  - Avian Influenza H5N2 –
    - Pennsylvania 1983 – 17 Million Birds infected, $63 million – cost to eradicate (Panigrahy et al.,2002)
  - Avian Influenza H7N2 –
    - Virginia 2002 – 5 million birds
    - $149 million – (Capua and Alexander, 2004)

Exotic Newcastle Disease outbreak

- California 2003
- 4,000,000 birds slaughtered
- It took 40 days to depopulate one layer facility
- Cost $160-170 million to eradicate
- Approximately 1,500 people

(Personal communication with Dr. Dee Ellis of the Texas Animal Health Commission)

Statement of the Problem

- Study 1 - How do you rapidly and humanely depopulate a caged layer farm with 3-5 million birds on site?
- Study 2 - How do you rapidly clean and disinfect poultry barns and equipment contaminated with a reportable pathogen?

Study 1 – Layer Euthanasia

(Rowe Industries)

Broiler Depopulation

High Expansion Generator

Nozzle Aspirated Foam

Broiler Depopulation

Hypothesis

A compressed air foam system (CAFS) can be used to humanely euthanize caged layers similar to the foams used for broiler and turkey depopulation.

Objectives

1. Analyze corticosterone levels comparing CO_2 to foam
2. Visually inspect respiratory tract for trauma or foam presence
3. Analyze time of death using accelerometers for comparison between CO_2 and foam

Experimental Animals

- Lohmann LSL spent hens
  - 76 – 95 weeks old
- Lohmann LSL pullets
  - 20 – 21 weeks old
- Birds were housed at the TAMU Poultry Science Research Center under simulated industry conditions
- Care was provided in accordance to an approved TAMU Institutional Animal Care and Use Committee protocol

Materials and Methods

- Corticosterone, a steroid hormone involved in regulation of stress responses in chickens, was measured by competitive ELISA (Enzo Life Sciences)
- Cessation of movement was determined by using an acceleration data logger
  - HOBO ® Pendant G Data Logger (Contoocook, NH)

Accelerometer

- During post-mortem examination, the trachea was evaluated for the following:
  - Signs of hemorrhaging or other trauma
  - Signs of drowning (Presence of foam)

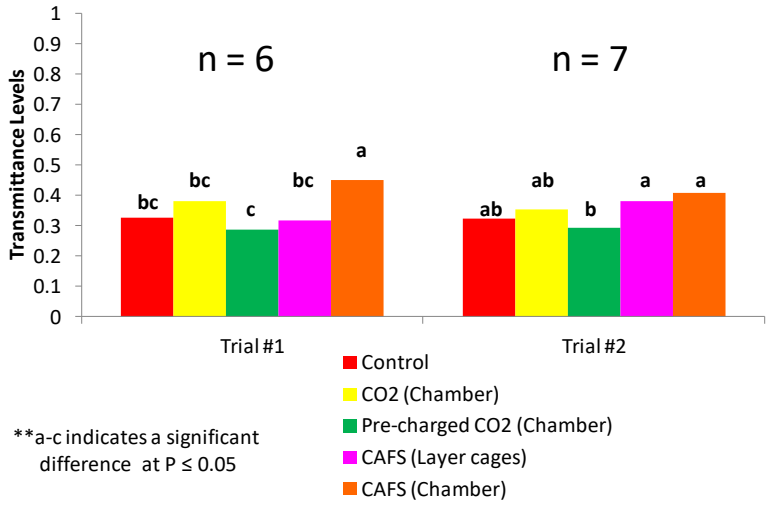
Statistical Analysis

- Data in all experiments were analyzed via a one-way analysis of variance using the general linear model procedure (SPSS software, Version 18)
- Differences were deemed significant at P≤ 0.05 and means were separated using a Duncan's multiple range test

Corticosterone Treatment Groups

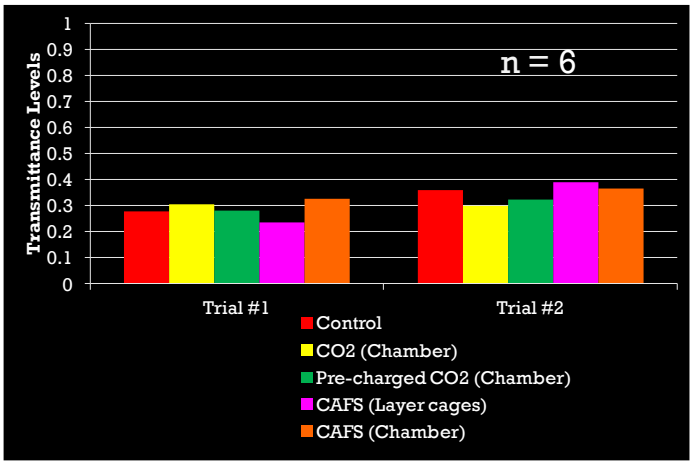
1. Control (Normal handling)
2. CO_2 (Chamber)
3. CO_2 pre-charged (Chamber)
4. CAFS (Layer cages)
5. CAFS (Chamber)

Spent Hen Corticosterone Levels



**a-c indicates a significant difference at P ≤ 0.05

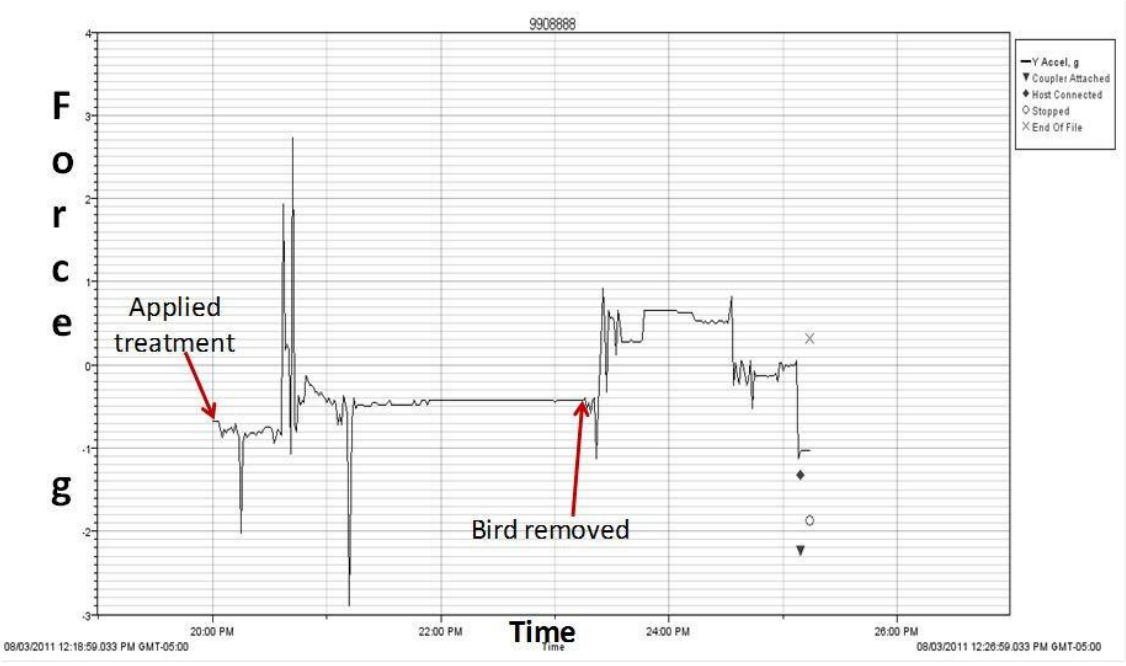
Pullet Corticosterone Levels

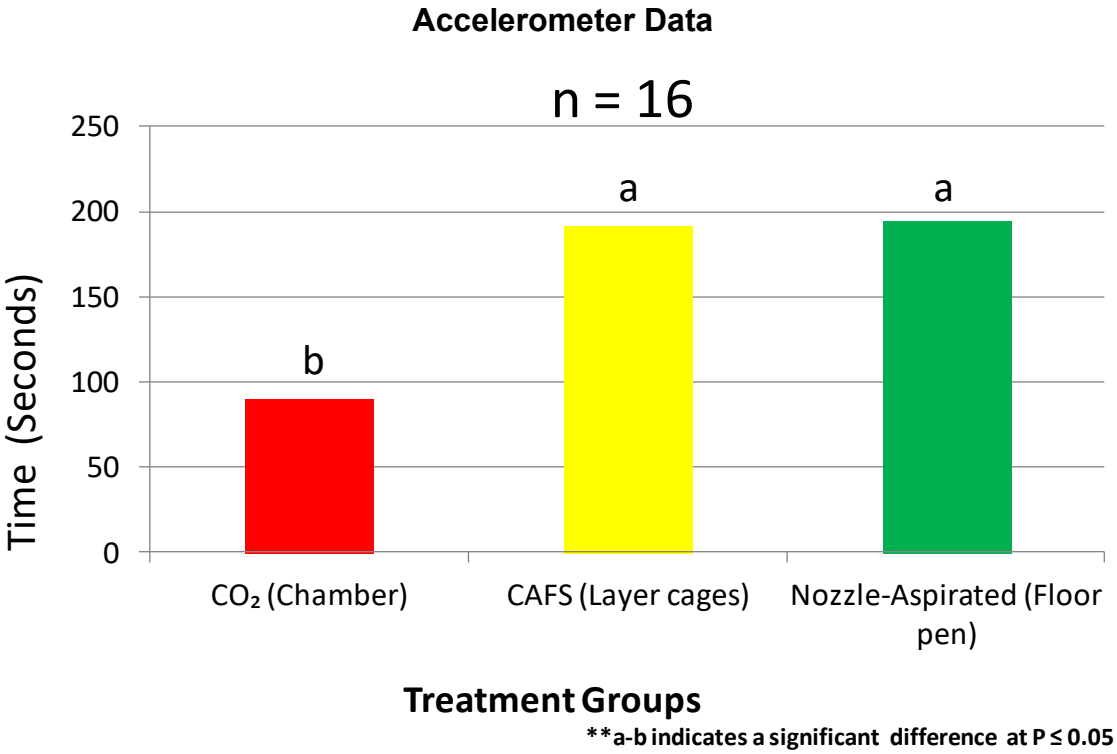


Respiratory Tract Evaluation

Treatments	Hemorrhaging	Foam *First 5cm	
		*Upper Trachea	Lower Trachea
Control	0/25	-	-
CO_2 (Chamber)	0/25	-	-
Pre-charged CO_2 (Chamber)	0/25	-	-
CAFS (Layer cages)	0/25	25/25	0/25
CAFS (Chamber)	0/25	25/25	0/25

Accelerometer





Results - Corticosterone

- Spent Hens - Corticosterone levels were similar to controls, with the exception of the CAFS chamber treatment which was higher ($P \leq 0.05$) in Trial # 1 only.
- Pullets - Corticosterone levels were similar when compared to the controls.

