



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EFFECTO DE DOS INMUNOMODULADORES COMERCIALES SOBRE COMPONENTES DEL
SISTEMA INMUNE Y PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS EN POLLOS DE ENGORDE
DE UNA GRANJA EXPERIMENTAL DEL ECUADOR

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingenieras en Biotecnología

Profesora Guía
PhD Alina Aguirre Quevedo

Autoras
Nataly Carolina Mier Zambrano
Gisella Sofía Parra Arcos

Año
2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el (los) estudiante(s), orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

Alina Aguirre Quevedo
Doctora en Ciencias Biológicas
CI: 1756594600

DECLARACIÓN DE LOS ESTUDIANTES

Declaramos que este trabajo es original, de nuestra autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

Nataly Carolina Mier Zambrano

CI: 1714011580

Gisella Sofía Parra Arcos

CI: 1716268709

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros padres por el apoyo incondicional que nos han brindado a lo largo de nuestro desarrollo personal y académico.

A la Integración Avícola Oro por darnos la oportunidad de realizar esta investigación.

A Alina Aguirre y Rodolfo Riboty por la paciencia, confianza, apoyo, guía y conocimientos brindados a lo largo del desarrollo de este trabajo.

A Gina Alvarado por la asesoría y ayuda brindada durante el transcurso de este proyecto.

DEDICATORIA

A nuestros padres porque nos han enseñado que la educación es la mejor herencia que nos pueden dejar.

A nuestras familias por ser nuestra fortaleza en todo momento y ser el impulso para superar cada reto y alcanzar las metas planteadas.

A mi compañera de tesis y amiga quien ha sido mi mano derecha durante todo este proceso y sin su dedicación no hubiera sido posible la culminación de esta etapa universitaria.

RESUMEN

Las enfermedades infecciosas como el Síndrome de Cabeza Hinchada (SHS), son algunas de las principales preocupaciones dentro de la avicultura, debido a que generan graves consecuencias productivas y económicas. Para mitigar sus efectos se ha propuesto el uso de aditivos alimentarios naturales con capacidad inmunomoduladora, definidos como sustancias que estimulan, suprimen o modulan los elementos del sistema inmune. El plasma bovino (PB) y el hidrolizado de camarón (HC) son inmunomoduladores poco estudiados en la avicultura. Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto inmunomodulador de dichos productos sobre el SHS, los componentes del sistema inmune y su influencia en los parámetros zootécnicos de pollos de engorde. Para dar cumplimiento al objetivo trazado se criaron 1500 pollos desafiados inmunológicamente por cama reutilizada y ausencia de vacunación contra el *Pneumovirus aviar* (APV). A las aves, según el tratamiento experimental, se les alimentó por 42 días con 5 diferentes dietas. Una dieta basal de maíz y soya y dietas basales a las que se les adicionaron PB o HC en 2 estrategias de dosificación (E1 y E2). En la semana 1, el PB en la estrategia E2 evitó la caída drástica de títulos de anticuerpos maternos contra APV y generó mejores porcentajes de células blancas. En la semana 6, resultados similares en cuanto al porcentaje de células blancas se observaron con los tratamientos PB en las estrategias 1 y 2 e HC en la estrategia 1. El plasma bovino en E2 generó un mejor desempeño que el grupo control en todo el ciclo de engorde y el hidrolizado de camarón en E2 produjo un efecto similar que el grupo control. No hubo un efecto significativo de los tratamientos sobre los índices morfométricos de los órganos linfoides y sobre la tasa de mortalidad. Por lo tanto, la adición del plasma bovino a menor concentración en la dieta de los pollos de engorde, tiene un efecto inmunomodulador más evidente en las células blancas y en los anticuerpos maternos en ausencia de vacunación y tiene un efecto positivo sobre el desempeño animal.

ABSTRACT

The infectious diseases like Swollen Head Syndrome (SHS), are some of the main concerns in poultry, because of their productive and economic negative consequences. To mitigate their effects, the use of natural food additives with immunomodulatory capacity has been proposed, which are defined as substances that stimulate, suppress or modulate the elements of the immune system. Spray dried bovine plasma (SDBP) and shrimp hydrolysate (SH) are immunomodulators that haven't been greatly studied in aviculture. Therefore, the objective of this research was to evaluate the immunomodulatory effect of these products on the SHS, the components of the immune system and their influence in the zootechnical parameters of broilers. To achieve that, 1500 broilers were raised and challenged with reused litter and without vaccination against *Avian pneumovirus* (APV). The birds in dependence of the treatment were fed for 42 days with 5 different types of diets. A corn-soy based basal diet and basal diets that were added SDBP or SH in 2 dosing strategies (E1 and E2). In the first week, the SDBP in E2 avoided the drastic drop of the maternal antibodies against APV and produced better white blood cells percentages. In week 6, similar white blood cells percentages results were witnessed with SDBP in E1, SDBP in E2 and SH in E1. The SDBP in E2 generated better performance than the control group in all the fattening cycle, and the SH in E2 produced the same effect of the control group. There wasn't a significant effect of the treatments on the morphometric index values and the mortality rate. To sum up, the inclusion of SDBP in E2 on broilers diet has a more evident immunomodulatory effect in white blood cells and maternal antibodies without vaccination and has a positively effect in the animal performance.

ÍNDICE

1.	Capítulo I: Introducción.....	1
2.	Capítulo II: Revisión bibliográfica.....	5
	2.1. Enfermedades infecciosas en la industria avícola.....	5
	2.1.1. Generalidades, impacto en la industria y principales causas.....	5
	2.1.2. Síndrome de Cabeza Hinchada (SHS).....	10
	2.2. Inmumoduladores.....	15
	2.2.1. Generalidades y clasificación.....	15
	2.2.2. Productos comerciales.....	17
	2.2.2.1. Plasma bovino.....	17
	2.2.2.1.1. PROLECHON.....	17
	2.2.2.1.2. Propiedades y aplicaciones.....	18
	2.2.2.2. Hidrolizado de camarón.....	20
	2.2.2.2.1. ACTIPAL HP 1 - S1.....	20
	2.2.2.2.2. Propiedades y aplicaciones.....	20
	2.3. Inmunidad aviar.....	22
	2.3.1. Generalidades del sistema inmune.....	22
	2.3.2. Órganos linfoides.....	24
	2.3.3. Índices de los órganos linfoides.....	28
	2.4. Relación entre la nutrición y la inmunidad.....	28
3.	Capítulo III: Diseño del plan experimental.....	34
4.	Capítulo IV: Procedimientos.....	35
	4.1. Determinación de la población y la muestra.....	35
	4.2. Selección de los instrumentos de medición y los procedimientos para la obtención de datos.....	35
	4.2.1. Ubicación geográfica.....	35
	4.2.2. Manejo de los animales.....	36
	4.2.3. Obtención de las muestras sanguíneas.....	41
	4.2.4. Disección de los órganos linfoides y cálculo de índices... ..	42
	4.2.5. Determinación de los parámetros zootécnicos.....	43
	4.3. Prueba de confiabilidad de datos.....	45

5.	Capítulo V: Resultados.....	47
	5.1. Título de anticuerpos para <i>Pneumovirus aviar</i>	47
	5.2. Biometría hemática.....	49
	5.3. Índices morfométricos de los órganos linfoides.....	53
	5.4. Parámetros zootécnicos.....	59
	5.4.1. Consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia.....	59
	5.4.2. Estudio de la mortalidad.....	64
6.	Capítulo VI: Discusión.....	66
7.	Capítulo VII: Conclusiones.....	82
8.	Capítulo VIII: Recomendaciones.....	84
	Referencias.....	85
	Anexos.....	102

1. Capítulo I: Introducción

La industria avícola es uno de los sectores de mayor importancia y crecimiento económico en el Ecuador. Contribuye con el 13 % del producto interno bruto agropecuario. En los últimos años la producción, se ha incrementado en un 80 % teniendo en cuenta únicamente el área de aves de carne (Orellana, 2015). Este desarrollo está dado por la preferencia y aumento en la demanda de la carne de pollo por los consumidores sobre otras fuentes proteicas, fundamentalmente por su calidad nutritiva y costo accesible (Santiana, 2013).

A pesar de la competitividad del sector, las prácticas de manejo (Bregendahl et al., 2005), el alto nivel de exposición a agentes microbianos, el incremento de la virulencia de los agentes patógenos (Montilla, 2007) y la producción intensiva para cubrir la demanda del producto (Kinung'hi et al., 2004), suponen un estrés sobre los pollos de engorde que los lleva a ser propensos a inmunosupresión y por ende ser más susceptibles a enfermedades (Gatne et al., 2010).

Una de las principales preocupaciones dentro de la avicultura son las enfermedades infecciosas. Estas influyen negativamente sobre la producción porque aumentan la tasa de la mortalidad y reducen la tasa de crecimiento de los animales (Butcher, 2009). Actualmente, existe poca información sobre las consecuencias económicas de las enfermedades infecciosas en los países en desarrollo. Sin embargo, según cifras de los Estados Unidos, su impacto económico, teniendo en cuenta el uso de las vacunas y los decomisos, representan un 20 % del valor bruto de producción (VBP) y tres veces el costo de las pérdidas por mortalidad (Bagust, 2016).

Una de las patologías más relevantes dentro del campo de las enfermedades infecciosas en aves es el Síndrome de Cabeza Hinchada (SHS, de sus siglas en inglés *swollen head syndrome*) causada por 2 agentes etiológicos principales, *Pneumovirus aviar* y *Escherichia coli*; unido a factores de predisposición ambientales y de manejo (Dinev, 2007, pp. 89 y 90; Tambini et al., 2010). Esta enfermedad infecciosa genera efectos desfavorables en la

producción, tanto de ponedoras como de reproductoras (MSD Animal Health, 2008). Esto se debe al incremento de los índices de morbilidad entre el 1 y 10 % (HIPRA, 2010), el aumento del sacrificio animal, el aumento en el uso de antibióticos, la disminución de los índices de conversión de alimento y el detrimento de la calidad y la producción de huevos en un 20 % (Lister, 2006). Por tal motivo, es importante la aplicación de estrategias para la prevención y el control de enfermedades infecciosas.

Las estrategias más empleadas son los programas de bioseguridad, la cuarentena, los programas de sanitización, los cronogramas de vacunación y medicación y la resistencia inmunogenética (Bagust, 2012). Sin embargo, existen otras alternativas seguras, efectivas y económicamente viables como el uso de aditivos alimentarios con capacidad inmunomoduladora que presentan ciertas ventajas sobre las opciones antes mencionadas (Donald, Eckman y Simpson, 2002). Estas alternativas poseen una influencia directa sobre el sistema inmunológico gastrointestinal y tienen mayor aceptación por el consumidor en comparación a los antibióticos (Gatne et al., 2010; Eys, 2016).

Los inmunomoduladores son sustancias que producen los organismos de forma natural con el objetivo de mantener la homeostasis en el cuerpo, en un estado fisiológico normal (El-Enshasy y Hatti-Kaul, 2013). Se definen como compuestos naturales o sintéticos que estimulan, suprimen o modulan los elementos del sistema inmune, tanto innato como adaptativo (Hofrichter, 2011).

Existen inmunomoduladores dietéticos sintetizados de forma artificial, sin embargo, revisten un gran interés en la industria los que provienen de fuentes naturales, tanto de origen vegetal, como animal y fúngico (Hofrichter, 2011, pp.165-166). En esta investigación hemos empleado como inmunomoduladores el plasma bovino (PB) y el hidrolizado de camarón (HC), ambos de origen animal (Bui et al., 2014; Campbell et al., 2004a). Numerosos estudios han demostrado que cuando estos inmunomoduladores son empleados como aditivos alimentarios, estimulan el sistema inmune innato, mejoran el

crecimiento, el consumo del alimento y la supervivencia de los animales (Arredondo-Figueroa et al., 2013; Campbell et al., 2004b; Bui et al., 2014). No obstante, no han sido muy estudiados sus efectos en pollos de engorde.

Considerando la relevancia del uso de los inmunomoduladores como alternativa de manejo para las enfermedades infecciosas en la industria avícola y su efecto sobre los elementos del sistema inmune, nos hemos planteado la siguiente hipótesis:

Hipótesis

Los inmunomoduladores de origen animal utilizados como aditivos alimentarios en pollos de engorde desafiados inmunológicamente, alteran la producción de anticuerpos contra el SHS, el número de elementos sanguíneos, el peso de los órganos linfoides, el desempeño animal y su supervivencia.

Para responder la hipótesis planteada nos hemos propuesto los siguientes objetivos.

Objetivo General

Evaluar el efecto inmunomodulador del plasma bovino y el hidrolizado de camarón sobre el SHS, los componentes del sistema inmune y su influencia en parámetros zootécnicos en pollos de engorde de una granja experimental empleando técnicas de diagnóstico serológico, biometría hemática y gravimetría.

Objetivos específicos

1. Comparar la eficiencia de acción de los dos inmunomoduladores comerciales contra el SHS y sobre componentes del sistema inmunitario, en presencia de desafío inmunológico, mediante cuantificación de los

anticuerpos específicos de la enfermedad, de los elementos sanguíneos y del peso de los órganos linfoides.

2. Determinar la estrategia de dosificación óptima de los dos productos comerciales que genere mejor respuesta inmunomoduladora mediante análisis de los componentes sanguíneos y el control del peso de los órganos linfoides.
3. Determinar el efecto de la actividad del plasma bovino y el hidrolizado de camarón sobre parámetros zootécnicos como desempeño y mortalidad a través de gravimetría.

2. Capítulo II: Revisión bibliográfica

2.1. Enfermedades infecciosas en la industria avícola

2.1.1. Generalidades, impacto en la industria y principales causas

Los factores que actúan como amenaza para el sistema productivo de la industria avícola son múltiples; entre ellos destacan los relacionados con la alimentación, la genética y la sanidad. De entre todos ellos, este último es el que mayor preocupación genera a los productores, especialmente lo que se refiere a las enfermedades infecciosas (Jaimes-Olaya et al., 2010). Estas se definen como aquellas en las que un huésped susceptible es atacado por un patógeno, el cual cumple todo o parte de su ciclo vital en el huésped, produciendo generalmente una alteración en el estado fisiológico del mismo. (Totorá, Funke y Case, 2007, p.19). Los signos o síntomas de cada enfermedad pueden o no ser evidentes (Donald et al., 2002).