Results - Accelerometer

- The cessation time for the foam treatment groups were significantly higher than the CO_2 group.
- Possible reasons for differences
  - Extra time required for foam application in the cages (CAFS) and floor pen (aspirated).
  - CO_2 chamber may not have been a good representation of the CO_2 poly tent method

Summary

These data demonstrate that CAFS may be a suitable alternative to the CO_2 poly tent method for humanely depopulating caged layers during a reportable disease outbreak.

Study 2 – Foam Cleaning and Disinfection

- Compressed Air Foam System (CAFS)
- CAFS produces high velocity foam
- Mechanical cleaning observed
- Applies in seconds
- Rapidly coats a large surface area
- Disinfectant contact time increased

Hypothesis: Commercially available foaming agents can be used to rapidly clean and disinfect surfaces commonly found on poultry farms.

Objective: To determine the best combination of products to reduce *Salmonella* Typhimurium on galvanized metal and rubber.

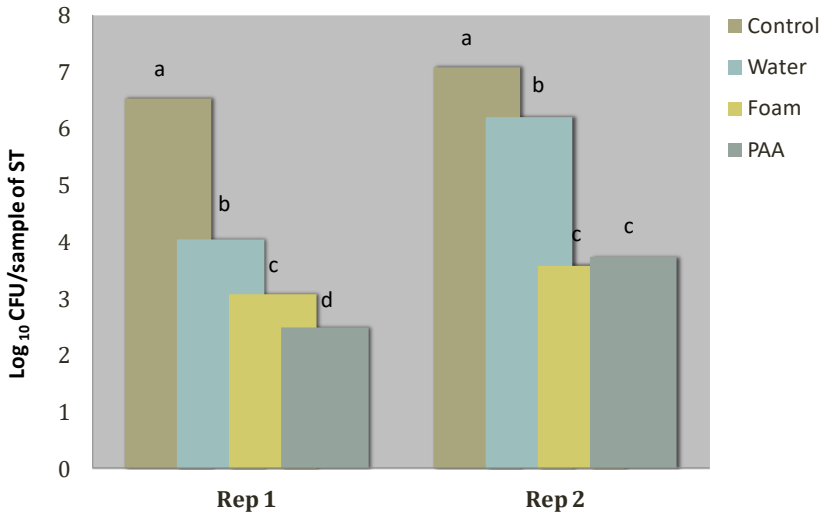
Treatment Groups

- Positive control
- Water alone
- Foam additive alone
  - 1.28 oz/1 gal - Perafoam®, Rochester Midland
- Alkaline/chlorine based cleaner
  - 4 oz/1 gal - Chlor-a-foam XL® , DuPont
- Peracetic acid (PAA)
  - 4 oz/1 gal - Enviroguard Sanitizer®, Rochester Midland
- Quaternary ammonium compound (QAC)
  - 0.4 oz/1 gal - PI Quat 20®, Preserve International
- QAC/glutaraldehyde blend
  - 0.4 oz/1 gal - Synergize®, Preserve International
- Potassium peroxomonosulfate – PPS
  - 1.28 g/1 gal - Virkon® S, DuPont

Statistical Analysis

- Each parameter in the trial were compared by analysis of variance using general linear model procedures of SAS (Version 9.3)
- All data means were deemed significantly different at $P \leq 0.05$

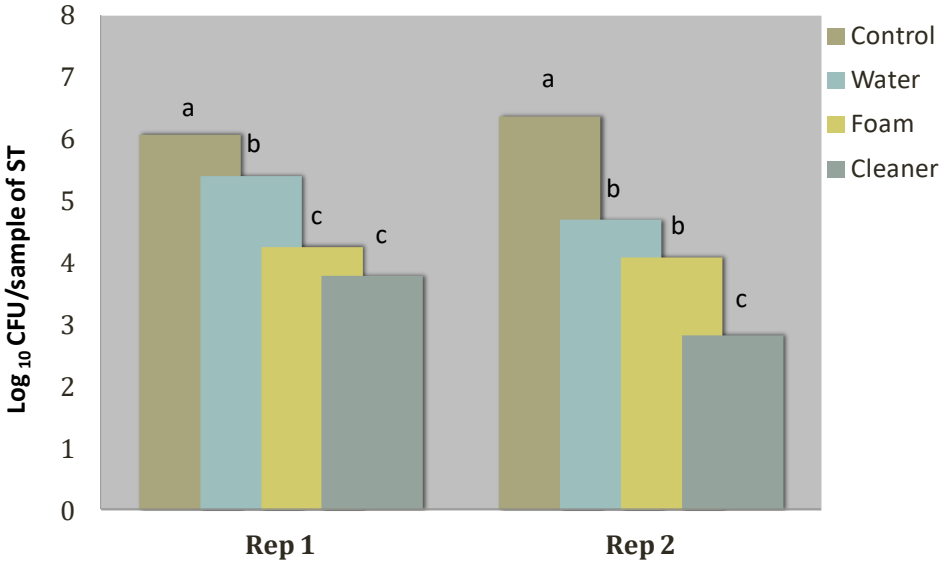
Peracetic Acid on Galvanized Steel*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

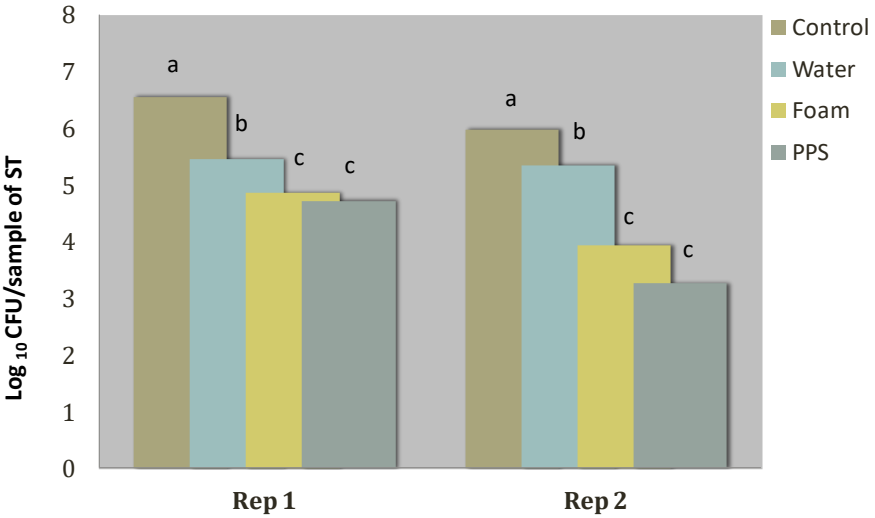
(a–d) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

Cleaner on Galvanized Steel



(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

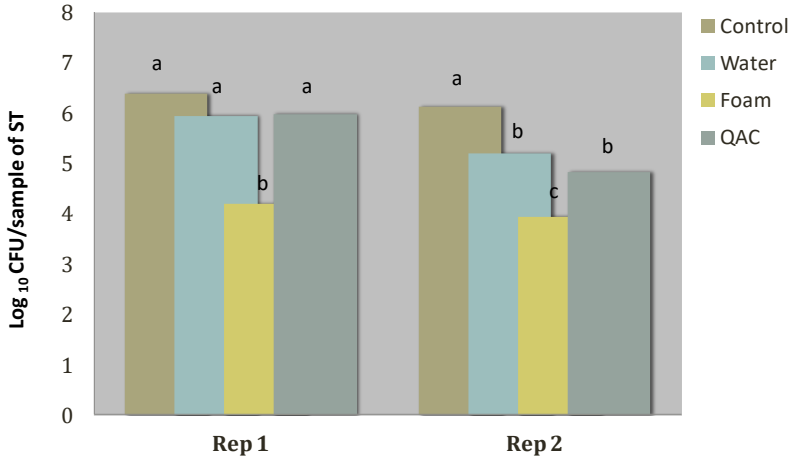
Potassium Peroxomonosulfate on Galvanized Steel*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

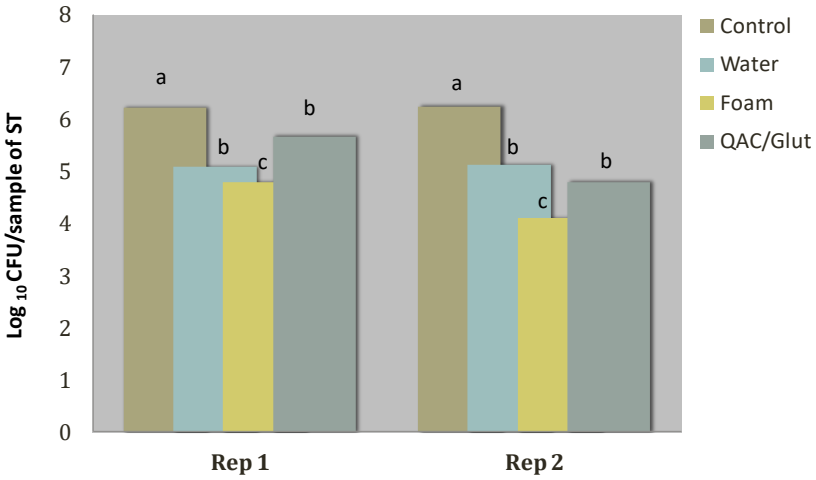
Quaternary Ammonium Compound on Galvanized Steel*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

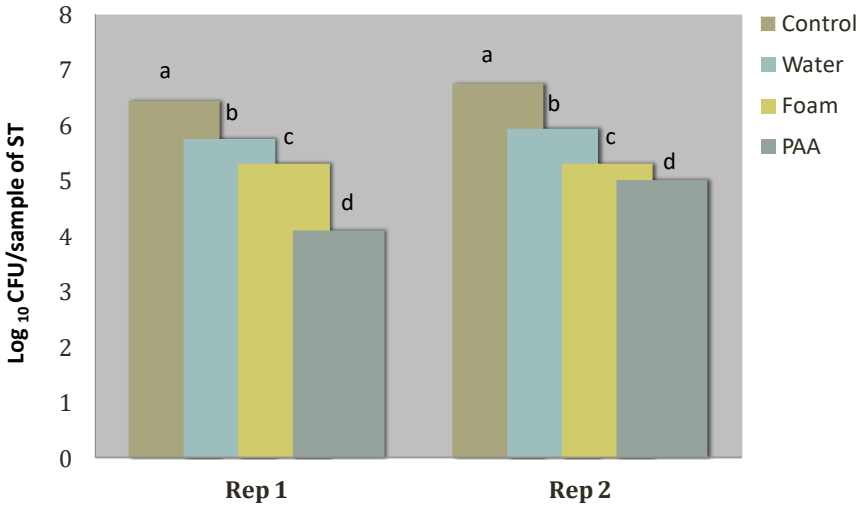
QAC/Glutaraldehyde on Galvanized Steel*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

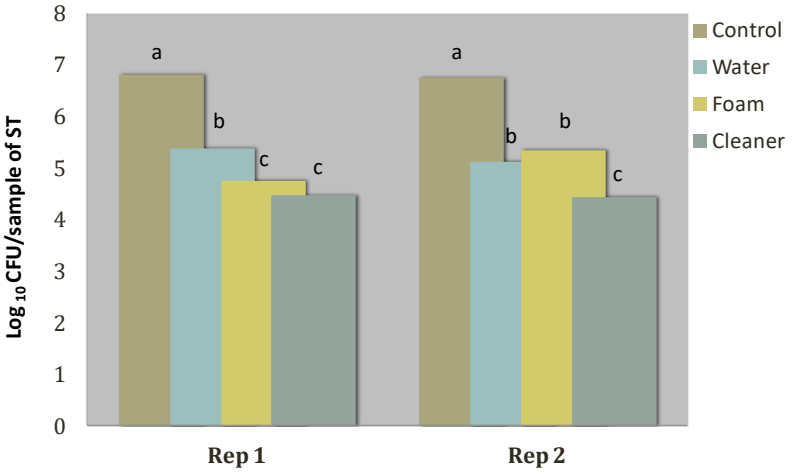
Peracetic Acid on Rubber*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

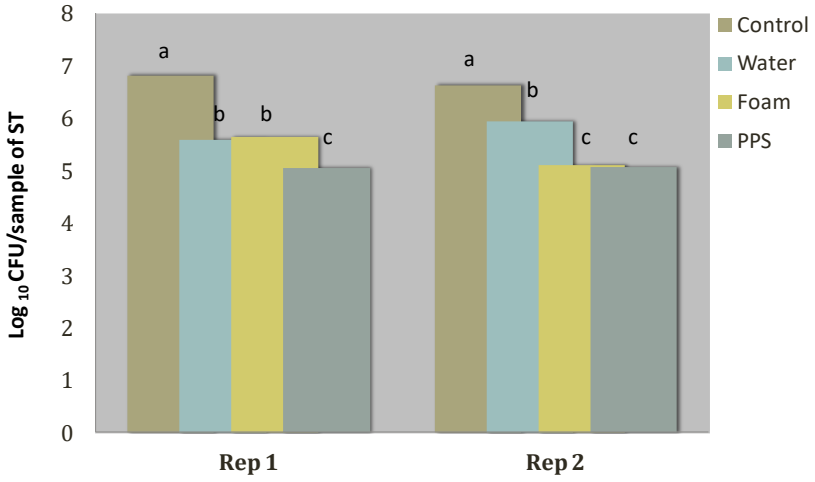
(a–d) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

Cleaner on Rubber



(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

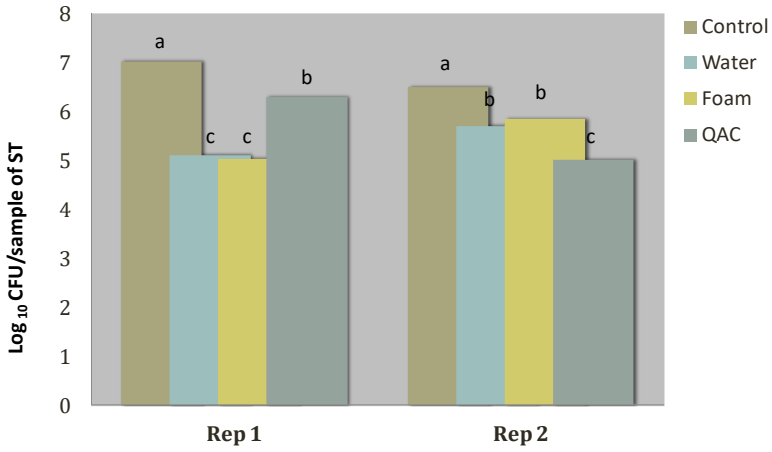
Potassium Peroxomonosulfate on Rubber*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

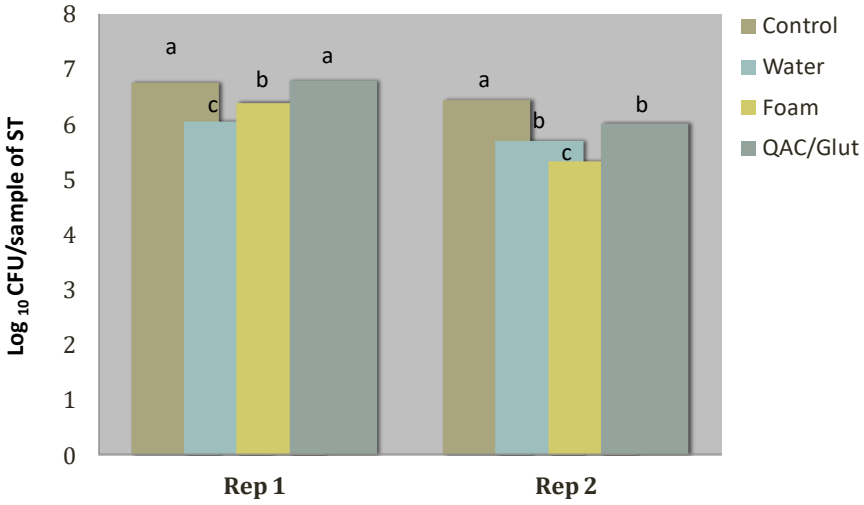
Quaternary Ammonium Compound on Rubber*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

QAC/Glutaraldehyde on Rubber*



* Indicates 1 % foam concentrate admix

(a–c) Indicates significant difference at $P \leq 0.05$

Summary

- Water and foam significantly reduced pathogens, probably by washing instead of killing
- Our foam additive seemed to be incompatible with the QAC and QAC/Glutaraldehyde products
- The PAA and cleaner were our best treatments against ST on rubber and galvanized steel

Conclusion

- Compressed air foam may be used to humanely depopulate layer chickens in cages, when compared to conventional methods
- Compressed air foam may be used to effectively reduce the microbial load within a poultry rearing environment

Future Work

- Foam Euthanasia
    - Create a carbon dioxide infused foam
- Foam Disinfection
    - Evaluate the technique on transport coops

Regresar a lista de contenidos

(Nota del editor: texto extraido de la presentación en diapositivas, por lo que no se tienen las ideas completas, ni la secuencia en la redacción. Agradecemos la compresión al respecto)

ENZYMES IN POULTRY NUTRITION CHALLENGES TO OPTIMIZING THEIR EFFECTIVENESS

Roselina Angel
Associate Professor, Poultry Nutrition, Department of Animal Sciences, University of Maryland

Areas to be Covered

- Enzymes
- Maximizing the efficacy of phytases – what are the challenges
  - Negative impacts of Ca
  - Effect of P source and strain on phytase efficacy
- Use of phytase with xylanases

Commercial Feed Enzymes and Substrates

Enzyme	*Action*	*Target*
Amylases	Degrade cereal starch to dextrins and sugars	High starch cereal diets
ß-glucanases	Degrades ß-glucans to oligosaccharides and glucose	Barley, oats and rye
Cellulases	Cellulose to low molecular weight products and glucose	High fiber ingredients containing high proportion of cellulose
Xylanases (pentosans)	Arinoxylans to low molecular weight products and sugars	Rye, barley and wheat
α-galactosidase	Degrades oligosaccharides	Soybean meal and other legumes
Phytases	Increases availability of P from phytic acid	Various vegetable sources
Proteases	Protein to peptides and amino acids	Proteins
Lipases	Fats to fatty acids	Animal and vegetable fats

Adapted from Thorpe and Beal, 2001

History of Enzyme Use

1980s -Beta-glucanases
-Arabinoxilanasa
-Fungal Phytases
-Arabinoxylanases (corn). Other enzymes (amylase, protease, pectinase, mannanase, lipase, galactosidase)
-Bacterial Phytases

Present -Phytases & Carbohydrases combinations (proteases)

Questions to ask when using enzymes

- What does the enzyme do? Relatively well described but ...
- What matrix to use?
  - Is the effect affect by diet nutrients?
  - Is the effect different for different ingredients?