Las enfermedades infecciosas se clasifican en cuatro grupos según el tipo de patógeno que las genera (Donald et al., 2002):

Enfermedades virales: Son altamente contagiosas y los agentes infecciosos se reproducen dentro del animal. La forma de contagio es diversa: de animal a animal, de galpón a galpón o de granja a granja, pudiendo presentarse en cualquier punto del ciclo de engorde. La principal estrategia de prevención es la vacunación de los progenitores para el traspaso de los anticuerpos de padres a hijos, junto con programas de sanidad, bioseguridad así como un buen manejo de los animales (Donald et al., 2002).

Enfermedades bacterianas: Los agentes infecciosos de esta categoría se reproducen tanto en el animal como en el ambiente. Son oportunistas y aprovechan cualquier punto de entrada para iniciar la invasión. Se presentan en cualquier edad de los pollos y se localizan en diferentes

tejidos y órganos. Las más frecuentes se dan a nivel del tracto respiratorio o en la zona del ombligo. La forma de contagio en general es de animal a animal, sus síntomas no son únicos y normalmente suelen ser infecciones masivas las que ocasionan la muerte de las aves (Donald et al., 2002).

La principal estrategia de prevención es un buen manejo enfocado en el estado de la cama, combinado con un programa de sanidad adecuado, prestando especial atención a la calidad del agua (Donald et al., 2002).

Enfermedades fúngicas: no son contagiosas, se presentan en pollos jóvenes y los agentes infecciosos pueden reproducirse tanto en el animal como en el ambiente del criadero (Donald et al., 2002).

Las principales estrategias de prevención incluyen una higiene y desinfección apropiada del criadero, la implementación de programas de bioseguridad estrictos, el monitoreo regular de infecciones fúngicas y el uso de drogas antifúngicas (Dhama et al., 2013).

Enfermedades parasitaria: básicamente es posible referir sólo una enfermedad parasitaria de importancia económica en la avicultura, la coccidiosis. Esta es una infección que se produce por la entrada de la coccidia al intestino del animal en el momento que picotea la cama (Donald et al., 2002).

Como principales estrategias de prevención, se emplean el manejo del agua y de la cama, así como el uso de aditivos específicos (Donald et al., 2002).

El impacto de las enfermedades infecciosas en la industria es principalmente económico, debido a que generan las mayores pérdidas en el proceso de producción. Este efecto dado por la mortalidad que producen, la pérdida de ingresos y los altos costos en tratamientos, en programas de vacunación, en

erradicación, descontaminación y repoblación (Kinung'hi et al., 2004; Jaimes-Olaya et al., 2010).

No siempre el productor puede cuantificar fácilmente dichas pérdidas, por ello en ocasiones éste las considera como costos normales de producción. Sin embargo, dentro de esa consideración no suele tener en cuenta las pérdidas de mercado ocasionadas por las barreras a la exportación que se originan precisamente por la presencia de dichas enfermedades en los animales (Jaimes-Olaya et al., 2010).

La incidencia de las enfermedades infecciosas en la industria avícola viene motivada por factores tales como: la pobre alimentación, la presencia de aves silvestres y migratorias, la genética de las aves, las prácticas de manejo aplicadas, la frecuencia de exposición a patógenos y el nivel de virulencia de los mismos, la eficiencia de los programas de vacunación y el incumplimiento de las medidas de bioseguridad (Klasing, 1998; Abbas et al., 2015).

Las prácticas de manejo, definidas como la interacción adecuada entre el humano, el animal y su medio ambiente, son uno de los puntos claves para sacar provecho al potencial genético y mantener una producción consistente con baja incidencia de enfermedades infecciosas (Cobb-Vantress, 2013; Aviagen, 2014).

Uno de los aspectos a considerar dentro del manejo, es el empleo de la cama para la crianza, que consiste en la aplicación en el lecho del criadero de material vegetal como viruta de madera, cascarilla de arroz, cascarilla de maní, tallos de leguminosas, bagazo de caña, entre otras; siendo la viruta de madera la más utilizada por sus excelentes propiedades absorbentes (Cobb-Vantress, 2013; Yamak et al., 2016). La cama debe ser absorbente, liviana, barata, cómoda para las aves, presentar bajo nivel de polvo, ausencia de contaminantes y ser biodegradable (Aviagen, 2014; Cobb-Vantress, 2013). Además, ésta debe tener las características adecuadas para su posible uso en

post-producción, como para compostaje, fertilizante o combustible (Cobb-Vantress, 2013).

La selección de un buen material para la cama contribuye a la salud del animal porque permite proteger a las aves de lesiones o enfermedades como la dermatitis, incrementa el rendimiento animal y mejora la calidad de la canal (Cobb-Vantress, 2013; Teixeira et al., 2015). Esto debido a que proporciona una cubierta seca y cálida sobre el piso (Aviagen, 2014), que brinda aislamiento y amortiguamiento entre los animales y la superficie del galpón, permite la absorción de la humedad y la dilución del material fecal, reduciendo el contacto de las aves con sus desechos (Ritz et al., 2005; Cobb-Vantress, 2013).

El rendimiento, la salud de los animales y los beneficios de los productores se verán afectados si la cama no presenta las condiciones adecuadas de temperatura, humedad y pH (Ritz et al., 2005; Teixeira et al., 2015). La cama debe ser esparcida de manera uniforme, con una profundidad entre 5 a 10 cm y debe tener una temperatura de 28 a 30 °C (Aviagen, 2014). Debe tener bajo nivel de humedad y pH ácido, para evitar que se dé la acumulación de amoníaco y se vuelva resbaladiza y pegajosa. Cuando estos factores se encuentran alterados la cama puede considerarse de mala calidad (Teixeira et al., 2015; Aviagen, 2014).

Los productores continuamente están buscando alternativas para desarrollar una avicultura competitiva (Xavier et al., 2010). La reutilización de la cama en varias campañas de crianza es una de las opciones que se está aplicando, por razones económicas y medioambientales (Vejarano et al., 2008; Yamak et al., 2016; Teixeira et al., 2015; Wiedemann, 2015, p.9).

Por lo general, el material empleado para la elaboración de camas constituye una parte significativa de los costos de producción. Por tal motivo, la reutilización de la cama es un ahorro dentro del proceso de producción

(Vejarano et al., 2008; Yamak et al., 2016; Teixeira et al., 2015; Wiedemann, 2015, p.9). Asimismo, constituye parte de la solución para la contaminación medioambiental que genera la producción intensiva de pollos de engorde, por el desecho de grandes toneladas de cama de crianza. Es decir, a la par que se desecha menos material, se ha comprobado que el reuso puede incrementar la calidad de la cama para su empleo como fertilizante (Yamak et al., 2016; Wiedemann, 2015, p.9). A pesar de los beneficios que trae la reutilización de la cama, su aplicación puede convertirse en un problema si no se realiza un buen manejo de la misma, generando condiciones inapropiadas para la crianza de pollos de engorde (Vejarano et al., 2008).

La principal estrategia que se emplea al final de cada lote de crianza para preparar la cama antes de reutilizarla, es el compostaje con un proceso intermedio de degradación. Esta técnica consiste en apilar las camas en el galpón por un promedio de siete días, con el objetivo de incrementar la temperatura y eliminar los microorganismos e insectos existentes. En el caso de que se cubra las camas durante el compostaje, la acumulación de amonio es otro factor que contribuye a la disminución de agentes patógenos (Martins, Hötzel, y Poletto, 2013; Wiedemann, 2015, pp 8 y 14). Otros aspectos importantes son la ventilación y el calentamiento una vez que la cama esté lista para su reuso. Aunque implican un gasto adicional, en presencia de buen clima pueden resultar una alternativa económica (Yamak et al., 2016).

El manejo inadecuado de la cama reutilizada, no crea condiciones óptimas para la crianza de los pollos de engorde. El incremento en la cantidad del amonio y la humedad de ésta, son los principales factores que generan inconvenientes en la producción, los cuales se describen a continuación (Martins et al., 2013).

- La presencia de dermatitis de contacto genera defectos en las patas, en la canal de los pollos de producción y en casos severos limita su movilidad, les impide alimentarse y beber agua. Esta patología se debe a la exposición prolongada a altas concentraciones de amonio, altas

temperaturas y exceso de humedad en la cama, haciendo la superficie de crianza resbalosa, húmeda y pegajosa (Martins et al., 2013; Xavier et al., 2010; Yamak et al., 2016).

- La transmisión de patógenos: virales, bacterianos, micóticos y parasitarios entre lotes de pollos, que provocan enfermedades en los animales poniendo en peligro la producción y la seguridad alimentaria (Tambini et al., 2010; Wiedemann, 2015, p. 12).

Las enfermedades más comunes que se dan por contacto con la cama reutilizada son: gumboro, anemia infecciosa, influenza aviar, salmonelosis, coccidiosis, botulismo, dermatitis infecciosa y celulitis, entre otras (Vejarano et al., 2008; Xavier et al., 2010).

A pesar de que existe este riesgo de transmisión, ciertos estudios han demostrado que la exposición a los patógenos entéricos presentes en la cama reutilizada, cambian la microbiota del intestino de los pollos y estimulan la respuesta inmune innata y adaptativa (Lee et al., 2011).

2.1.2. Síndrome de Cabeza Hinchada (SHS)

Desde su descubrimiento en 1984 en Sudáfrica, el SHS ha sido considerado como una enfermedad respiratoria de rápida difusión, que afecta a aves de corral de todo el mundo incluyendo a América Latina (Parreira y Yano, 1998).

El principal agente etiológico causante de la enfermedad es el *Pneumovirus aviar* (APV), pero se ha demostrado que existen varios agentes etiológicos secundarios, como *Mycoplasmas* sp., *Bordetella* sp., *Ornithobacterium rhinotracheale* y *Chlamydothila* (IDEXX, 2004; Jones, 2007), entre los cuales, *Escherichia coli* (*E. coli*) es considerado como el principal (Dinev, 2007, p. 89).

La infección viral causa rinitis aguda, estrés en los cilios del tracto respiratorio por la ausencia de movimiento y daños en el tracto respiratorio superior, que facilitan la invasión y multiplicación de *E. coli* en los tejidos faciales subcutáneos, generando una infección extraintestinal (Salvadori et al., 2001; Stehling et al., 2003; IDEXX, 2004; Jones, 2007).

Es común que tras una infección de las vías respiratorias superiores causada por uno o más agentes virales, aparezcan infecciones aviarias generadas por *E. coli*, como el SHS (Stehling et al., 2003). Esto se debe a que cepas patógenas aviarias de *E. coli* (APEC, de sus siglas en inglés *avian pathogenic Escherichia coli*) producen verotoxinas (VT), éstas son citotoxinas sintetizadas por la bacteria y activadas en las células Vero (células de riñón de mono verde africano) (Parreira y Yano, 1998). Existen dos tipos de verotoxinas, VT1 y VT2, de ellas, VT2 juega un importante rol en la patogénesis del SHS porque genera muerte celular programada (Stehling et al., 2003; Salvadori et al., 2001).

APV es un virus RNA perteneciente a la familia Paramyxoviridae, género *Metapneumovirus* (Alkhalaf, 2010). Está presente en las secreciones y descargas respiratorias de los animales, no es excretado en las heces y tiene la capacidad de sobrevivir por tiempo prolongado en ambientes fríos y húmedos (Dinev, 2007, p.90; Jones, 2002, p. 144).

Los pavos y los pollos de cualquier edad son los animales más susceptibles a ser infectados por APV, sin embargo, aves como faisanes, gallinas de Guinea y ánades también pueden ser hospederos del virus (Jones, 2007). Se ha evidenciado que las hembras son las más afectadas por el APV (Dinev, 2007, p.89; Jones, 2002, pp. 144 y 145).

El virus ataca a pollos generalmente después de la cuarta semana de vida y la infección se caracteriza por la presencia de signos respiratorios, nerviosos y reproductivos (Dinev, 2007, p. 89; Jones, 2002, p. 144). Normalmente, el

agente etiológico permanece en los animales durante un periodo corto de entre 8 a 10 días después de la infección (Jones, 2002, pp. 144 y 145).

Los primeros signos clínicos que se observan son estornudos, rinitis, tos, y ruidos anormales durante la respiración (IDEXX, 2004). La secreción lagrimal abundante, las conjuntivas enrojecidas y una forma de ojos almendrada son otras de las características de la enfermedad (Dinev, 2007, p.89). La sintomatología que se evidencia es esencialmente respiratoria. No obstante, en pollos luego de 2 a 3 días se observa edema facial, picor de ojos (HIPRA, 2010), hinchazón unilateral o bilateral de las plumas y de la cabeza, además de señales nerviosas como tortícolis y opistótonos, debido a procesos inflamatorios de los huesos del cráneo y el oído (Mussoyev et al., 2013; Dinev, 2007, pp. 91 y 92). Los animales que padecen SHS en ocasiones pierden el equilibrio como consecuencia de una infección en el oído (Jones, 2007). Por otro lado, las gallinas ponedoras además de los signos respiratorios y nerviosos, también presentan problemas de reproducción, debido a que pueden sufrir inflamación aguda o crónica de uno o de los dos ovarios, disminuyendo su producción de huevos (Dinev, 2007, p. 92).

Los daños que genera esta enfermedad se traduce en pérdidas económicas por la presencia de una morbilidad del 10 %, mortalidad no mayor al 2 %, disminución del incremento del peso promedio diario del animal, menor consumo y conversión alimenticia, detrimento de la calidad y producción de huevos del 5 al 40 % y deterioro de la fertilidad de los animales, incubabilidad de los huevos y calidad de la carcasa del pollo (Peres et al., 2006; Chale, 2011; Cook, 2000; Mussoyev et al., 2013; Stuart, 1991; HIPRA, 2010; Stehling et al., 2003).

El Síndrome de Cabeza Hinchada se caracteriza por tener transmisión horizontal, el virus ingresa a los animales a través de la conjuntiva y la membrana mucosa de los senos nasales, cuando existe contacto directo entre aves infectadas y aves susceptibles (HIPRA, 2010; Dinev, 2007, p.91; Chale,

2011). No hay estudios que comprueben que el SHS presente transmisión vertical; es decir, transferencia de la gallina al huevo (Chale, 2011).

Existen factores ambientales y de manejo que exacerban la enfermedad, como el microclima pobre, la mala ventilación, los altos niveles de polvo y amoníaco en el ambiente, la calidad de la cama de crianza, las medidas de bioseguridad implementadas, las infecciones intercurrentes causadas por *Mycoplasma gallisepticum* y *E. coli* y la superpoblación, debido a que aumenta la probabilidad de que la infección se recicle y el virus permanezca por más tiempo (Dinev, 2007, p.90; Chale, 2011; Jones, 2002, p.145).

La respuesta inmune desarrollada en presencia de los agentes etiológicos del SHS en el organismo, es tanto celular como humoral. Se ha comprobado que la principal protección contra la enfermedad está dada por la inmunidad celular, mientras que la participación que tiene la inmunidad humoral es menor. Tras la infección existe una respuesta serológica en baja proporción, pero con buena eficacia y se ha sugerido que los anticuerpos circulantes podrían ser importantes en la protección del oviducto. Cabe destacar, que se ha demostrado que los anticuerpos maternos no son eficaces frente al desafío temprano de la enfermedad (Jones, 2002, pp. 137 y 138; Chale, 2011).

El diagnóstico del SHS se realiza a través de varios métodos. La sintomatología no es una estrategia empleada para un diagnóstico definitivo ni confiable, porque muchos de los signos de la enfermedad son similares a infecciones causadas por otros agentes respiratorios (Jones, 2007; HIPRA, 2010).

Los métodos se dividen en tres categorías:

Técnicas de aislamiento viral: se inoculan los exudados nasales, oculares o traqueales, en un embrión o en un cultivo de órgano traqueal de embriones de pavo o pollo (TOC de sus siglas en inglés *tracheal organ culture*). Es importante que el material a inocular sea recolectado

cuando aparezcan los primeros síntomas clínicos de la enfermedad, pues el virus después de la infección persiste poco tiempo en el animal. La presencia del virus se comprueba por métodos de inmunofluorescencia (HIPRA, 2010; Jones, 2007; Cook, 2000).

Técnicas de biología molecular: se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR de las siglas en inglés (*reverse transcription polymerase chain reaction*) para la detección del RNA viral hasta 17 días post-infección. Con el empleo de esta técnica no necesariamente se detecta el virus vivo, por lo que es difícil la determinación de una infección activa. Sin embargo, es un método rápido y específico (Cook, 2000; HIPRA, 2010; Jones, 2007).

Técnicas serológicas: el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA de sus siglas en inglés *enzyme-linked immunosorbent assay*) es la técnica más empleada para la cuantificación en suero de los títulos de anticuerpos contra el *Pneumovirus aviar* (Cook, 2000). Los anticuerpos maternos del virus pueden ser detectados hasta la cuarta semana de edad, pues persisten en la circulación de 15 a 20 días después del nacimiento. Los anticuerpos contra el APV siempre se detectan en presencia de la infección, específicamente once días después del inicio de la misma. No obstante, es posible también encontrar anticuerpos de APV en aves que no presentan síntomas para SHS (Peres et al., 2006).

No existe un tratamiento para el SHS en lo referente a la infección viral (Cook, 2000). Sin embargo, cuando los animales están en la fase aguda del edema, se les suele trasladar del galpón de crianza a un ambiente abierto para su recuperación clínica en 24 horas (Morley y Thomson, 1984). Además, son muy utilizados los antibióticos para reducir la severidad de la enfermedad, porque permiten el control de los agentes etiológicos secundarios (Rautenschlein, 2013; HIPRA, 2010).

Por la dificultad en cuanto al tratamiento del SHS, los productores hacen hincapié en los programas de prevención. Primero se enfocan en la aplicación de buenas prácticas de manejo, que contemplan un buen programa de bioseguridad, una óptima ventilación, control de la temperatura, buena calidad de la cama y adecuada densidad de los animales en el galpón de crianza (Rautenschlein, 2013) y segundo en la vacunación, que es la estrategia de mayor relevancia en el control de la enfermedad. Las vacunas vivas o atenuadas se administran en los pollos de engorde en la primera semana de vida (HIPRA, 2010; Jones, 2007). No es recomendable la vacunación simultánea cuando se emplea una vacuna viva contra el SHS, especialmente con la vacuna para el virus de la bronquitis infecciosa, pues ésta limita la respuesta inmune esperada al inhibir la proliferación de la cepa vacunal del APV (HIPRA, 2010; Jones, 2007).

Las estrategias antes mencionadas de tratamiento y prevención, se aplican de manera clásica contra el SHS en la avicultura. No obstante, existen otras alternativas que se emplean de forma general para el control de enfermedades infecciosas. Entre ellas podemos mencionar los programas de sanidad y el uso de aditivos alimentarios con actividad inmunomoduladora (Donald et al., 2002).

2.2. Inmunomoduladores

2.2.1. Generalidades y clasificación

La inmunomodulación es la alteración de la respuesta inmune, en donde es posible modificar el alcance, tipo y duración de la respuesta y aumentar o disminuir la capacidad de la misma. Así se estimula, suprime o restaura el sistema de defensa. Por ello, un inmunomodulador o modificador de la respuesta biológica, se define como la sustancia natural o sintética que estimula, suprime o modula los elementos que conforman la respuesta inmune, tanto del sistema innato como adaptativo (Abeysekera, 1998; Mukherjee et al., 2014; El-Enshasy et al., 2013; Lebish y Moraski, 1987).

Los modificadores de la respuesta biológica se clasifican según su función en inmunosupresores, inmunoestimulantes e inmunoadyuvantes (Hofrichter, 2011):

Inmunosupresores: tienen como función la inhibición del sistema inmune (Hofrichter, 2011, p.165).

Inmunoestimulantes: se encargan de potenciar la actividad del sistema inmune al incrementar o activar la actividad de alguno de sus componentes o mediadores. Son muy empleados para reforzar la resistencia del organismo a infecciones, alergias, cáncer o autoinmunidad (Hofrichter, 2011, p. 165; El-Enshasy et al., 2013).

Inmunoadyuvantes: favorecen la función de las vacunas actuando de forma específica sobre el sistema de defensa (Hofrichter, 2011, p. 165).

El modo de acción de los inmunomoduladores no es del todo conocido. Sin embargo, se sabe que sus células blanco son generalmente los linfocitos T y B, los monocitos, los granulocitos y las células NK (Bascones-Martínez et al., 2014). La mayoría centra su actividad en mantener el sistema de defensa, mediante un aumento de la respuesta de las células T, la reducción o bloqueo de la actividad supresora, la estimulación de las células NK, y la inducción de la producción de interferones y citocinas (Keong et al., 2011; García et al., 2009). Además, algunos inmunomoduladores también pueden alterar la actividad de las células inmunes, mediante cambios en la expresión de los genes, procesamiento del RNA mensajero, transporte intracelular de las proteínas, síntesis proteica y la secreción y la expresión de proteínas en la superficie celular (García et al., 2009).

Por otro lado, se ha demostrado que en ocasiones la acción de los inmunomoduladores puede estar relacionada con la participación de mensajeros secundarios como la adenosina-monofosfato cíclico (cAMP) y la

guanina-monofosfato cíclico (cGMP). La cAMP se encarga de inhibir la función efectora de los linfocitos, generando inmunosupresión. Por su parte, la cGMP promueve un incremento de la actividad de los linfocitos maduros ocasionando inmunoestimulación (García et al., 2009).

2.2.2. Productos comerciales

2.2.2.1. Plasma bovino

2.2.2.1.1. PROLECHON

PROLECHON es un suplemento proteico utilizado comúnmente para la alimentación de cerdos, mascotas y animales acuáticos. Es una fuente natural de inmunoglobulinas (Igs), albúmina, globulinas plasmáticas y proteínas altamente digestibles y palatables. Además, contiene proteínas funcionales presentes en el plasma sanguíneo animal, tales como alfa, beta y gamma globulinas y fibrinógeno. Su modo de aplicación consiste en adicionar el producto directamente al alimento a una concentración entre el 1 y el 10 % (LICAN, 2015).

Es un producto comercial obtenido a partir de un proceso de atomización del plasma sanguíneo de animales sanos, especialmente bovinos. Los animales son sacrificados en establecimientos autorizados, bajo rigurosos procedimientos de control de calidad y supervisión estricta por las autoridades competentes. Por lo tanto, es un producto animal inocuo, seguro y natural, que contiene una fuente de proteínas funcionales estables y seguras (LICAN, 2015).

PROLECHON incrementa el consumo de alimento, aumenta la ganancia de peso y mejora el estado de salud de diversos animales como cerdos, aves, perros y peces de cultivo. Además, es considerado como una alternativa ideal para reemplazar el uso de los antibióticos, debido a que en investigaciones se ha demostrado que previene infecciones intestinales producidas por *E. coli* y otros patógenos. Por otra parte, algunas proteínas presentes en el producto,

son resistentes a la digestión y pueden llegar hasta el intestino ayudando a la respuesta inmune local (LICAN, 2015).

2.2.2.1.2. Propiedades y aplicaciones

El plasma animal es un subproducto de los mataderos del ganado bovino y porcino, que es procesado para su comercialización (Gallois y Oswald, 2008; Leeson, 2015). Está constituido por compuestos funcionales como inmunoglobulinas, albúmina, factores de crecimiento, péptidos biológicamente activos como defensinas y transferrina, fibrinógeno, lípidos, enzimas y otros componentes con valor nutricional y actividad biológica dentro del intestino (Campbell et al., 2003; Campbell et al., 2008).

Este subproducto comercial es empleado en la alimentación animal como un ingrediente de alto contenido nutricional, con buen perfil aminoacídico y un porcentaje entre el 75 al 80 % de proteína digerible, de la cual el 95 % lo constituye albúmina y globulinas (Leeson, 2015; Beski, Swick, y Iji, 2015a). Específicamente, se ha incluido en la nutrición de animales como cerdos, vacas, aves de corral y camarones (Beski et al., 2015a; Campbell et al., 2003). Sin embargo, el estudio del efecto del plasma animal se ha profundizado en los cerdos desde que se lo propuso como fuente proteica a finales de los años 80s (Gallois y Oswald, 2008; Torrallardona, 2010).

La inclusión del plasma animal en la dieta inicial de los lechones mejora el crecimiento, el consumo de alimento y la conversión alimenticia durante la etapa de estrés que constituye el destete (Torrallardona, 2010). La misma respuesta positiva en el desempeño se ha comprobado en vacas, pavos y pollos de engorde. Se ha reportado que existe un mayor efecto del plasma animal en el desempeño de todos estos animales, cuando están sometidos a ambientes no sanitarios o desafiados inmunológicamente (Quigley y Drew, 2000; Campbell et al., 2004b; Campbell et al., 2006). En el caso de los pollos y los pavos esta respuesta se observa cuando son criados sobre cama

reutilizada (Bregendahl et al., 2005; Campbell et al., 2004b). También, cuando los pavos son desafiados con agentes como *Pasteurella multocida* y en el ganado bovino y porcino cuando son desafiados con bacterias entéricas como *E. coli*. Cabe indicar, que en estos últimos el efecto se observa también en la disminución de la incidencia de la enfermedad. Aumentando así la supervivencia animal (Campbell et al., 2004a; Quigley y Drew, 2000; Gallois y Oswald, 2008).

El modo por el cual el plasma bovino genera los efectos antes mencionados, no están totalmente dilucidados. Algunos autores establecen que las altas propiedades nutritivas de las proteínas del plasma, influyen sobre el crecimiento animal. Es decir, las proteínas de alta calidad y el buen perfil aminoacídico son los responsables del mejor desempeño, porque favorecen el desarrollo intestinal y el rápido crecimiento muscular (Beski et al., 2015a). Otros sugieren que los efectos beneficiosos se presentan porque el subproducto mejora el sabor del pienso, lo que genera un aumento en el consumo del alimento. No obstante, algunas investigaciones comparativas de varios ingredientes y su sabor, refutan que el plasma sea el componente preferido por los animales. Más bien, la teoría más aceptada es que la causa del aumento en el consumo del alimento y otros índices de desempeño, son las propiedades inmunológicas del plasma o la mejora que genera en la salud animal (Torrallardona, 2010).

Las inmunoglobulinas especialmente la inmunoglobulina G y las glicoproteínas del plasma, se consideran los principales componentes bioactivos que contribuyen a la salud animal. En cerdos, se ha evidenciado que estos interactúan con antígenos para reducir el efecto de enterotoxinas y disminuir la fijación, adhesión, replicación y colonización intestinal de patógenos (Torrallardona, 2010; Campbell et al., 2008). De esta forma, se disminuye o modula la sobreestimulación del sistema inmune tanto sistémico como local, evitando que la repartición energética se incline a otras actividades no productivas y se secreten citoquinas inhibitoras del apetito. Por otra parte,

favorece a la alimentación porque mantiene la integridad de la mucosa intestinal, mejora su morfología y ayuda a la actividad enzimática (Torrallardona, 2010; Campbell et al., 2006).

2.2.2.2. Hidrolizado de camarón

2.2.2.2.1. ACTIPAL HP 1 - S1

ACTIPAL HP 1 – S1 es un hidrolizado funcional en polvo, formulado para la alimentación de los animales de la industria acuícola. Se elabora mediante un proceso de hidrólisis de los co-productos del camarón obtenidos en la acuicultura (Aquativ, 2015). El suplemento está constituido por varios nutrientes esenciales como nucleótidos, fosfolípidos, ácidos grasos omega 3, colesterol, astaxantina como antioxidante, aminoácidos libres y péptidos marinos bioactivos. Estos dos últimos componentes son los de mayor relevancia, pues actúan directamente como inmunomoduladores, antimicrobianos y sobre la secreción de la hormona del crecimiento (Aquativ, 2015).

Se ha comprobado que el producto mejora la salud y supervivencia animal, porque incrementa la resistencia al estrés y a los patógenos. También mejora la eficiencia de la alimentación y con ello la velocidad de crecimiento, puesto que la mayoría de sus nutrientes al ser de bajo peso molecular, son fácilmente absorbidos en el tracto intestinal y asimilados por el organismo. Es recomendado que el hidrolizado de camarón se emplee en el alimento, en una concentración del 1 al 5 % (Aquativ, 2015).

2.2.2.2.2. Propiedades y aplicaciones

Los hidrolizados proteicos presentan un sinnúmero de aplicaciones en una gran variedad de industrias, como la farmacéutica, en la nutrición humana y animal y la cosmética. Además, pueden ser utilizados como fuente principal de nitrógeno en medios de cultivo para el crecimiento de microorganismos (Bueno-Solano et al., 2009). Son una fuente rica en proteínas con un balance adecuado tanto de

aminoácidos como de péptidos bioactivos, por lo general de bajo peso molecular (Bui et al., 2014).