What do Enzymes do?

- Modify substrate
  - Remove orthophosphate from myo-inositol phoshate esters
  - Reduce molecular weight of complex polymers
- Alter digestive environment
  - Alter viscosity and thus alter diffusion
  - Change microbial profiles-Limited information
  - Alter perception of the feed matrix by the animal
  - Alter secretory and absorptive response
- Improve digestibility and alter nutrient requirement

Issues to Consider

Issues that must be kept in mind when applying phytase commercially (or any enzyme)

- Amount of substrate
- Chemical composition, reactivity, and complexes in the ingredient and in digesta
- Where in the seed it is and is it protected by other compounds in the seed
- type of phytase (enzyme)
- the pH optima of the phytase
- Where does the phytase (enzyme) work
- How does the enzyme interact with other enzymes

Use of Enzymes

- Enzymes credited with an artificial nutrient matrix to allow for easy accommodation in least cost formulation
- **Note enzymes do NOT add nutrients, only alter digestibility**

Example of changing diets with the use of phytases

- 1000 FTU/kg of phytase
- Nutrient release suggested by supplier: 0.17% av.P & Ca

	Without phytase	With phytase	% change
Corn	55.8%	57.5%	+3.0
SBM48%	36.9%	36.7%	-0.05
Dicalcium P	1.9%	0.93%	-51.1
Limestone	0.9%	1.10%	+22.2
Total calcium	0.90%	0.73%	-19.0
Total phosphorus	0.72%	0.59%	-18.1
Digestible phosphorus	0.45%	0.45%	0.0

Issues to keep in mind

- Source of Ca and P changes markedly
  - Limestone increases by 22%
  - Dicalcium phosphate decreases by 51%
- Ca digestibility (availability from different ingredients)
- Impact of Ca on P availability and phytase efficacy

<u>Challenges to maximizing enzyme efficacy - phytases</u>

Questions that need to be asked of the company selling a phytase

- How were the efficacies determined – Ca, P (AA, energy?)
- What was the P source used for the response curve?
- What breed was used?
- What age?
- What Ca concentration was used?
- Other questions – pH optima, heat stability, pH stability, phytase from what organism

Importance of Calcium

To use Phytases well

- Ca Requirement
- Ca availability from diet/ingredients (total vs digestible)
- Impact of Ca on phytate availability
- Impact of Ca on phytase efficacy

Phytic Acid Chelations

- In vitro inhibitors of phytic acid hydrolysis by phytase (Maenz et al., 1999)
    - $Zn^{2}+>Fe^{2}+>Mn^{2}+ >Fe^{3}+>Ca^{2}+>Mg^{2}+$
    - As pH increases
        * Inhibiting amount of mineral on phytase decreases
        **Less mineral decreases phytase activity equally or more as pH

In a normal poultry diet

Ca is the most inhibitory mineral cation in diets (even though phytic acid has a low affinity for it)

- due to magnitude of concentration of Ca in the diet vs all other cations
- Zn highest affinity but at 100 to 140 ppm
- Cu at 15 to 30 ppm (or even 250 pmm) has a small impact
- Ca
    - starter diet at 1000 ppm

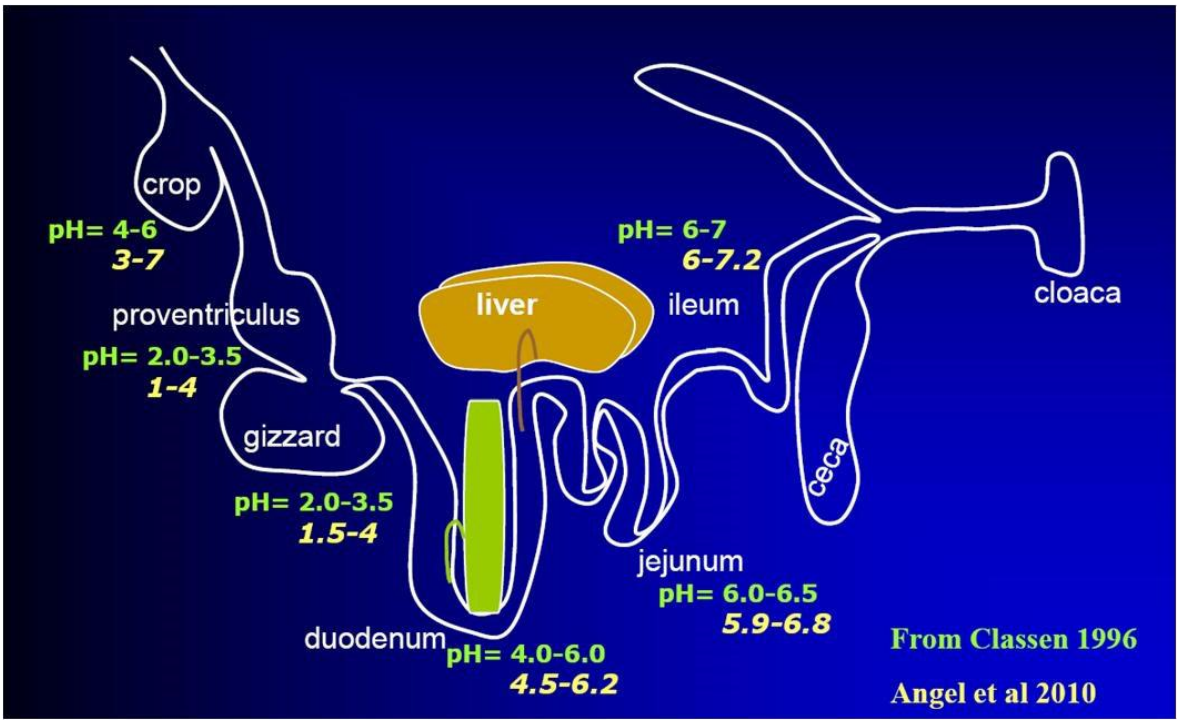
Why? It's a question of solubility

- This is where the animal and its gastrointestinal environment plays a role
- This is where what you feed is not what the animals' GIT sees for digestive purposes
- Think of digesta as an ever changing (chemical environment) target of for digestion

Importance of understanding gastrointestinal environment when deciding what enzymes to add to feed

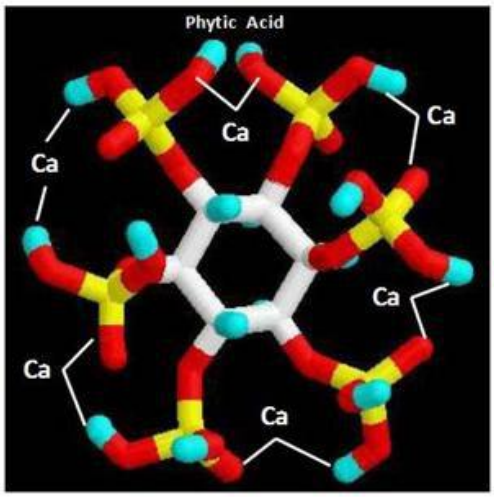
The phytate case

What to we know about gastrointestinal tract pH? And can we predict from that where is phytate will be soluble?

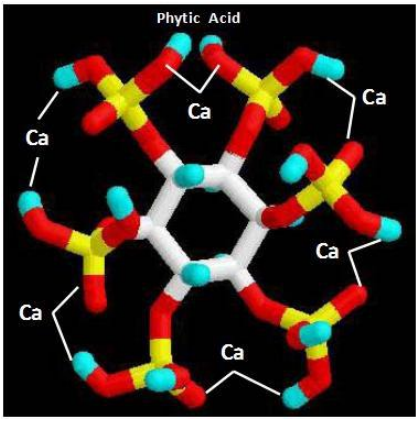


2 mmol Phytic Acid + 30 mmol Calcium
[Corn/SBM dietary phytic acid + 0.9% Calcium (2:1; H20:feed)]

pH = 2.5



2 mmol Phytic Acid + 30 mmol Calcium
[Corn/SBM dietary phytic acid + 0.9% Calcium (2:1; H20:feed)]



pH = 6.5

2 mmol Phytic Acid + 30 mmol Calcium
[Corn/SBM dietary phytic acid + 0.9% Calcium (2:1; H20:feed)]