La hidrólisis de proteínas se refiere al proceso mediante el cual la proteína se descompone en pequeños fragmentos por la acción de enzimas digestivas (Bueno-Solano et al., 2009).

Específicamente, el hidrolizado de camarón generado de los subproductos de la industria acuícola, contiene proteínas, lípidos, carotenoides, quitina, quitosano y astaxantina (Bueno-Solano et al., 2009 y Khosravi et al., 2015a). Estudios en la acuicultura han demostrado que los aminoácidos y péptidos pequeños presentes en el hidrolizado de camarón son los responsables de la mejora en el crecimiento, el consumo de alimento y supervivencia de los animales, debido a su facilidad de absorción y digestión desde temprana edad (Bui et al., 2014). Aunque, ésto depende de la existencia de una concentración suficiente y que los componentes del hidrolizado presenten una solubilidad adecuada para su absorción y paso por el tracto intestinal (Arredondo-Figueroa et al., 2013 y Khosravi et al., 2015a).

Otra propiedad relevante del hidrolizado de camarón es estimular el sistema inmune innato (Arredondo-Figueroa et al., 2013). En peces se ha demostrado que los péptidos de peso molecular entre 500 a 3000 Da potencian la actividad de los macrófagos, la lisozima, la superóxido dismutasa, las proteínas del complemento y la producción de inmunoglobulinas (Bui et al., 2014 y Khosravi et al., 2015a). La existencia de uno u otro efecto depende de la composición específica del hidrolizado. Así, la presencia del extracto en la dieta animal favorece la protección contra enfermedades infecciosas. Sin embargo, en investigaciones en presencia de desafíos, no se ha observado un efecto significativo del hidrolizado de camarón sobre la prevención de la enfermedad Edwardsielosis, causada por la bacteria *Edwardsiella tarda*. No obstante, se han obtenido mejores resultados empleando hidrolizados de tilapia y krill (Bui et al., 2014).

Cabe indicar, que no solo los péptidos contribuyen a la estimulación del sistema inmune, sino también la quitina y el quitosano. Estos carbohidratos aceleran la cura de enfermedades, potencian la producción de anticuerpos, activan macrófagos, proteínas del complemento y linfocitos T citotóxicos (Wu y Tsai, 2004).

2.3. Inmunidad aviar

2.3.1. Generalidades del sistema inmune

Los factores como la dieta, el ambiente, la fisiología y la genética, generan una respuesta en el sistema inmune aviar. El uso de aditivos suplementarios estimula el potencial intrínseco de los animales y favorece un mejor desempeño inmunológico (Qureshi, Hussain y Heggen, 1998).

El sistema inmune aviar está conformado por un conjunto de estructuras y procesos biológicos encargados de la defensa del organismo contra agentes invasores, de la eliminación de células corporales anormales, como tumores y células infectadas con virus y del reconocimiento de células extrañas, como los injertos. Al igual que en los mamíferos, el sistema inmune aviar puede dividirse desde el punto de vista funcional en dos niveles, la inmunidad innata y la adaptativa, esta última a su vez dividida en respuesta inmune celular y humoral. Tanto la inmunidad innata como la adaptativa están conectadas por mediadores celulares y químicos, para establecer una sinergia que permita hacer más efectivo el sistema de defensa (Ritchie, Harrison y Harrison, 1994, pp. 109 y 110).

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra las infecciones. Actúa de forma no específica contra patógenos individuales y su respuesta es inmediata contra una amplia gama de agentes extraños o que son reconocidos como tal, incluso antes de que se dé la infección. Este tipo de respuesta inmune no es duradera (Murphy et al., 2012, p.2; Abbas, Lichtman y Pillai, 2014, p.2).

La inmunidad innata está constituida por barreras físicas y químicas, como las superficies epiteliales y las sustancias antimicrobianas producidas en dichas superficies. Ésto condiciona la existencia de un ambiente específico en la piel y las mucosas, para evitar la entrada y la colonización de microorganismos patógenos en el organismo. Si el patógeno o material extraño traspasa con éxito dichas barreras, un conjunto de células del sistema innato funcionan entonces como mecanismo de defensa (Ritchie et al., 1994 pp.110 y 111; Abbas et al., 2014, p.2).

Los granulocitos polimorfonucleares, especialmente los heterófilos, despliegan procesos de fagocitosis y estallido respiratorio. Los trombocitos actúan mediante fagocitosis y los macrófagos ejecutan procesos de fagocitosis y secreción de sustancias involucradas en la inflamación, en la estimulación de otros agentes de defensa y en los procesos de curación (Ritchie et al., 1994, pp.111-113).

Cuando los mecanismos de defensa de la respuesta inmune innata no son suficientes contra un patógeno, ésta se encarga de estimular e influenciar la naturaleza de la respuesta inmune adaptativa para tal cuerpo extraño y de contener la infección hasta la activación y el montaje de una respuesta celular y/o humoral (Qureshi et al., 1998; Abbas et al., 2014, p.51).

La inmunidad adaptativa es una respuesta inmune específica, porque constituye una adaptación de la respuesta a la infección de un agente extraño o patogénico en concreto, que muchas veces conduce a una memoria inmunológica (Murphy et al., 2012, p.2). Esta respuesta se produce mediante un proceso de reconocimiento de antígenos específicos por receptores de células sensibles a los mismos; es decir, linfocitos B y T. El resultado de este reconocimiento tras un periodo de latencia, es la activación de mecanismos efectores especializados de la respuesta inmune humoral o celular (Ritchie et al., 1994, p.115).

La respuesta inmune humoral es una función adaptativa del sistema de defensa, que actúa a través de los anticuerpos producidos por los linfocitos B (Qureshi et al., 1998). Tres clases de inmunoglobulinas son las que se han identificado en los pollos, inmunoglobulina M, G y A. Éstas se unen a la superficie de los patógenos para bloquear sus receptores, de modo que no puedan unirse a los receptores de las células diana (Butcher y Miles, 1995, p.2). De esta manera, el complejo antígeno-anticuerpo es destinado a procesos de lisis o fagocitosis. Cabe destacar, que la maduración inmunológica ocurre entre los 20 y 25 días de edad en los pollos, hasta ese momento las IgGs transmitidas de madre a hijo, ayudan a la defensa del organismo con un tiempo de vida media de 4 a 6 días (Ritchie et al., 1994, p. 115 y 116).

La respuesta inmune celular ejecuta mecanismos que permiten la destrucción de células tumorales, células infectadas con virus o bacterias intracelulares, injertos, parásitos y hongos; a través de la acción de los linfocitos T. Los linfocitos T se dividen en 3 subgrupos. Las células T citotóxicas que secretan sustancias para provocar citotoxicidad, las auxiliares que secretan sustancias que incrementan la acción de otros componentes de defensa y las supresoras que inhiben la respuesta de otros linfocitos T y B (Ritchie et al., 1994, p. 118 y 119; Qureshi et al., 1998).

2.3.2. Órganos linfoides

Los órganos linfoides forman parte del sistema inmune y se clasifican en primarios o centrales y secundarios o periféricos, dependiendo del papel que cumplen en la generación de linfocitos, en la regulación de su producción y en proporcionar un medio ambiente adecuado para el reconocimiento de antígenos extraños y su procesamiento (Tizard, 2009, p. 112).

Los órganos linfoides primarios se desarrollan en estadios fetales tempranos y se encargan de generar, diferenciar, madurar y proliferar los linfocitos T y B

(Deng et al., 2008). Existen dos clases de linfocitos dependiendo del lugar de maduración. Los linfocitos T son aquellos que maduran en el timo y los linfocitos B maduran en diferentes órganos dependiendo de la especie, en el caso de las aves, en la bolsa de Fabricio (Tizard, 2009, p.113; Song et al., 2012, p.89).

Los órganos linfoides primarios se encargan de mantener la función inmunológica normal y de estimular la resistencia contra las enfermedades. Sin embargo, no son el lugar donde los linfocitos reconocen a los antígenos (Tizard, 2009, p.113).

Los principales órganos linfoides centrales se describen a continuación:

Timo: está formado por 7-8 lóbulos separados y bien definidos a cada lado del cuello, extendido desde la tercera vértebra cervical hasta los segmentos torácicos superiores (Davison et al., 2008, pp. 16 y 17). Presenta un tamaño variable alcanzando su tamaño máximo en la pubertad. En animales adultos puede ser muy pequeño y difícil de localizar debido a una involución, proceso en donde el órgano se va retrayendo mientras el ave crece (Tizard, 2009, p. 114). Al igual que en los mamíferos, el timo produce precursores de las células implicadas en la respuesta inmune mediada por células T específicas (Rose, 1979). Por lo tanto, su función principal es la producción de linfocitos T (Tizard, 2009, p.114).

Bursa: también conocida como bolsa de Fabricio, es un saco redondeado presente únicamente en aves y ubicado encima de la cloaca. Al igual que el timo está formada por linfocitos embebidos en tejido epitelial (Tizard, 2009, p.116; Davison et al., 2008, p.20). Alcanza su tamaño máximo a las 8 semanas de vida y a partir de ese momento involuciona. Es por ello, que en aves mayores a 56 días es muy difícil su identificación (Colin, 2015, p.404). Durante la madurez sexual aumenta

la involución por lo que puede verse atrofiada, pero sigue siendo funcional (Colin, 2015, p.404; Tizard, 2009, p.116; Robin, 2008, p.3). En ocasiones no es considerado como un órgano linfoide primario puro, debido a que puede captar antígenos. Sin embargo, su principal función es la de ser el lugar de maduración y diferenciación de las células formadoras de anticuerpos (Tizard, 2009, p.116).

A diferencia de los órganos linfoides primarios, los secundarios se originan durante la vida fetal tardía y persisten en las aves adultas (Tizard, 2009, p. 118). En éstos se produce la diferenciación de las células T y B inmunológicamente competentes y se producen células efectoras específicas de antígeno (Rose, 1979). Por otra parte, contienen células dendríticas que se encargan de capturar y procesar los antígenos. Por lo tanto, su estructura anatómica está diseñada para facilitar la captación antigénica y posibilitar al máximo que los antígenos procesados sean presentados a los linfocitos (Tizard, 2009, p.118; Robin, 2008, p.2). El bazo, los nódulos linfáticos, las amígdalas y el tejido linfoide asociado a mucosa (MALT de sus siglas en inglés *mucosa-associated lymphoid tissue*) son algunos de los órganos linfoides periféricos de las aves (Colin, 2015, pp. 404-409). Por la importancia para el desarrollo de este trabajo a continuación se describen el bazo y el MALT.

El bazo, es el órgano linfoide secundario más largo en la mayoría de los organismos y actúa en la hematogénesis, en la filtración de la sangre y en la inmunidad (Song et al., 2012). En las aves cumple un papel dominante en la generación de la respuesta inmune por la ausencia de ganglios linfáticos (Deng et al., 2008). Aunque no es un sitio primario para la proliferación y diferenciación de linfocitos independientes de antígenos, tiene un papel importante en la linfopoyesis. Es en el bazo donde los progenitores de células B, reordenan sus genes de inmunoglobulinas G antes de colonizar la bolsa de Fabricio (Davison et al., 2008, p.27). Este órgano tiene como función principal filtrar antígenos de la sangre para eliminar microorganismos sanguíneos, restos celulares y células sanguíneas viejas. Para cumplir con sus funciones, el bazo

está formado por la pulpa roja que tiene como funciones la filtración de la sangre y el almacenamiento de glóbulos rojos y la pulpa blanca que es rica en linfocitos y es donde ocurre la respuesta inmune (Tizard, 2009, p.124).

El tejido linfoide asociado a mucosa es considerado como la primera línea de defensa frente a antígenos exógenos que ingresan al organismo durante procesos de alimentación y respiración. Está compuesto por agregados de células linfoides o por folículos linfoides primarios y secundarios (Casteleyn et al., 2010).

El tejido linfoide asociado a intestino (GALT de sus siglas en inglés *gut-associated lymphoid tissue*) es un tipo de MALT, considerado como el órgano linfoide secundario más grande y ubicado en el tracto intestinal aviar (Casteleyn et al., 2010; Eys, 2016). Está compuesto por tejido linfoides organizado y linfocitos dispersos en la lámina intestinal (Bao y Choct, 2010). Es un órgano dinámico que evoluciona de acuerdo a las distintas etapas fisiológicas de las aves. Cuando están las aves recién nacidas, su desarrollo y su crecimiento se produce de forma concomitante al desarrollo de las estructuras y las funciones digestivas (Eys, 2016). El GALT tiene 3 funciones principales: proteger a la membrana mucosa de la colonización e invasión de microorganismos potencialmente peligrosos, prevenir la captación de antígenos no degradados y reducir el desarrollo de respuestas inmunes potencialmente dañinas (Eys, 2016). Por lo tanto, un GALT eficiente es aquel que permite la colonización de bacterias benéficas y brinda protección frente a patógenos (Bao y Choct, 2010).

El GALT contiene células T y B, siendo los linfocitos B los encargados de producir IgA para la protección contra agentes que ingresan a través de las mucosas, sitio principal de invasión de patógenos. Es así que la presencia de anticuerpos en las superficies mucosas, genera protección para el animal y evita la entrada de microorganismos potencialmente dañinos (Eys, 2016; Revolledo, 2010). Por lo tanto, la inmunidad generada en las mucosas,

específicamente la del intestino, puede reflejar la inmunidad en otros tejidos y sistemas fisiológicos del organismo (Revolledo, 2010).

2.3.3. Índices de los órganos linfoides

Para conocer la frecuencia y severidad de las enfermedades infecciosas en una parvada, se realiza una evaluación clínica, específicamente una evaluación macroscópica. Ésta consiste en determinar el peso, tamaño y apariencia de los órganos linfoides. Los más utilizados son: la evaluación del timo, la bursa y la médula ósea en distintos períodos; la relación del peso de los órganos linfoides con el peso corporal y de los órganos entre sí y la comparación de la relación entre el tamaño de la bursa y el bazo (Perozo-Marín et al., 2004).

Los indicadores morfométricos de los órganos linfoides permiten conocer el estado de inmunocompetencia de las aves. Por ejemplo, la razón entre el bazo y la bolsa de Fabricio establece la capacidad de respuesta inmune de los pollos de engorde. Igualmente, el tamaño del timo es un indicador del estado de salud, así como de la respuesta tanto aguda como crónica, ya que el órgano responde con atrofia tisular bajo situaciones de estrés (Perozo-Marín et al., 2004). Por lo tanto, la determinación de los índices morfométricos de los órganos linfoides es un método de diagnóstico que permite conocer la situación inmunológica de la parvada. Ésto debido a que el peso relativo del bazo, el timo y la bursa, puede disminuir cuando las aves se encuentran expuestas a factores estresantes (Perozo-Marín et al., 2004).

2.4. Relación entre la nutrición y la inmunidad

La selección genética de los pollos de engorde se ha enfocado en potenciar la eficiencia del uso del alimento en los animales, mediante el aumento de la velocidad de crecimiento y la velocidad del consumo del pienso. Por tal motivo, mientras más crecen mayor es el requerimiento nutricional de las aves (Klasing, 2007; Bao y Choct, 2010). Por esta razón, la formulación de las dietas

está direccionada a maximizar la eficiencia productiva a un mínimo costo, más que para lograr una inmunidad óptima (Klasing, 2007; Kidd, 2004; Bao y Choct, 2010). Sin embargo, el surgimiento de nuevas enfermedades infecciosas, la limitación del uso de antibióticos en la producción animal y la relación inversamente proporcional entre la velocidad de consumo de alimento y la respuesta inmune, exige de modo imperativo considerar a la alimentación no solo para lograr objetivos productivos, sino como alternativa para la prevención y control de enfermedades. Debido a que la evaluación del impacto de la nutrición sobre el sistema inmune ha evidenciado que existe una interacción entre la respuesta inmune y los componentes bioactivos de los alimentos, que podría ser útil para reducir la susceptibilidad de los animales a enfermedades infecciosas (Kogut, 2009; Bao y Choct, 2010). Ésto no implica agregar a la dieta ingredientes que han resultado efectivos en la estimulación del sistema inmune y/o en la protección contra el desafío de un patógeno, porque sería muy costoso y podría provocar susceptibilidad no deseada a otros microorganismos. Por lo tanto, lo que se persigue es optimizar la salud, la productividad y el bienestar del animal, mediante la formulación de dietas a menor costo, basadas en la comprensión de los mecanismos metabólicos y fisiológicos a través de cuales los nutrientes afectan la inmunidad (Klasing, 2007).

La interacción que existe entre la respuesta inmune y la nutrición, está influida por la presencia de factores estresantes durante el desarrollo de las aves (Butcher y Miles, 2014). Los microorganismos en la microflora intestinal, la presencia de enfermedades y las condiciones físicas y ambientales subóptimas son factores estresantes que pueden generar cambios hormonales, disminución en el consumo del alimento, alteración del metabolismo de nutrientes y supresión de la función inmune (Maynard, 2012, p.2; Butcher y Miles, 2014). Por otra parte, el estrés genera una respuesta inmune que requiere alto consumo de nutrientes y energía que estaban disponibles para el desarrollo de funciones productivas como la conversión alimenticia (Maynard, 2012, p. 2; Eys, 2016). Por lo tanto, los nutrientes son los encargados de

influenciar la respuesta de las aves en presencia de un desafío inmunológico, modificando el desarrollo anatómico de los tejidos linfoides, la producción de moco, la modulación y regulación de procesos inmunes, la síntesis de sustancias inmunológicamente activas, la muerte intracelular de patógenos y la proliferación, activación y movimiento celular (Butcher y Miles, 2014).

La cantidad de energía necesaria para generar una respuesta inmune, varía dependiendo de si actúa el sistema innato o adaptativo. La inmunidad innata es efectiva para la defensa contra patógenos, ya que requiere un bajo costo energético para su desarrollo, sin embargo, necesita altos niveles de energía para ser utilizada. Por otro lado, la inmunidad adaptativa es poco efectiva para la protección frente a patógenos en su primera exposición, pero altamente efectiva en exposiciones posteriores. Requiere altos niveles de energía para su desarrollo, pero niveles bajos para ser utilizada (Klasing, 2007).

Algunos de los nutrientes que se desvían del crecimiento durante una respuesta inmune, son los aminoácidos. Éstos son utilizados para la síntesis de proteínas que permiten a las aves generar una respuesta inmune exitosa. Se encargan de aumentar el número de células linfoides y de anticuerpos. (Butcher y Miles, 2014). Por lo tanto, un déficit de aminoácidos debilita el sistema de defensa (Klasing, 2007).

La cantidad de nutrientes disponibles para el desarrollo de funciones de rendimiento, disminuye aún más cuando existe un gasto energético para la vigilancia del sistema inmune, el mantenimiento de células activadas y la producción de moléculas protectoras; en ausencia de infección o estrés. Es por esto, que los animales deben desarrollar una respuesta inmune óptima únicamente durante una infección virulenta o patogénica y no solo por la presencia de un estimulante del sistema de defensa (inmunomoduladores), evitando así el gasto energético innecesario (Kogut, 2009).

Algunas investigaciones se han enfocado en el estudio de la relación entre la nutrición y la inmunidad, y han propuesto mecanismos por los cuales la dieta influye la inmunidad y la susceptibilidad a una enfermedad infecciosa. No obstante, Klasing (2007) propone como esenciales 6 mecanismos generales que deben ser considerados en la industria avícola, para la formulación comercial de dietas, en un marco balanceado entre inmunidad y productividad. Estos mecanismos se describen a continuación:

Nutrir las células del sistema inmune: los nutrientes son necesarios para la proliferación y el trabajo de las células y proteínas que conforman el sistema inmune. En base a la utilización de la lisina, se ha estimado que durante el desarrollo y mantenimiento del sistema de defensa, el porcentaje de empleo de este aminoácido es bajo en relación al resto del organismo, alcanzando un máximo del 2 %. Solo en la etapa de máxima activación del sistema inmune; es decir, en presencia de una respuesta inmune robusta, es requerido un porcentaje alto de lisina, alrededor de un 10 %. Este costo no es alto por la construcción de una respuesta dada por anticuerpos, sino por la gran cantidad de nutrientes necesarios para construir la respuesta de fase aguda hepática, que tiene función protectora. Cabe indicar que en cuanto a la priorización de nutrientes durante la deficiencia de los mismos, el sistema inmune tiene prioridad en relación al músculo esquelético y la bursa en relación al timo (Klasing, 2007).

Nutrir a los patógenos: los nutrientes presentes en los tejidos del hospedero, también sirven para la proliferación de los patógenos. Si las condiciones son óptimas, la división de los patógenos puede superar a la respuesta inmune. Para impedirlo, es esencial evitar el exceso de algunos nutrientes que son importantes para el crecimiento de los microorganismos patogénicos. Se ha observado que durante una respuesta inmune en los pollos, se produce avidina en el sitio de infección, para el secuestro de la biotina en el plasma y por consiguiente

la disminución de su disponibilidad para los microorganismos, debido a que este compuesto es el primer nutriente limitante para muchos de ellos (Klasing, 2007).

Modificar la respuesta de los leucocitos: ciertos nutrientes según el tipo y cantidad presente, pueden modificar la respuesta de los leucocitos, afectando el umbral de estimulación necesario para generar una respuesta. Así, hay un cambio en el tipo, la duración o la intensidad de la misma. Por lo tanto, un nutriente puede proteger contra un patógeno, pero a la vez aumentar la susceptibilidad a otro. Es decir, la inmunomodulación producida por un nutriente, va a depender del tipo de desafío presente en la población en un tiempo dado (Klasing, 2007).

La función inmunomoduladora de los nutrientes se da a través de varias rutas: mediante la interacción con receptores de los leucocitos que genera una señal mediada por receptor, mediante la acción antioxidante que modifica las señales de transducción de los radicales libres en los leucocitos y/o mediante la alteración de la concentración hormonal captada por los receptores de los glóbulos blancos (Klasing, 2007).

Proteger contra la inmunopatología: algunos nutrientes, como el ácido linoleico, tienen la capacidad de prevenir y modular la inflamación durante una respuesta inmune, sin afectar el propósito de esta última. Por ello, en el curso de una infección, donde el coste energético de la inflamación sistémica afecta al desempeño productivo, es importante proporcionar una terapia nutricional para mejorar la productividad y la calidad del producto (Klasing, 2007).

Influir en la ecología microbiana del intestino: los nutrientes en las dietas, específicamente las fibras, determinan la composición de la microbiota del intestino. A su vez, el reconocimiento por el sistema inmune de los antígenos de dichos microorganismos y de los alimentos

ingeridos, modifican el desarrollo del sistema. Concretamente, el reconocimiento y la respuesta inmune generada, permite la redistribución y la diversificación de los linfocitos, la expansión del GALT, la producción de citoquinas y la generación de respuestas inflamatorias (Klasing, 2007).

Estimular el sistema inmune: algunos nutrientes pueden estimular el sistema de defensa, pero no es recomendable incorporarlos en la dieta permanentemente cuando el enfoque está en el crecimiento, la producción y la salud animal. Es justificable emplear dichos compuestos, sólo en ciertas situaciones en las que se presente el desafío de un patógeno. Se ha comprobado que la estimulación del sistema inmune producido por la dieta antes de la exposición a un patógeno, puede aumentar la respuesta inmune y por ende la resistencia al patógeno, pues produce un efecto adyuvante (Klasing, 2007).

3. Capítulo III: Diseño del plan experimental

Los pollos de engorde del experimento se distribuyeron bajo un diseño de bloques completos al azar de 5 grupos, con 5 repeticiones por grupo y 60 aves por repetición. Los tratamientos consistieron en 4 dietas a las que se les adicionó inmunomoduladores: hidrolizado de camarón o plasma bovino en diferentes estrategias de dosificación y una dieta basal control como se muestra en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Tratamientos realizados en el estudio

Sistema experimental	Detalles descriptivos
Control	Dieta sin inmunomodulador.
PBE1	Dieta adicionada plasma bovino en la estrategia de dosificación 1 (E1).
PBE2	Dieta adicionada plasma bovino en la estrategia de dosificación 2 (E2).
HCE1	Dieta adicionada hidrolizado de camarón en la estrategia de dosificación 1 (E1).
HCE2	Dieta adicionada hidrolizado de camarón en la estrategia de dosificación 2 (E2).

Tabla 2. Concentraciones a utilizar en las estrategias de dosificación de los inmunomoduladores

Fases de desarrollo	Días	Concentración	
		Estrategia de dosificación 1 (E1)	Estrategia de dosificación 2 (E2)
Inicial	1 al 14	5,00 %	2,50 %
De crecimiento	15 al 28	2,50 %	1,50 %
Final	29 al 42	1,50 %	0,50 %

4. Capítulo IV: Procedimientos

4.1. Determinación de la población y la muestra

Para la determinar el tamaño de la muestra se utilizó la siguiente fórmula (Valdivieso, Valdivieso y Valdivieso, 2011):

$$n = \frac{N\sigma^2 Z^2}{(N - 1)e^2 + \sigma^2 Z^2}$$

(Ecuación 1)

Nota: * n es el tamaño de la muestra, N es el tamaño de la población, σ es la desviación estándar de la población, Z es el nivel de confianza y e es el margen de error.

A partir de una población de 1545 individuos, se escogió una muestra de 175 animales para la prueba de biometría hemática e índice de órganos linfoides, empleando un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 6,98 %. Para el análisis del título de anticuerpos se estableció una muestra de 620 individuos, utilizando un nivel de confianza del 95 % y un margen de error del 3,05 %. En todos los casos se consideró una desviación estándar de 0,5. Para el análisis de los parámetros zootécnicos se empleó toda la población.

4.2. Selección de los instrumentos de medición y los procedimientos para la obtención de datos

4.2.1. Ubicación geográfica

El experimento se realizó en la planta de producción de la empresa Integración Avícola Oro ubicada en la parroquia rural de Yaruquí al nororiente de la ciudad de Quito, a una altura de 2 527 m.s.n.m. cuya temperatura anual varía entre los 12 a 28 °C (Gobierno Autónomo Descentralizado de la Parroquia Rural de Yaruquí, 2016).

4.2.2. Manejo de los animales

En el galpón experimental de aproximadamente 180 m² de las instalaciones de la planta, se criaron 1500 pollos de engorde Cobb500 machos, vacunados con el programa de inmunización de la empresa (Tabla 3), desde el 1er hasta el 42do día de edad. La crianza se realizó en presencia de desafío inmunitario, dado por dos factores: ausencia de vacunación para el Síndrome de Cabeza Hinchada y presencia de cama semireutilizada, elaborada con 75 % de cascarilla de arroz reutilizada de reproductoras de 58 semanas, sin tratamiento de compostaje y 25 % de cascarilla de arroz nueva.

Tabla 3. Programa de vacunación para pollos de engorde en la empresa Integración Avícola Oro

Edad del ave (día)	Vacuna	Vía
Incubadora	Marek, Gumboro, Hepatitis y Newcastle.	Inyección <i>in ovo</i>
8	Newcastle, Bronquitis infecciosa y Gumboro.	Óculo nasal
21	Newcastle y Gumboro.	Agua bebida

Los pollos se alimentaron con las dietas formuladas que se presentan en la Tabla 4. La formulación se elaboró mediante el programa *Brill® Formulation*, que relaciona los requerimientos nutricionales ya establecidos para los pollos Cobb500 (Cobb-Vantres, 2012), el aporte nutricional de cada ingrediente seleccionado para la dieta y el mínimo costo de la misma. El agua fue proporcionada *ad libitum* y el alimento fue suministrado diariamente de 06h00 a 17h00 de acuerdo al programa de alimentación propio de la granja, para evitar incidencia y mortalidad por Síndrome Ascítico y una posible modificación en los resultados obtenidos.