pH = 2.5

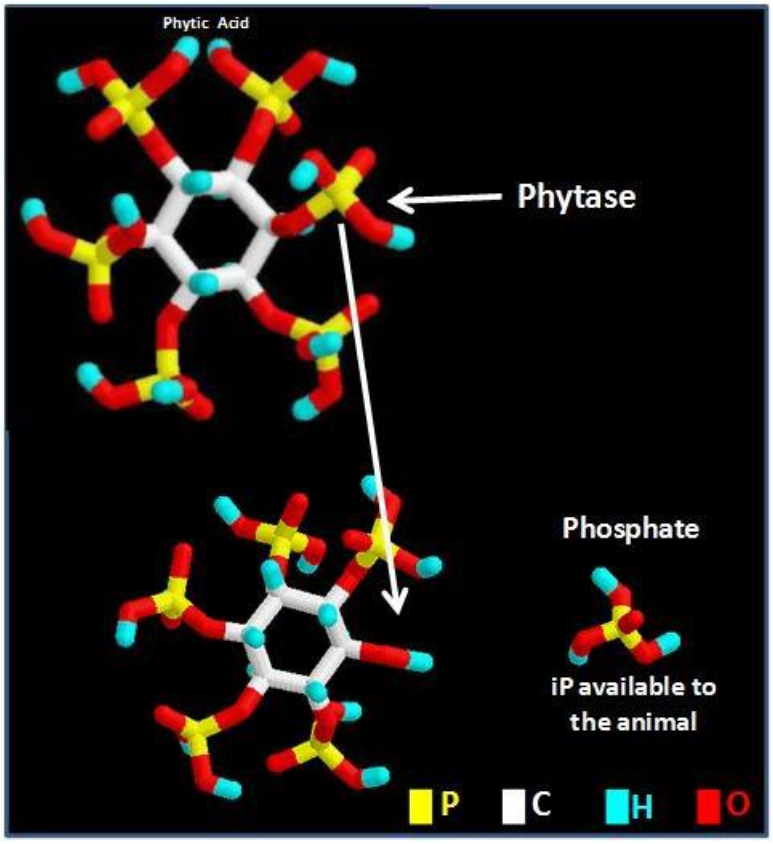
pH = 6.5

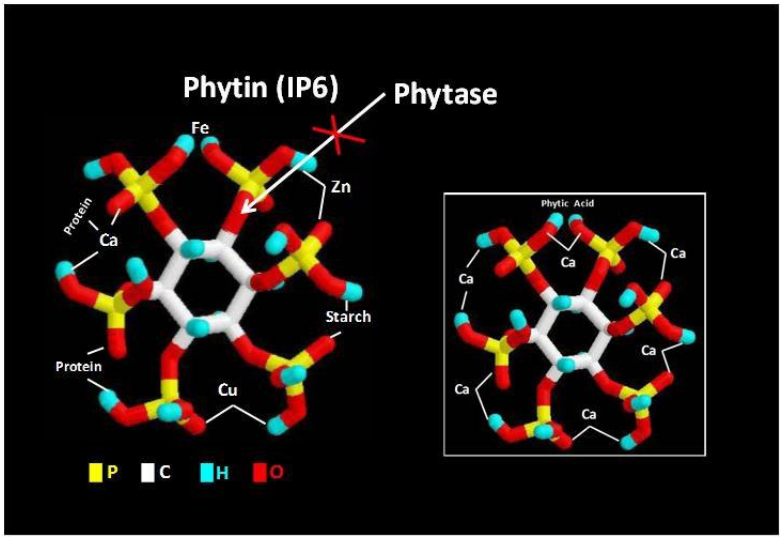
2 mmol Phytic Acid + 30 mmol Calcium
[Corn/SBM dietary phytic acid + 0.9% Calcium (2:1; H20:feed)]

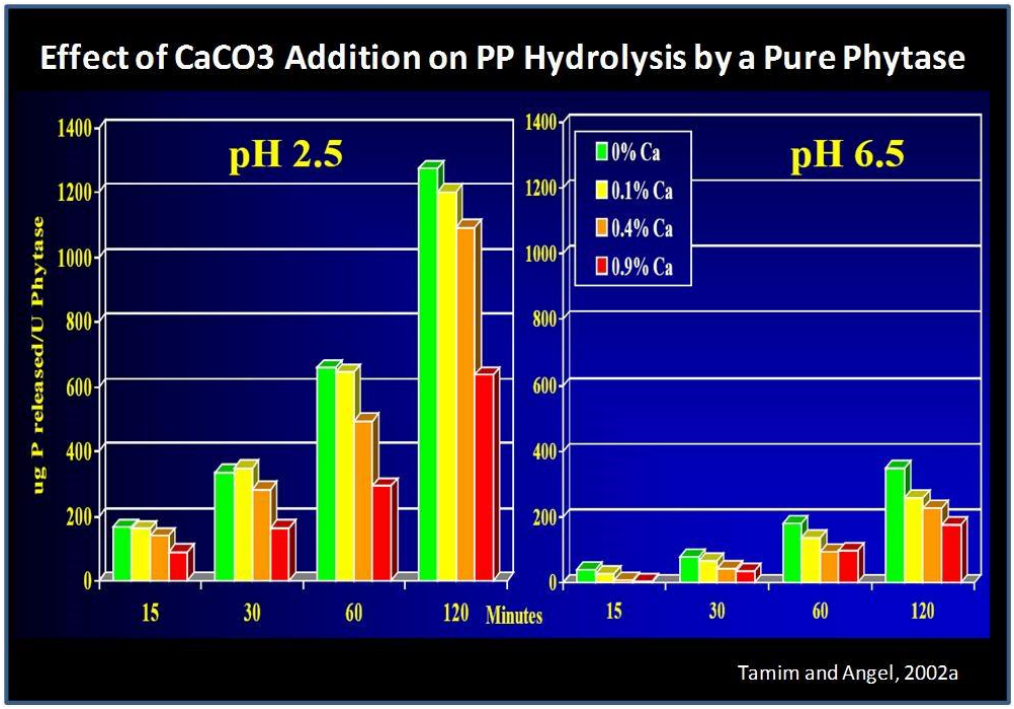
0 0 0 2.1 15.3 37.9 48.3 73.6 88.9 92.1 98.5

% of phytic acid P precipitated/pH

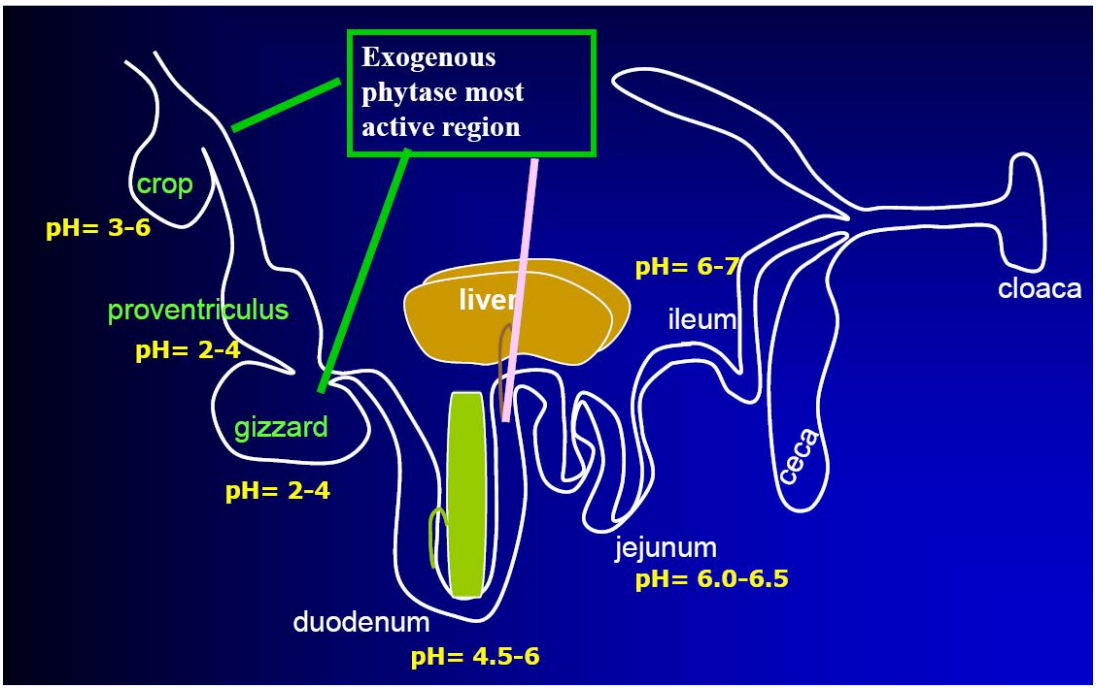
Angel *et al*, unpublished


Phytic Acid
Phytase
Phosphate
iP available to the animal
P
C
H
O

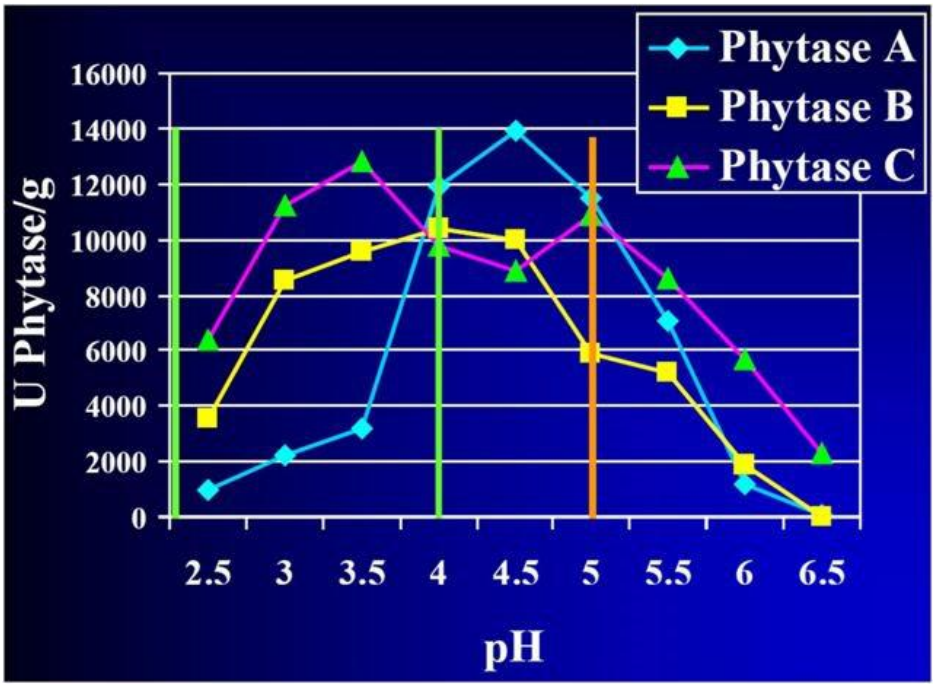

Phytin (IP6)
Phytase
Fe
Zn
Protein
Ca
Starch
Protein
Cu
P
C
H
O
Phytic Acid
Ca
Ca
Ca
Ca
Ca
Ca



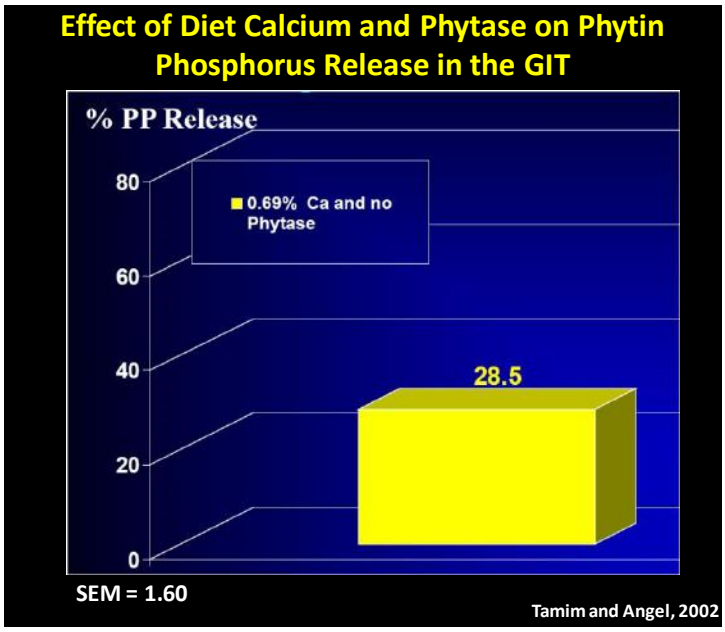
Where is phytate soluble?
Where are exogenous phytases active?