Tabla 4. Composición de las dietas experimentales y el contenido nutricional calculado en los distintos días de aplicación

Ingredientes (%)	1 a 14 Días				
	Control	PBE1	PBE2	HCE1	HCE2
Maíz	34,05	35,92	34,39	33,88	33,37
Torta de Soya	34,30	28,30	31,20	29,60	31,90
Arroz	23,40	25,00	25,00	25,00	25,00
Aceite Crudo de Palma	3,70	2,10	2,90	2,60	3,10
Carbonato de calcio	1,50	1,50	1,50	1,60	1,50
Fosfato monocálcico 23%P	1,20	1,00	1,10	0,70	0,90
Vitaminas y minerales ^a	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Cloruro de sodio	0,47	0,11	0,29	0,34	0,40
DL Metionina 99%	0,28	0,19	0,24	0,29	0,28
Sulfato de lisina 54,6%	0,17	-	0,01	0,08	0,12
L-Treonina 98%	0,05	-	-	0,05	0,05
Antifúngico	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloruro de colina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Diclazuril	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Adsorbente de micotoxinas	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Promotor de crecimiento	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Plasma animal ^b	-	5,00	2,50	-	-
Hidrolizado de Camarón ^c	-	-	-	5000	2500
Total	100	100	100	100	100
Análisis nutricional calculado					
Energía metabolizable (Kcal/kg)	3055	3059	3058	3056	3056
Proteína cruda (%)	20,98	22,14	21,45	21,43	21,22
Proteína digestible (%)	18,57	19,82	19,07	19,09	18,82
Lisina digestible, (%)	1,14	1,22	1,14	1,14	1,14
Metionina digestible (%)	0,58	0,51	0,54	0,59	0,59
Metionina+Cisteína digestible (%)	0,86	0,86	0,86	0,86	0,86
Treonina digestible (%)	0,75	0,82	0,75	0,75	0,75
Triptófano (%)	0,24	0,27	0,25	0,22	0,23
Grasa (%)	6,11	4,34	5,30	5,19	5,58
Fibra cruda (%)	2,93	2,76	2,82	2,73	2,81
Ca (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98
Fósforo disponible (%)	0,51	0,49	0,50	0,50	0,49
Na (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

(Continuación de la tabla)

Ingredientes (%)	15 a 28 Días				
	Control	PBE1	PBE2	HCE1	HCE2
Maíz	55,50	58,20	57,31	56,77	56,50
Torta de Soya	26,31	22,47	23,80	23,60	24,50
Arroz	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Aceite Crudo de Palma	3,80	2,70	3,10	3,10	3,30
Carbonato de calcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Fosfato monocálcico 23%P	0,90	1,00	1,00	0,70	0,80
Vitaminas y minerales ^a	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Cloruro de sodio	0,48	0,34	0,40	0,42	0,44
DL Metionina 99%	0,26	0,22	0,24	0,26	0,26
Sulfato de lisina 54,6%	0,29	0,17	0,23	0,22	0,26
L-Treonina 98%	0,08	0,03	0,05	0,07	0,08
Antifúngico	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloruro de colina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Diclazuril	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Adsorbente de micotoxinas	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Promotor de crecimiento	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Plasma animal ^b	-	2,50	1500	-	-
Hidrolizado de Camarón ^c	-	-	-	2500	1500
Total	100	100	100	100	100
Análisis nutricional calculado					
Energía metabolizable (Kcal/kg)	3141	3138	3139	3143	3141
Proteína cruda (%)	18,00	18,23	18,06	18,45	18,21
Proteína digestible (%)	16,06	16,36	16,16	16,54	16,29
Lisina digestible, (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Metionina digestible (%)	0,51	0,48	0,50	0,52	0,52
Metionina+Cisteína digestible (%)	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Treonina digestible (%)	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Triptófano (%)	0,19	0,20	0,20	0,19	0,19
Grasa (%)	6,77	5,73	6,10	6,20	6,35
Fibra cruda (%)	3,17	3,11	3,13	3,09	3,12
Ca (%)	0,95	0,96	0,96	0,93	0,94
Fósforo disponible (%)	0,44	0,45	0,46	0,45	0,45
Na (%)	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18

(Continuación de la tabla)

Ingredientes (%)	29 a 42 Días				
	Control	PBE1	PBE2	HCE1	HCE2
Maíz	64,18	65,13	64,56	65,46	64,51
Torta de Soya	27,70	25,90	27,10	25,80	27,10
Arroz	-	-	-	-	-
Aceite Crudo de Palma	4,30	3,80	4,10	3,60	4,10
Carbonato de calcio	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
Fosfato monocálcico 23%P	0,70	0,80	0,70	0,60	0,70
Vitaminas y minerales ^a	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
Cloruro de sodio	0,54	0,45	0,51	0,50	0,52
DL Metionina 99%	0,21	0,19	0,21	0,21	0,21
Sulfato de lisina 54,6%	0,15	0,06	0,12	0,12	0,14
L-Treonina 98%	0,04	-	0,03	0,04	0,04
Antifúngico	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Cloruro de colina	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Diclazuril	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Adsorbente de micotoxinas	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Promotor de crecimiento	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Plasma animal ^b	-	1,50	0,50	-	-
Hidrolizado de Camarón ^c	-	-	-	1500	0,50
Total	100	100	100	100	100
Análisis nutricional calculado					
Energía metabolizable (Kcal/kg)	3182	3178	3181	3180	3182
Proteína cruda (%)	18,31	18,58	18,42	18,51	18,37
Proteína digestible (%)	16,51	16,83	16,63	16,74	16,59
Lisina digestible, (%)	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Metionina digestible (%)	0,47	0,45	0,47	0,48	0,48
Metionina+Cisteína digestible (%)	0,74	0,74	0,74	0,74	0,74
Treonina digestible (%)	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Triptófano (%)	0,19	0,20	0,20	0,19	0,19
Grasa (%)	7,64	7,15	7,45	7,04	7,47
Fibra cruda (%)	3,37	3,33	3,37	3,33	3,36
Ca (%)	0,85	0,86	0,85	0,84	0,85
Fósforo disponible (%)	0,41	0,43	0,41	0,42	0,42
Na (%)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

Nota: ^a La premezcla completa aporta por cada kg con: vitamina A 7,3 MIU; vitamina D₃ 3,7 MIU; vitamina E 36,6 KIU; vitamina K 2,3 g; tiamina 2,3 g; Riboflavina 5,5 g; Piridoxina 2,7 g; niacina 38 g; ácido fólico 1,3 g; Cianocobalamina 10,7 mg; ácido pantoténico 10 g; biotina 86.7 mg; Cu 9 g; I 0.67g; Fe 33.5 g; Mn 60 g; Se 0,22 g; Zn 60 g y vehículo csp 1 kg. ^b Plasma bovino (Prolechon®). ^c Hidrolizado de Camarón (HP1S1®).

PBE1 = plasma bovino en estrategia de concentración 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de concentración 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de concentración 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de concentración 2.

Los 60 pollos seleccionados para cada repetición, se agruparon según su peso de tal forma que cada grupo presentó un peso total de animales similar. Las repeticiones se dispusieron dentro de los corrales del galpón, de modo que todos los tratamientos se encuentren en las mismas condiciones ambientales (Figura 1), especialmente de luz y ventilación; a excepción de la temperatura suministrada por criadoras, que fue controlada diariamente según las necesidades de cada etapa de crecimiento de los pollos (Tabla 5). Se empleó una disposición específica de los animales hasta la segunda semana de edad y otra a partir de la tercera semana hasta el final de la experimentación, para brindar a los animales el espacio necesario en el transcurso de su crecimiento.

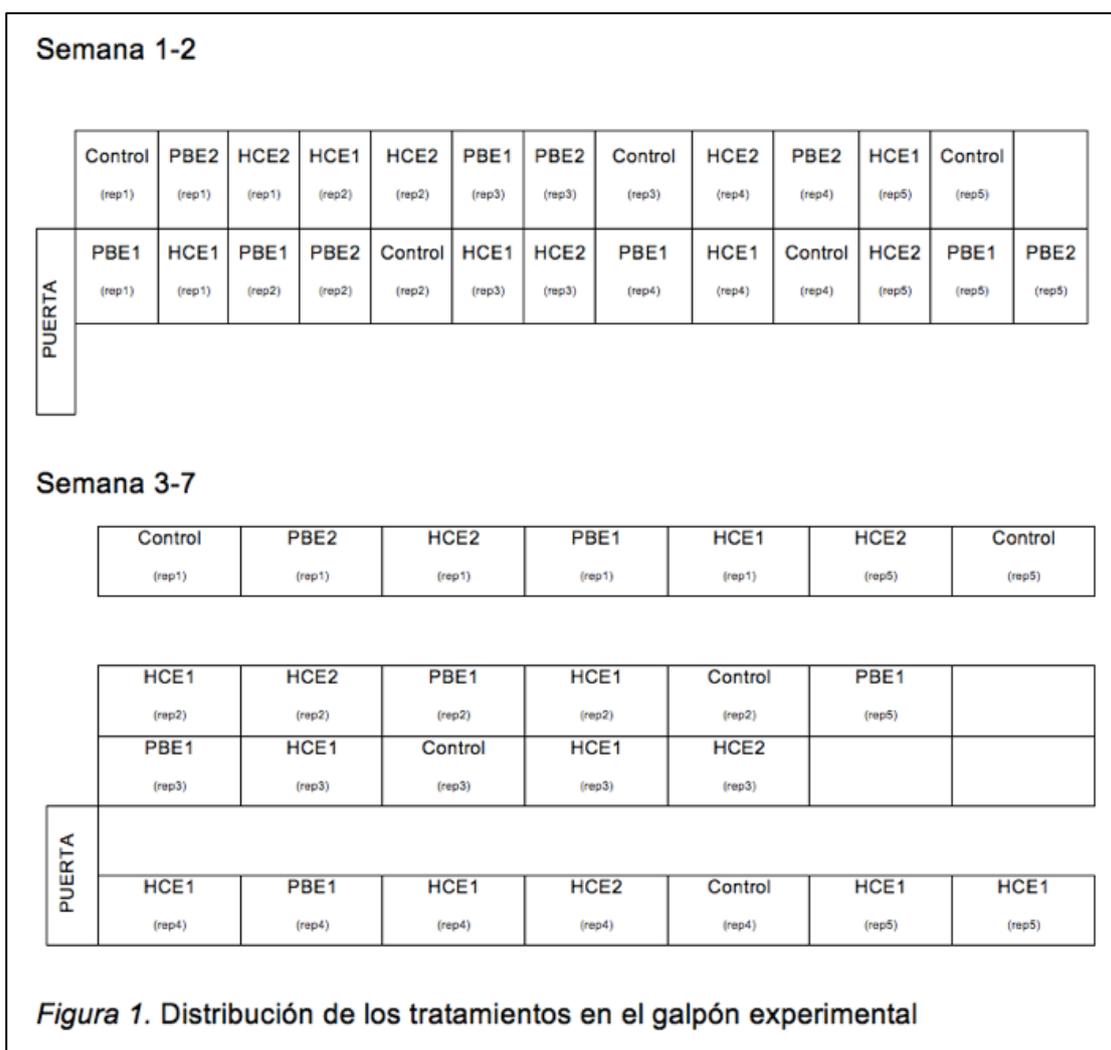


Tabla 5. Temperaturas empleadas en el ciclo de engorde de las aves

Edad del ave (Días)	Temperatura (°C)
1 a 7	31
8 a 14	29
15 a 21	27
22 a 28	25
29 a 35	23
36 a 42	21
42 a 49	20 (no se utilizaron criadoras)

4.2.3. Obtención de las muestras sanguíneas

El primer día de vida se seleccionaron 45 pollos al azar de los 1545 recibidos. Se procedió al sacrificio de los animales mediante un corte con tijera en la vena yugular (Abdel-Fattah et al., 2008). Aproximadamente, 2 mL de sangre de 20 animales se recolectó por goteo en tubos de vidrio estériles de 4mL sin anticoagulante y de los 25 animales restantes, se tomó el mismo volumen de sangre pero en tubos con anticoagulante (EDTA).

A partir del 7mo día de vida y cada 7 días durante 6 semanas, se escogieron en ayunas 20 aves por tratamiento (4 por repetición) con pesos similares, para extraer las muestras sanguíneas. Para la primera y la segunda semana, se empleó el método de corte de la vena yugular y la recolección por goteo descrito anteriormente. A partir de la tercera semana, la extracción se realizó por dos métodos distintos. A una ave por repetición, se le tomó la muestra por el método de corte de la vena yugular y a las 3 restantes, se les tomó la muestra mediante punción de la vena braquial. Inicialmente con jeringas de insulina y a partir de la cuarta semana con jeringas de 3 mL y agujas con una longitud de 1 " y un diámetro de 0,4 mm.

El volumen de sangre extraído de cada muestra, se colocó en tubos de vidrio limpios sin anticoagulante y se dejó en reposo a temperatura ambiente hasta que se formó el coágulo. Posteriormente, los tubos se mantuvieron en una posición inclinada y en refrigeración por 48 horas, para la separación total del suero. Transcurrido ese tiempo, se extrajo 1 mL de suero y se congeló hasta el momento del análisis. Cabe especificar, que parte de las muestras también se utilizaron para realizar la prueba de biometría hemática. Puntualmente se seleccionó y colocó en tubos con anticoagulante parte del volumen de la sangre extraída de una muestra por repetición; es decir, 5 por tratamiento.

En el Laboratorio de Integración Avícola Oro, el suero almacenado se descongeló a temperatura ambiente para la cuantificación de anticuerpos (IgG) contra el SHS, mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, de sus siglas en inglés *enzyme linked immunosorbent assay*) indirecto, a través del empleo del kit IDEXX APV Ab test (IDEXX, Maine, E.E.U.U.). La prueba se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por el kit. Los resultados se obtuvieron por medio de la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 650 nm mediante el empleo del equipo *Biotech elx800* y el programa *X-Check*. Las muestras de sangre con anticoagulante se llevaron al laboratorio Biolaboratorio Immunobiological ubicado en la ciudad de Quito, para realizar la biometría hemática. Los parámetros sanguíneos se determinaron mediante la contabilización de las células sanguíneas (linfocitos, monocitos, heterófilos y relación heterófilo/linfocito (H/L)) empleando el microscopio óptico. Se ejecutó un frotis de las muestras de sangre, posteriormente se procedió a realizar la tinción Romanowsky y a la identificación y conteo por observación.