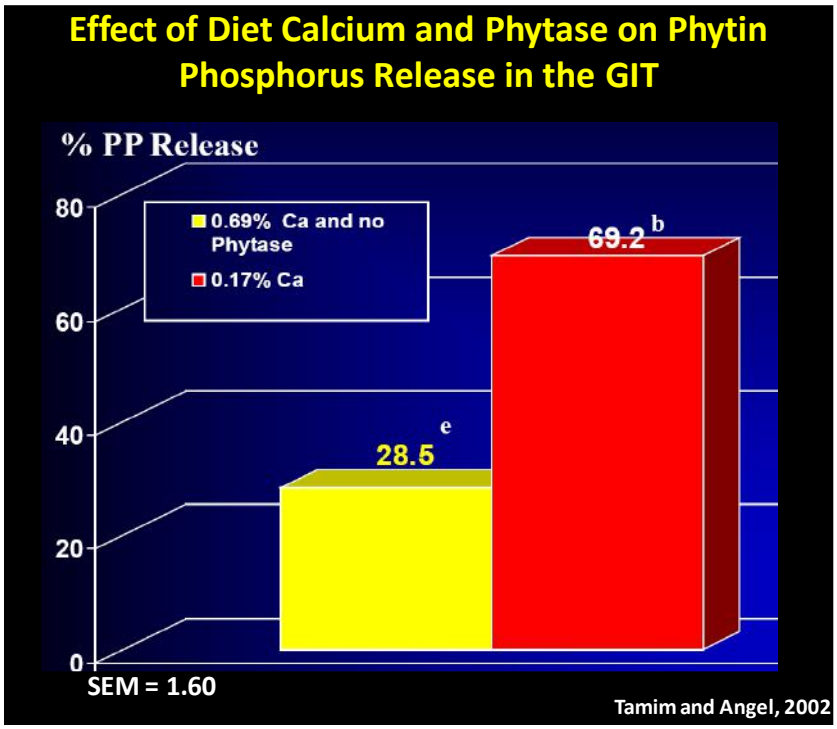


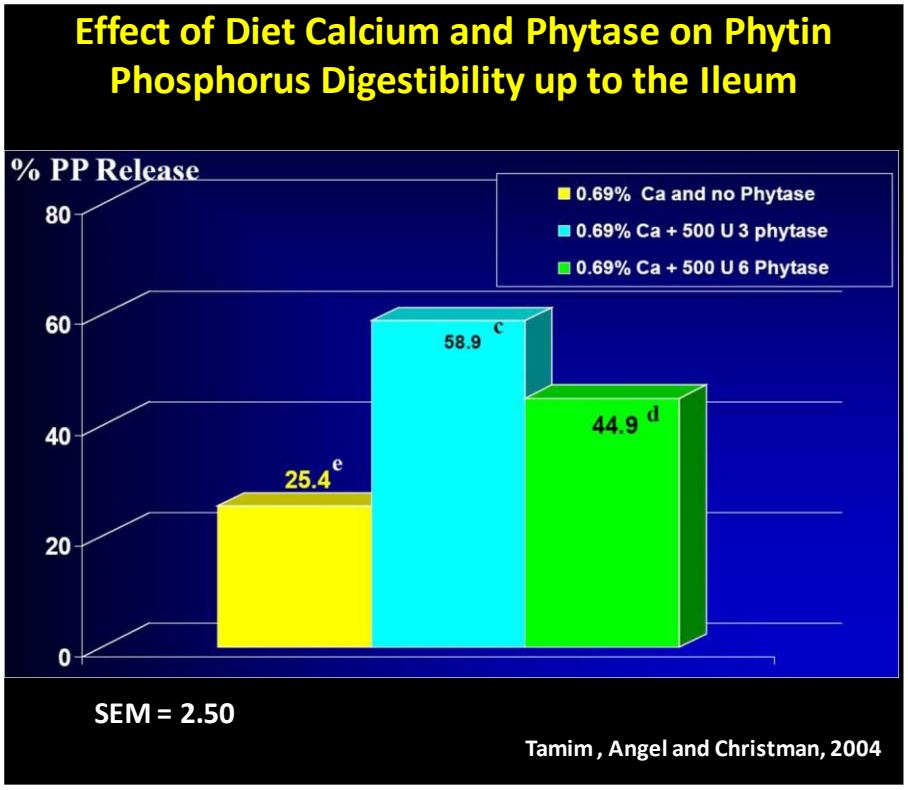
pH Optima of Phytases

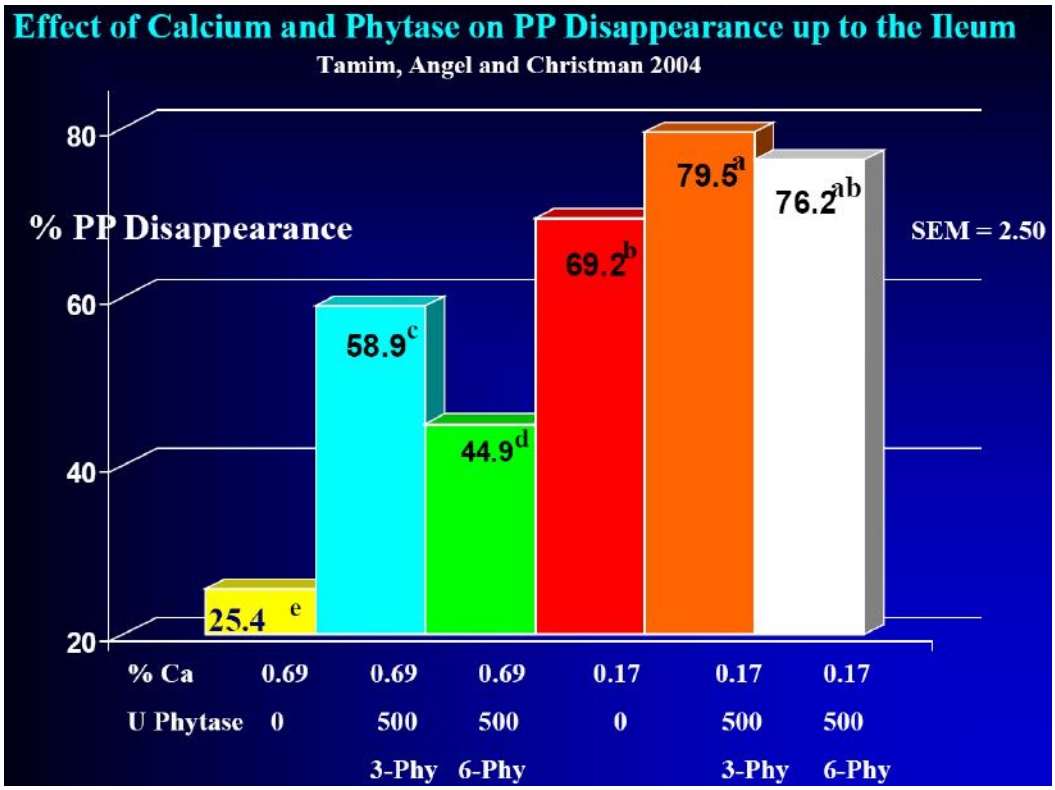


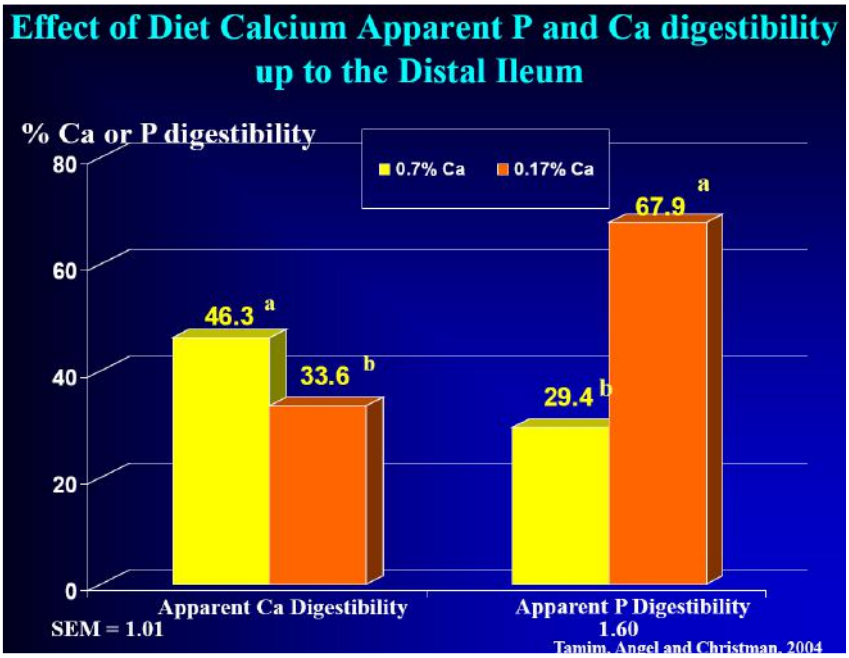
What do "phytin chelations" mean to the animal?