4.2.4. Disección de los órganos linfoides y cálculo de índices

El primer día de vida y cada 7mo día durante 6 semanas, se pesaron y sacrificaron 5 pollos por tratamiento uno por repetición, seleccionados previamente en el muestreo sanguíneo. El sacrificio se realizó por aturdimiento eléctrico de bajo voltaje y corte en la vena yugular para el desangrado del

animal. Posteriormente, se procedió a la extracción de los órganos linfoides. La piel se retiró de la región abdominal con un bisturí y la pechuga se separó en orientación caudal a craneal para exponer las vísceras abdominales y torácicas (Moreno et al., 2007). Se extrajo el timo, ubicado sobre el cuello entre el esófago y la tráquea, el bazo localizado en la cavidad abdominal cerca de la molleja y la bursa situada en la cavidad pélvica sobre la porción dorsal de la cloaca (León y Velázquez, 2013). Los órganos se pesaron y se obtuvieron los índices morfométricos de los mismos mediante las siguientes fórmulas (Perozo-Marín et al., 2004):

$$\text{Índice del órgano linfoide} = \frac{\text{peso del órgano inmune (g)}}{\text{peso vivo del animal (g)}} \times 1000$$

(Ecuación 2)

$$\text{Relación entre órganos linfoides} = \frac{\text{peso del órgano inmune 1 (g)}}{\text{peso del órgano inmune 2 (g)}}$$

(Ecuación 3)

4.2.5. Determinación de los parámetros zootécnicos

El 1er día de vida y todos los días previos al muestreo, se pesaron en conjunto los animales de cada bloque, para obtener el peso vivo total de cada grupo experimental. Antes de proceder a pesar a los animales, se les retiró el agua y se les mantuvo durante 12 horas en condiciones de ayuno. A partir del 7mo día de vida y cada 7 días, se pesó el residuo del alimento de cada réplica. Adicionalmente, se pesó diariamente y por separado a los animales muertos de cada repetición y se determinó en ese momento el peso del residuo del alimento de esa unidad experimental. Adicionalmente los datos recolectados se emplearon para calcular la mortalidad durante el ciclo de engorde de cada tratamiento, sin tener en cuenta los pollos sacrificados para el muestreo de sangre y para la disección de los órganos linfoides. Además, los datos obtenidos se utilizaron para determinar el desempeño (consumo de alimento,

ganancia de peso y conversión alimenticia) en la fase inicial (1era y 2da semanas del experimento), en la fase de crecimiento (3era y 4ta semanas) y en la fase final (5ta y 6ta semanas) de los pollos por cada tratamiento. El cálculo de dichos parámetros se realizó empleando las siguientes fórmulas (Sánchez et al., 2005; Bautista y Castillo, 2011):

$$\% \text{ Mortalidad} = \frac{\# \text{ de animales muertos por repetición}}{\# \text{ total inicial de animales vivos por repetición}} \times 100$$

(Ecuación 4)

$$\text{Consumo de alimento} = \frac{\sum \text{ cantidad de alimento/día/semana/ repetición} * - \text{ residuo final del alimento semanal}}{\# \text{ animales/semana/ repetición}}$$

(Ecuación 5)

Nota: *La cantidad de alimento diario varía de acuerdo a la tabla de consumo, que depende del número y la edad de los animales en cada unidad experimental.

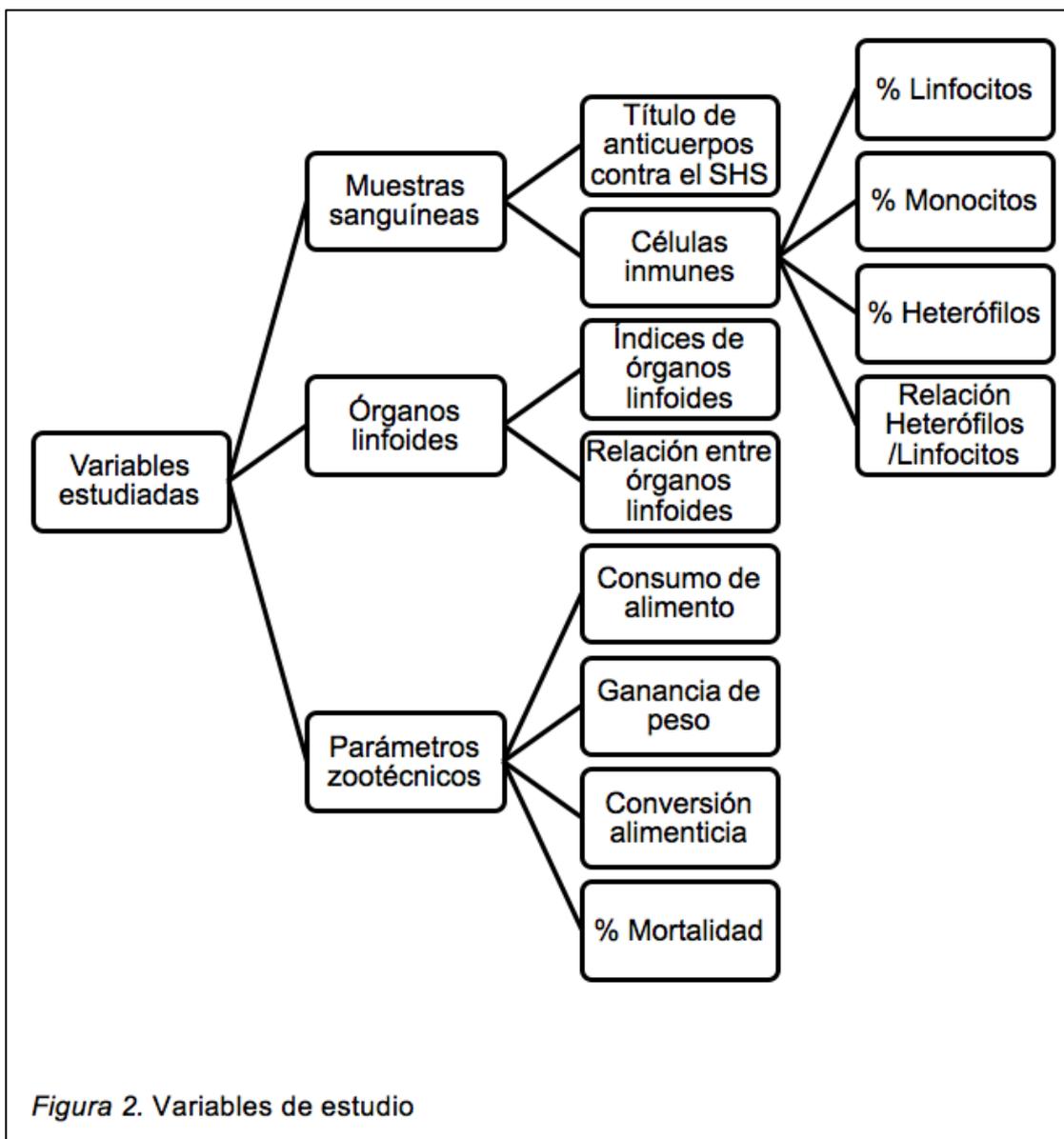
$$\text{Ganancia de peso promedio} = \text{peso vivo final promedio de la repetición} - \text{peso vivo inicial promedio de la repetición}$$

(Ecuación 6)

$$\text{Conversión alimenticia} = \frac{\text{consumo de alimento promedio de la repetición}}{\text{ganancia de peso promedio de la repetición}}$$

(Ecuación 7)

Nota: Los resultados obtenidos con las fórmulas para determinar el desempeño, fueron corregidos con los datos registrados de los animales muertos (no se muestra en las fórmulas las correcciones).



4.3. Prueba de confiabilidad de datos

En el diseño experimental de bloques completos al azar se tomó como variable independiente a los tratamientos y como variable dependiente a todos los parámetros de inmunidad y zootécnicos estudiados.

De cada parámetro inmunológico y zootécnico se comprobó la normalidad y homogeneidad mediante asimetría y prueba Shapiro Wilk (Shapiro y Wilk, 1965). Únicamente, los datos del porcentaje de linfocitos y de heterófilos y el

consumo de alimento representado en fases y en el ciclo de engorde se ajustaron a esta prueba. Para las variables que no cumplieron las premisas previamente descritas, se realizó una transformación de datos logarítmica o de raíz cuadrada. Los índices de los órganos linfoides, la relación heterófilos/linfocitos y la conversión alimenticia por fases y en el ciclo de engorde se transformaron con la primera operación matemática. El porcentaje de monocitos, la mortalidad y la ganancia de peso en fases y en el ciclo de engorde con la segunda. Tras verificar la asimetría y la prueba de Shapiro Wilk, dichas variables transformadas cumplieron las premisas de normalidad y homogeneidad. A los parámetros mencionados anteriormente, se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para el diseño experimental de bloques completos al azar. Además, se hizo el análisis de comparación múltiple de medias aplicando la prueba Tukey (Tukey, 1949).

Para los datos que tras la transformación no cumplieron al menos una de las premisas establecidas, se realizó la prueba de Kruskal Wallis (Kruskal y Wallis, 1952). Posteriormente, se aplicó una comparación múltiple de medias aritméticas aplicando la prueba de Dunn Bonferroni (Dunn, 1961). Para el parámetro de mortalidad se realizó una prueba Log Rank para comparar la supervivencia entre tratamientos. El análisis estadístico se llevó a cabo empleando el paquete estadístico SPSS versión 23.

5. Capítulo V: Resultados

5.1. Título de anticuerpos para *Pneumovirus aviar*

Los resultados de la prueba ELISA se muestran en la Figura 3, donde se puede apreciar que la disminución de los títulos de anticuerpos para *Pneumovirus aviar* fue similar en el grupo control y en el tratamiento PBE1, con una caída brusca hasta alcanzar valores mínimos al 7mo día. Esta situación se mantuvo hasta el final de la experimentación. Los títulos de anticuerpos estimulados por los tratamientos con HCE1, HCE2 y PBE2 se redujeron de forma paulatina en comparación con el grupo control y el tratamiento PBE1, hasta llegar a su nivel mínimo en el día 14. Entre estos últimos tratamientos, el grupo con PBE2 fue el que mejor título de anticuerpos presentó durante el tiempo de evaluación.

Al observar los resultados en el tiempo, los títulos de anticuerpos de los tratamientos no presentaron una diferencia significativa ($P > 0,05$) en los días 1, 14, 28, 35 y 42, como se muestra en la Tabla 6. Existieron diferencias significativas en los días 7 y 21 ($P < 0,05$). En el día 7, PBE2 y HCE1 fueron estadísticamente similares pero diferentes en relación al grupo control. Para el día 21 solo el PBE2 presentó diferencia con respecto al grupo control ($P < 0,05$).

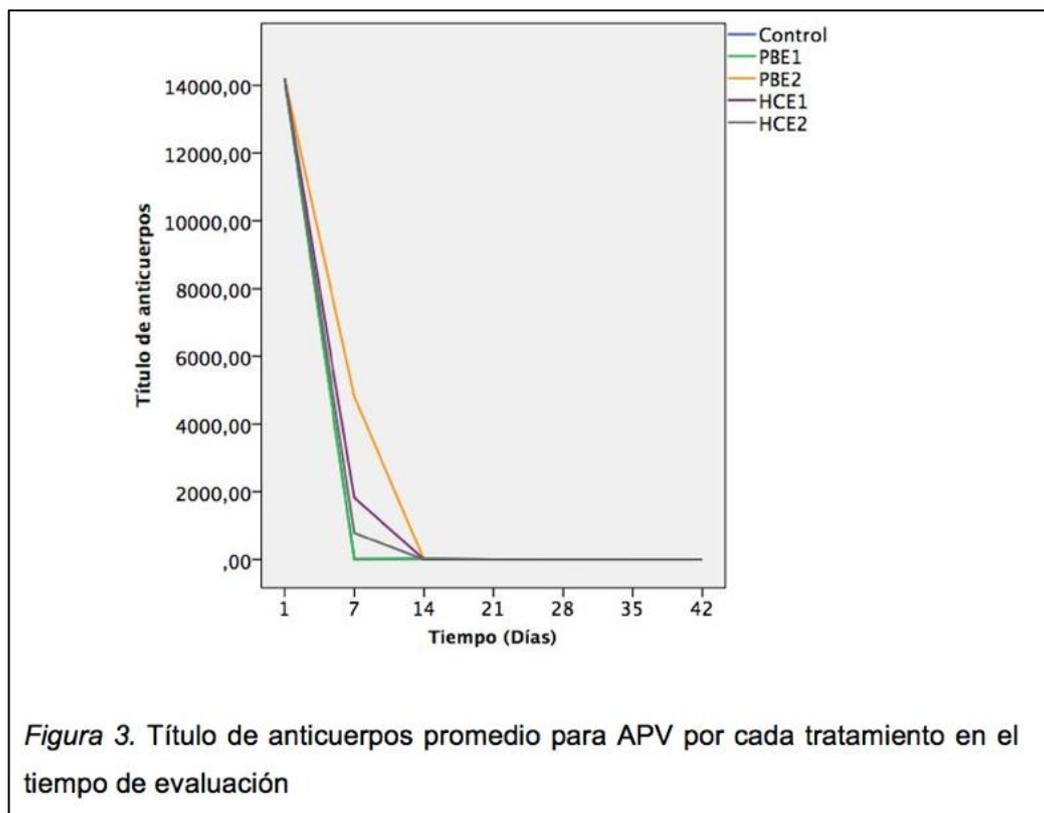


Tabla 6. Título de anticuerpos promedio para APV y Kruskal Wallis por cada tratamiento en el tiempo de evaluación

Tiempo (Días)	Título de anticuerpos					Valor <i>P</i>
	Control	PBE1	PBE2	HCE1	HCE2	
1	14203	14203	14203	14203	14203	NS
7	18,72	5,50	4635,77	1741,98	760,66	1,87E-08 ^{β, γ, ε, ζ, η}
14	27,41	20,48	6,14	8,47	3,73	NS
21	1,00	1,32	4,51	1,26	1,00	2,14E-03 ^{β, ε, θ, ι}
28	1,21	1,59	1,00	1,00	1,00	NS
35	1,24	1,00	1,66	1,00	1,67	NS
42	1,54	1,00	1,00	1,00	1,54	NS

Nota: Los valores representan la media geométrica de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por 20 pollos de engorde. NS = no significativo a un valor $P > 0,05$; β = diferencia significativa entre control y PBE2; γ = diferencia significativa entre control e HCE1; ϵ = diferencia significativa entre PBE1 y E2; ζ = diferencia significativa entre PBE1 e HCE1; η = diferencia significativa entre PBE1 e HCE2; θ = diferencia significativa entre PBE2 e HCE1; ι = diferencia significativa entre PBE2 e HCE2.

PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

5.2. Biometría hemática

Al analizar los valores obtenidos para los porcentajes de linfocitos (Figura 4A), se observó una tendencia creciente en todos los tratamientos hasta el día 7. A partir de ese momento, el porcentaje de linfocitos disminuyó en todos los grupos experimentales hasta el día 14, exceptuando el tratamiento HCE2 que continuó con la tendencia creciente hasta el día 28. A partir del día 14 el porcentaje de linfocitos aumentó, tanto en el grupo control, como en los tratamientos: PBE1, PBE2 y HCE1. En la etapa final del ciclo de engorde el porcentaje de linfocitos disminuyó en todos los grupos experimentales y en el grupo control. Cabe destacar, que durante casi todo el tiempo de experimentación el grupo control presentó valores inferiores comparados con los grupos tratados. El tratamiento HCE2 mostró los porcentajes más elevados de linfocitos en comparación con el resto de los grupos tratados.