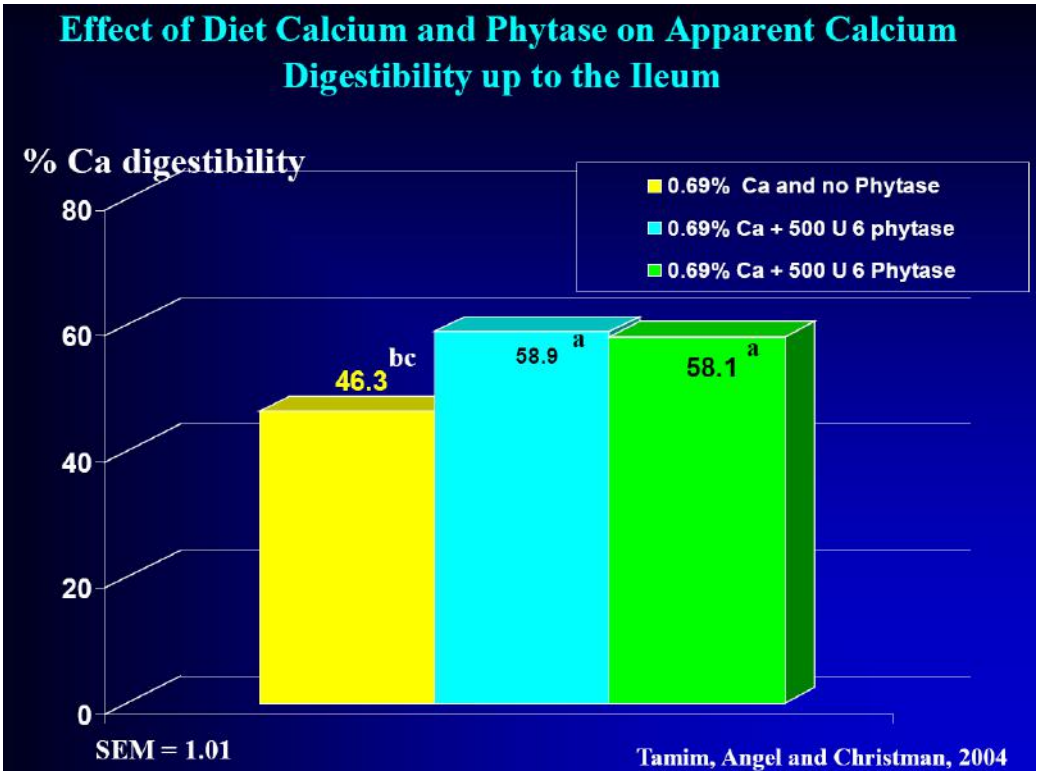



Effect of Diet Calcium and Phytase on Phytin Phosphorus Release in the GIT
% PP Release
80
60
40
20
0
0.69% Ca and no Phytase
0.17% Ca
69.2 b
28.5 e
SEM = 1.60
Tamim and Angel, 2002


Effect of Diet Calcium and Phytase on Phytin Phosphorus Digestibility up to the Ileum
% PP Release
80
60
40
20
0
0.69% Ca and no Phytase
0.69% Ca + 500 U 3 phytase
0.69% Ca + 500 U 6 Phytase
58.9 c
44.9 d
25.4 e
SEM = 2.50
Tamim , Angel and Christman, 2004


Effect of Calcium and Phytase on PP Disappearance up to the Ileum
Tamim, Angel and Christman 2004
% PP Disappearance
80
60
40
20
25.4 e
58.9 c
44.9 d
69.2 b
79.5 a
76.2 ab
SEM = 2.50
% Ca 0.69 0.69 0.69 0.17 0.17 0.17
U Phytase 0 500 500 0 500 500
3-Phy 6-Phy 3-Phy 6-Phy


Effect of Diet Calcium Apparent P and Ca digestibility up to the Distal Ileum
% Ca or P digestibility
0.7% Ca
0.17% Ca
80
60
40
20
0
46.3 a
33.6 b
29.4 b
67.9 a
Apparent Ca Digestibility
Apparent P Digestibility
SEM = 1.01
1.60
Tamim, Angel and Christman, 2004

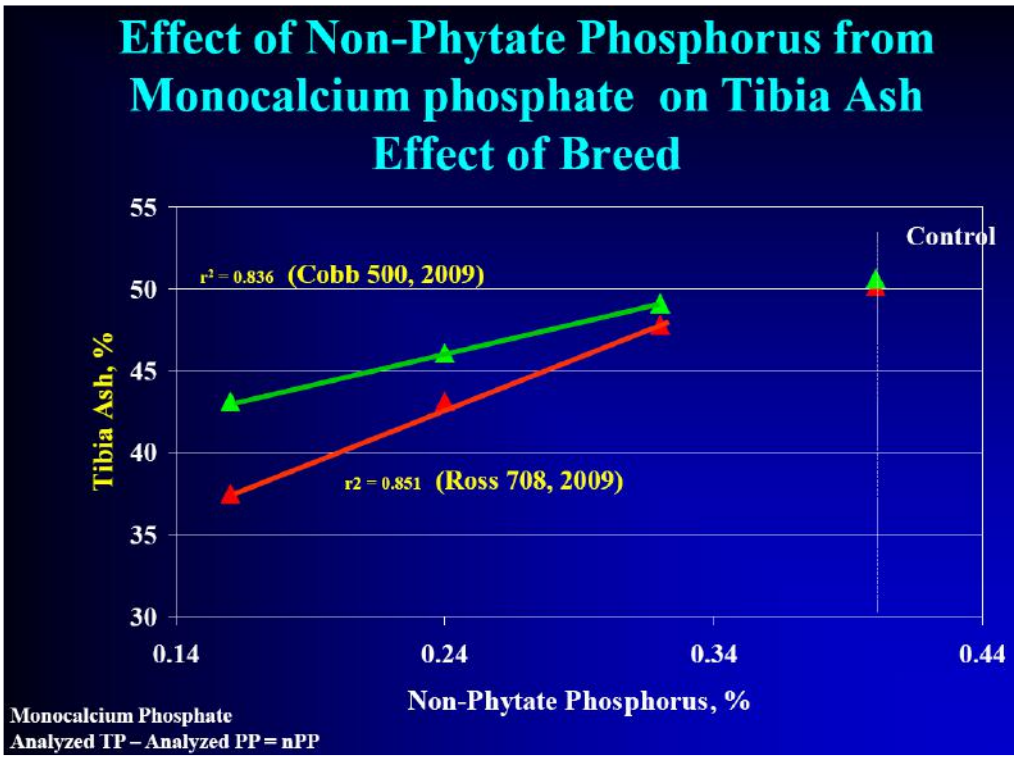


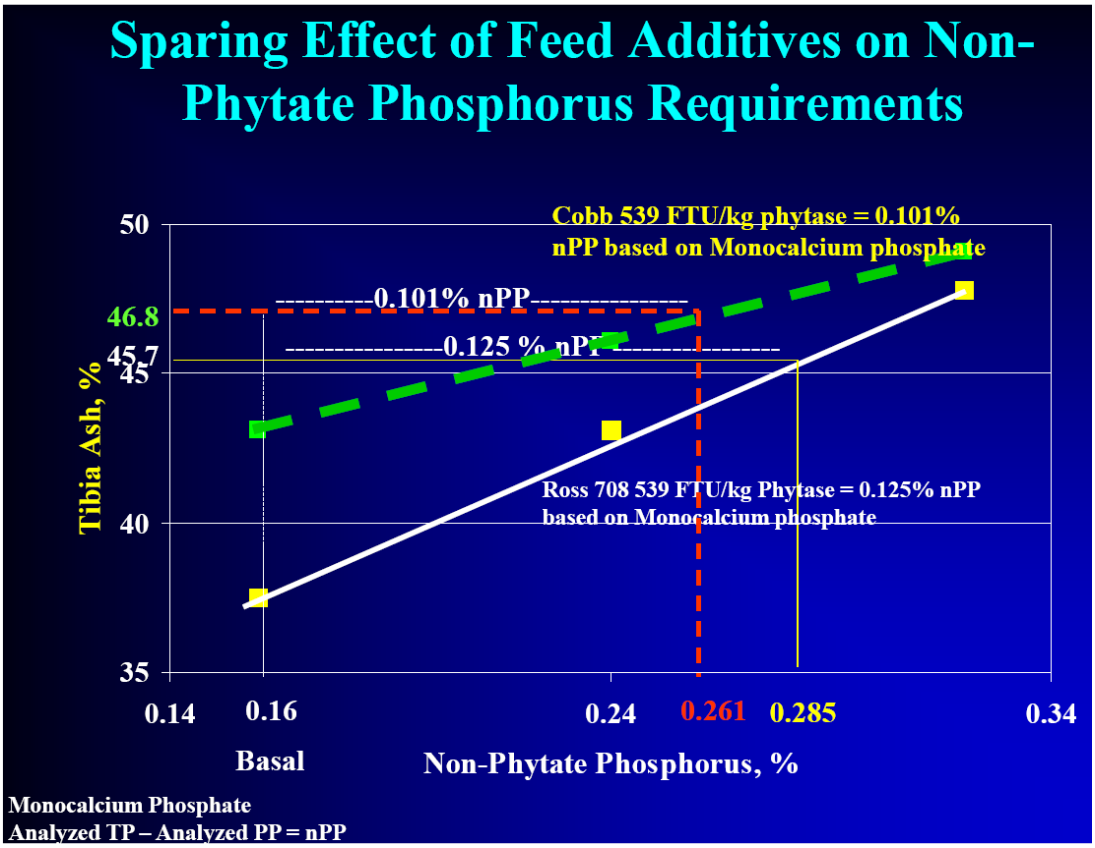
Importance of phosphorus source used to establish response curve

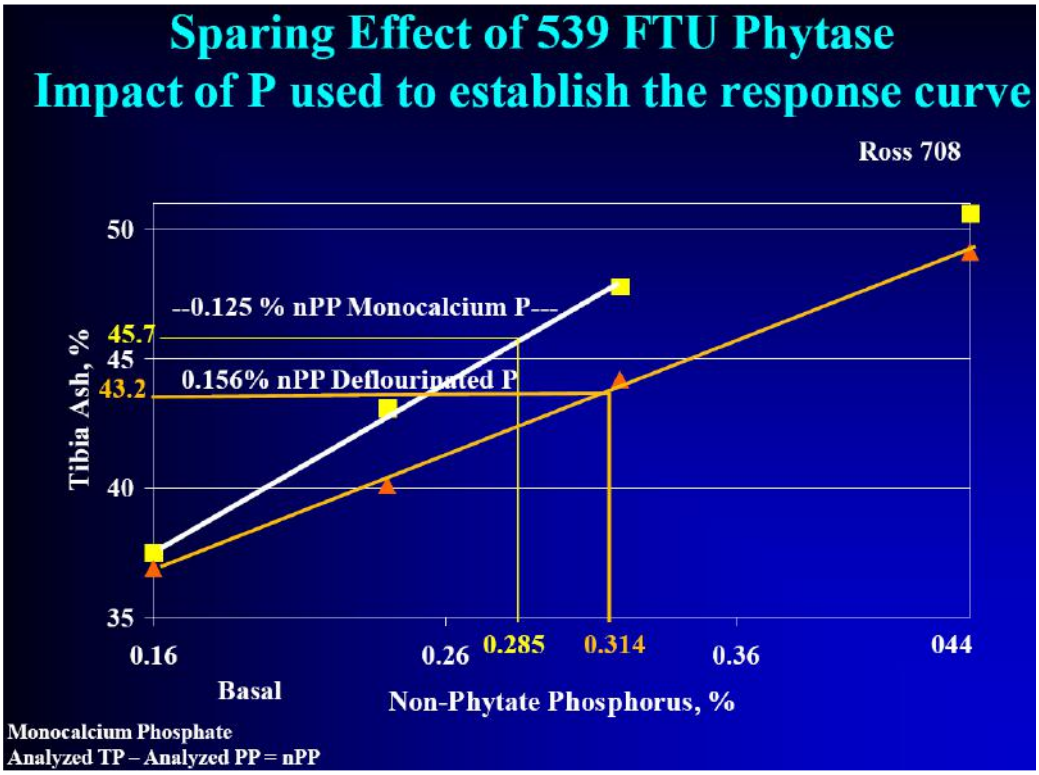
Methodology

- Establish a linear response curve (with monocalcium or deflourinated P as P sources)
  - Response of tibia ash to nPP
- Determine nPP sparing effect (efficacy) of phytases
- Different broiler strains
- From 14 to 24 d of age
- 20 pens/treatment (8 birds/pen)
- Basal Fml at 0.14 nPP and 0.50% Ca
- Corn- SBM diets
- Phytase added at 500 FTU analized at 539 FTU (6 phytase produced by genetically modified Aspergillus oryzae – genes from C. Braakii)

Angel et al 2009, unpublished


Effect of Non-Phytate Phosphorus from Monocalcium phosphate on Tibia Ash Effect of Breed
55
50
45
40
35
30
Tibia Ash, %
Control
r² = 0.836 (Cobb 500, 2009)
r2 = 0.851 (Ross 708, 2009)
0.14
0.24
0.34
0.44
Non-Phytate Phosphorus, %
Monocalcium Phosphate
Analyzed TP – Analyzed PP = nPP


Sparing Effect of Feed Additives on Non-Phytate Phosphorus Requirements
Cobb 539 FTU/kg phytase = 0.101% nPP based on Monocalcium phosphate
0.101% nPP
0.125 % nPP
46.8
45.7
50
45
40
35
Tibia Ash, %
Ross 708 539 FTU/kg Phytase = 0.125% nPP based on Monocalcium phosphate
0.14
0.16
0.24
0.261
0.285
0.34
Basal
Non-Phytate Phosphorus, %
Monocalcium Phosphate
Analyzed TP – Analyzed PP = nPP

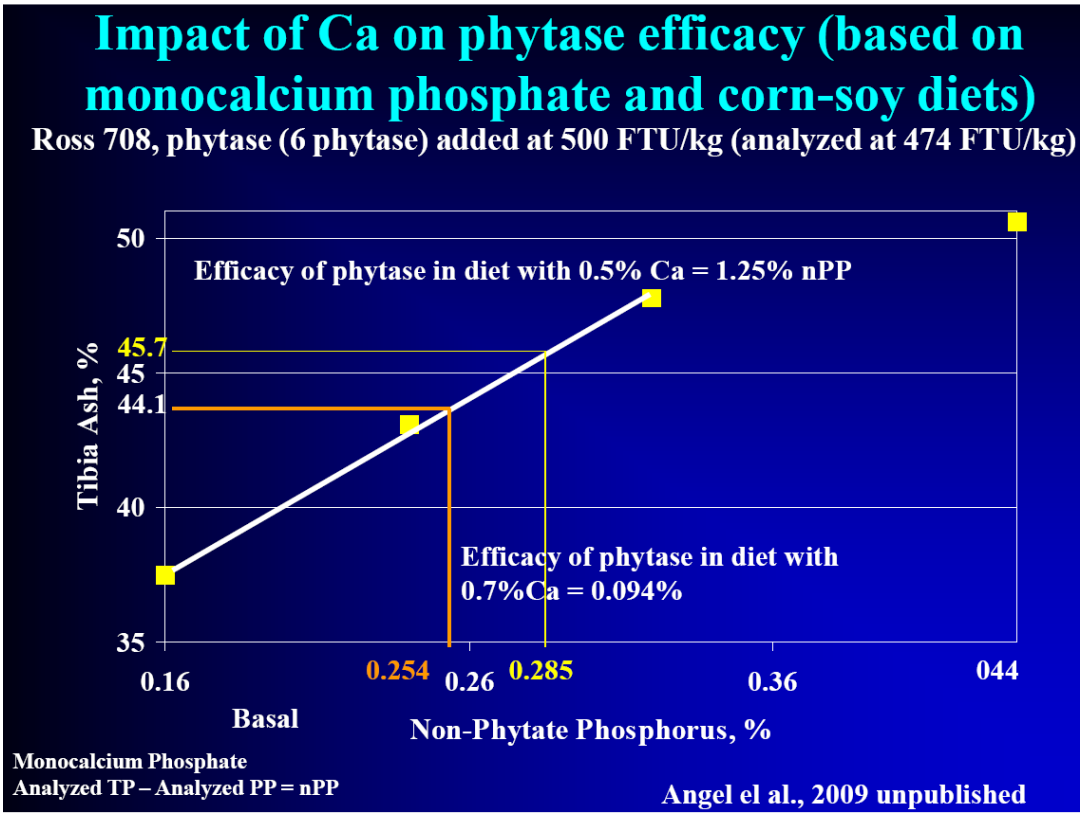


Impact of broiler strain and inorganic phosphorus source standard on 539 FTU phytase/kg diet – efficacy (% nPP)

	Monocalcium Phosphate	Deflourinated Phosphate
Ross 708	0.125[b]	0.156[a]
Cobb 500	0.101[c]	0.133[b]

SEM = 0.009

Impact of Calcium on Phytase Efficacy



Challenges to Maximizing Enzyme Efficacy - Phytases

- Case– a call came in requesting help with high incidence of bone problems (rickets, bowed legs, "uneasy gait") in 10 and 15 d of age birds
- In Eastern US in early 2011
  - Cost of Corn and SBM very high
  - Diets consisted of DDGS, poultry meat meal, bakery by-product meal, wheat (5%), corn 5-10%
- Diet contained 0.08% phytate P–
- Used phytase in the diet – formulation system - matrix gave a release of 0.13% P for the phytase

So What Went Wrong

- Starter diet – 1.0 kg (approx H to 17 d age)
- Fml 1% Ca, 0.45% nPP
- Used phytase in Fml based on matrix value (750 FTU/kg–0.15% Ca and 0.15% nPP)

	Ca, %	nPP,%	PP
Desired in diet	1.00	0.45	
Without phytase	0.85	0.30	
Expected from phytase	0.15	0.15	
Phytate in diet			0.08*
Max from phytase	0.064	0.064	
Actual in diet	0.91	0.36	

- Estimate that 80% of the phytate P will be made available by phytase – at best
- Estimate that the increased availability of Ca will parallel that of PP

Phytases alone or in combination

Effect of diet energy ingredient on impact of phytases, broilers

	AMEN MJ/kg	Nitrogen	Starch	P
		---% Apparent Ileal Digestibility---		
Maize	15.0^{b}	78	95	70
M+Phy	15.4^{a}	78	98	77
Wheat	13.9^{y}	77	91	60^{y}
W+Phy	14.2^{xy}	81	91	58^{y}
W+Phy+Xyl	14.9^{x}	82	93	70^{x}

(Wu et al., 2004)

I leave you with…..

- Understand the methodology used to generate information
- Efficacy of phytases based on what
  - Source of P
  - Strain
  - Ca concentration
- Excess Ca in the diet has huge negative effects (including increased excreta moisture!)
- Do not use phytases unless their use is tied (in the formulation system) to the substrate (phytate)

Regresar a lista de contenidos

www.aecacem.mx
aecacem@gmail.com