El análisis estadístico (Tabla 7) arrojó diferencias significativas para el porcentaje de linfocitos en los días 7, 14 y 42 ($P < 0,05$). Se detectaron diferencias en el día 7 entre el control y el tratamiento PBE2, en el día 14 entre el control y los tratamientos PBE2 y HCE2 y en el día 42 entre el grupo control y el tratamiento HCE1 y los tratamientos PB en ambas estrategias de dosificación. En todos los casos porque los tratamientos experimentales mostraron valores superiores al control.

El porcentaje de monocitos, representados en la Figura 4B, mostró inicialmente una tendencia creciente tanto en el grupo control como en los tratamientos con PB, siendo el control el que mostró porcentajes promedio superiores en relación a los otros 2 grupos mencionados hasta el día 14. En los grupos tratados con HC, el porcentaje de monocitos disminuyó durante los primeros 14 días, siendo en el grupo HCE2 en el que se evidenció un mayor descenso. A partir del día 14 hasta el día 28, se observó un ascenso paulatino de la variable en ambos tratamientos. Tras el ascenso observado en el grupo control y los tratamientos con PB, el porcentaje de monocitos decreció hasta el día 21, a partir del cual, los tratamientos con PB y HCE2 experimentaron un incremento

hasta el día 35 y posteriormente se observó una nueva disminución (Figura 4B). El control y el tratamiento HCE1 mostraron un comportamiento similar. Hasta la mitad del ciclo de engorde, el grupo control presentó un porcentaje de monocitos mayor comparado con el resto de los grupos tratados. A partir del día 35, el tratamiento PBE2 mostró los mejores resultados con respecto a este parámetro en comparación con los demás grupos.

En el análisis estadístico, solo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el día 7, entre el control y el HCE2 (Tabla 7).

Al analizar el porcentaje de los heterófilos y la relación heterófilos/linfocitos (H/L) representados en las Figuras 4C y 4D respectivamente, se observó que inicialmente todos los tratamientos mostraron una tendencia decreciente. Esta tendencia se mantuvo hasta el día 7 para los tratamientos con PB y el HCE1, para luego evidenciar un leve aumento hasta el día 14 y otro posterior descenso hasta el día 28. Con respecto al grupo control y el HCE2 la tendencia decreciente se mantuvo constante hasta el día 21 para el primero y hasta el día 28 para el segundo. A partir de esos momentos, el valor promedio de porcentaje de heterófilos y la relación H/L aumentó para todos los tratamientos y el grupo control. Sin embargo, desde el día 35 los valores para los tratamientos con PB y el HCE1 permanecieron constantes. Al final del ciclo de engorde, solo el grupo control presentó un porcentaje de heterófilos mayor que los grupos tratados.

Únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los días 7 y 42 ($P < 0,05$) para ambos parámetros. En el día 7, la diferencia se observó entre el grupo control y el tratamiento PBE2 (Tabla 7) y en el día 42 entre el grupo control y PBE1, PBE2 y HCE1 (Tabla 8).

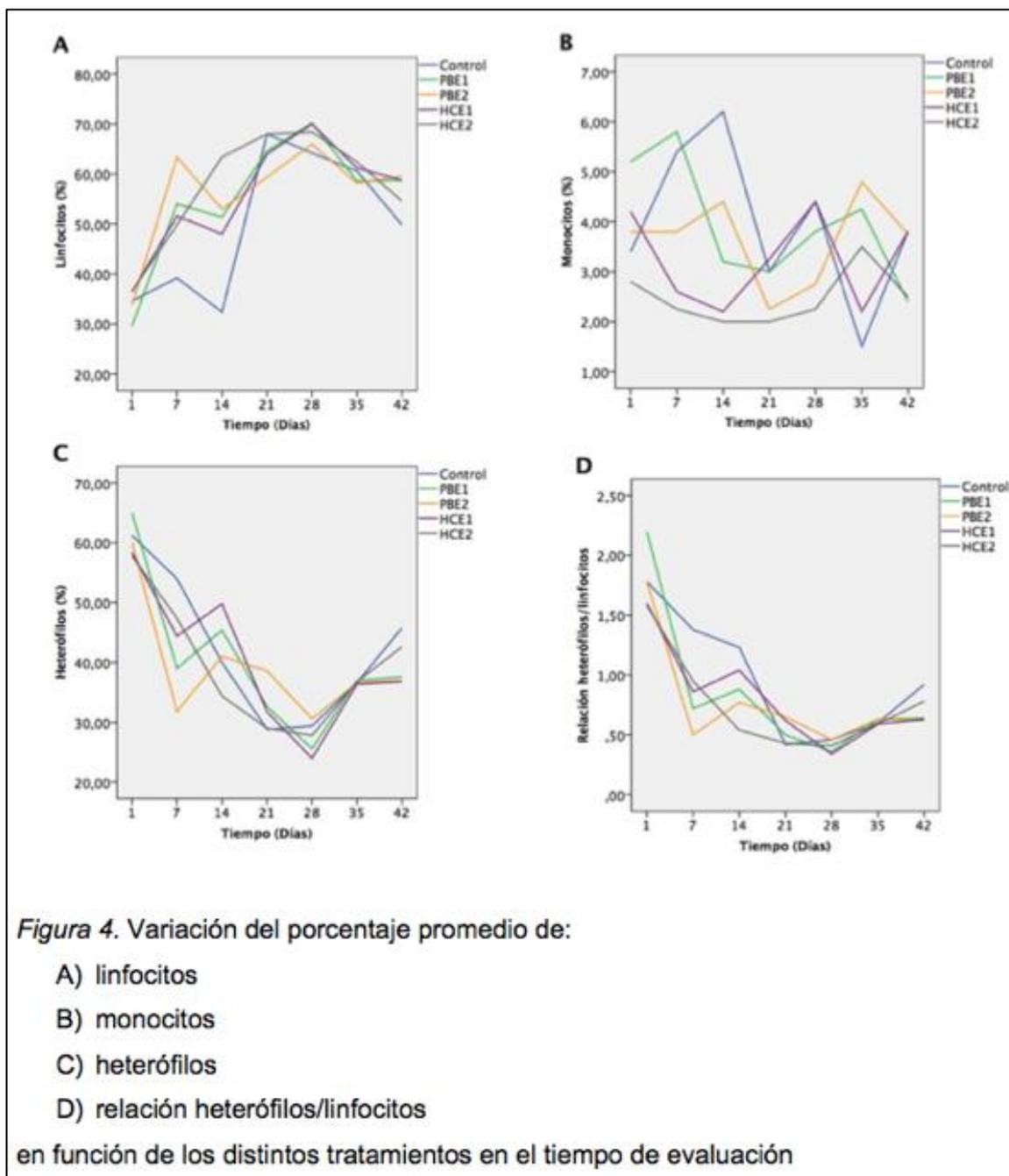


Tabla 7. Porcentajes de los linfocitos, los monocitos y los heterófilos en función de los distintos tratamientos en el tiempo de evaluación

Tratamiento/ Tiempo (Días)		1	7	14	21	28	35	42
Linfocitos (%)	Control	34,60 ± 5,32	39,20 ± 7,29 ^b	32,40 ± 21,10 ^b	68,00 ± 7,45	64,20 ± 6,87	60,60 ± 3,29	49,80 ± 4,55 ^b
	PBE1	29,60 ± 5,59	54,00 ± 13,55 ^{ab}	51,40 ± 5,13 ^{ab}	64,60 ± 4,34	70,20 ± 8,01	58,60 ± 3,78	58,80 ± 4,15 ^a
	PBE2	33,80 ± 7,79	63,40 ± 4,45 ^a	53,00 ± 3,94 ^a	59,40 ± 3,65	66,00 ± 8,94	58,20 ± 2,49	59,60 ± 5,90 ^a
	HCE1	36,40 ± 4,39	51,60 ± 11,15 ^{ab}	48,00 ± 3,39 ^{ab}	51,20 ± 29,07	70,00 ± 7,21	61,20 ± 3,70	58,80 ± 2,77 ^a
	HCE2	36,60 ± 5,13	49,80 ± 6,38 ^{ab}	63,40 ± 4,22 ^a	68,00 ± 8,75	68,40 ± 6,27	62,40 ± 2,51	54,60 ± 6,35 ^{ab}
	Valor <i>P</i>	NS	0,02	0,005	NS	NS	NS	0,02
Monocitos (%)	Control	3,40 ± 2,51	5,40 ± 1,67 ^a	6,20 ± 3,83	3,75 ± 2,87	4,40 ± 3,51	1,50 ± 0,58	3,80 ± 1,64
	PBE1	5,20 ± 2,39	5,80 ± 2,77 ^a	3,20 ± 2,86	3,00 ± 2,31	3,80 ± 2,77	4,25 ± 1,50	2,40 ± 1,14
	PBE2	3,80 ± 1,79	3,80 ± 2,49 ^{ab}	4,40 ± 1,64	2,25 ± 0,96	2,75 ± 0,50	4,80 ± 2,77	3,75 ± 2,99
	HCE1	4,20 ± 2,28	2,60 ± 1,52 ^{ab}	2,20 ± 1,64	3,25 ± 2,22	4,40 ± 2,19	2,20 ± 1,64	3,80 ± 1,79
	HCE2	2,80 ± 2,39	2,25 ± 1,50 ^b	2,00 ± 1,87	2,00 ± 1,00	2,25 ± 0,96	3,50 ± 2,52	2,50 ± 1,91
	Valor <i>P</i>	NS	0,01	NS	NS	NS	NS	NS
Heterófilos (%)	Control	61,60 ± 6,30	54,00 ± 8,09 ^a	40,00 ± 24,25	28,80 ± 4,87	29,40 ± 8,59	36,60 ± 2,30	45,80 ± 4,38 ^a
	PBE1	65,00 ± 5,83	39,00 ± 15,26 ^{ab}	45,40 ± 6,54	32,60 ± 4,77	25,60 ± 8,62	37,00 ± 3,08	37,60 ± 3,78 ^b
	PBE2	60,00 ± 1,79	31,80 ± 5,40 ^b	41,00 ± 7,97	38,60 ± 2,41	30,60 ± 7,83	36,60 ± 2,51	37,00 ± 4,69 ^b
	HCE1	58,40 ± 3,85	44,40 ± 11,52 ^{ab}	49,80 ± 4,66	31,75 ± 4,35	24,00 ± 6,52	36,40 ± 2,97	36,80 ± 3,70 ^b
	HCE2	57,80 ± 5,07	47,40 ± 5,59 ^{ab}	34,40 ± 3,51	29,00 ± 8,49	27,80 ± 7,22	36,80 ± 4,21	42,60 ± 6,31 ^{ab}
	Valor <i>P</i>	NS	0,04	NS	NS	NS	NS	0,001

Nota: Los valores representan la media aritmética ± DE (desviación estándar) de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por 1 pollo de engorde. NS = no significativo a un valor *P* > 0,05. Las letras indican los subgrupos de significancia al que pertenecen los tratamientos en cada tiempo.

PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

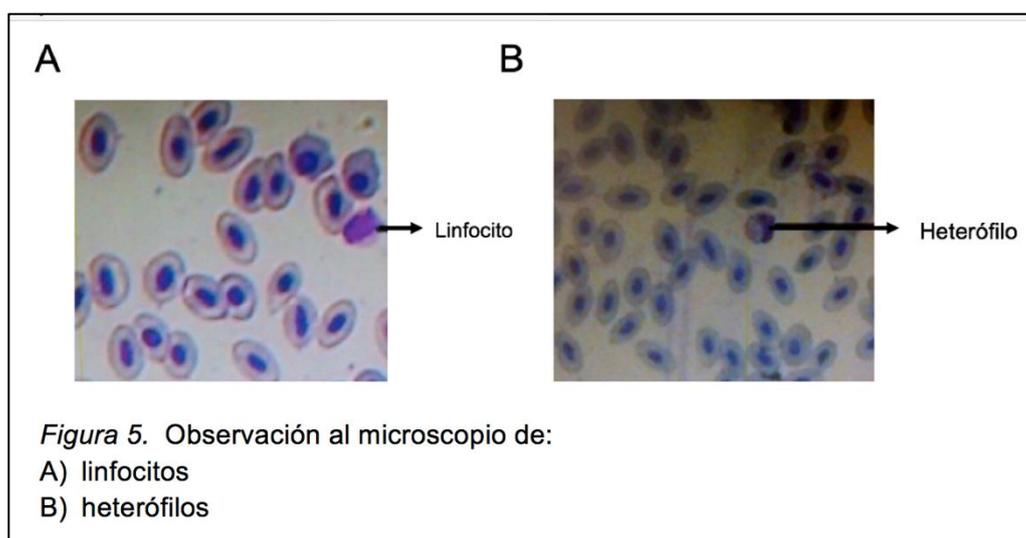
Tabla 8. Relación de los heterófilos/linfocitos en función de los distintos tratamientos en el tiempo de evaluación

Relación Heterófilos /Linfocitos	Tratamiento /Tiempo (Días)	1	7	14	21	28	35	42
	Control	1,78 ± 0,48	1,38 ± 0,48 ^a	1,23 ± 0,78	0,42 ± 0,13	0,46 ± 0,18	0,60 ± 0,06	0,92 ± 0,17 ^a
PBE1	2,20 ± 0,75	0,72 ± 0,50 ^{ab}	0,88 ± 0,21	0,50 ± 0,10	0,36 ± 0,17	0,63 ± 0,09	0,64 ± 0,11 ^b	
PBE2	1,78 ± 0,88	0,50 ± 0,12 ^b	0,77 ± 0,17	0,65 ± 0,08	0,46 ± 0,17	0,63 ± 0,06	0,62 ± 0,14 ^b	
HCE1	1,60 ± 0,31	0,86 ± 0,40 ^{ab}	1,04 ± 0,22	0,62 ± 0,24	0,34 ± 0,13	0,59 ± 0,08	0,63 ± 0,09 ^b	
HCE2	1,58 ± 0,32	0,95 ± 0,25 ^{ab}	0,54 ± 0,09	0,43 ± 0,17	0,41 ± 0,14	0,59 ± 0,07	0,78 ± 0,19 ^{ab}	
Valor P	NS	0,034	NS	NS	NS	NS	0,000	

Nota: Los valores representan la media aritmética ± DE (desviación estándar) de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por 1 pollo de engorde. NS = no significativo a un valor $P > 0,05$. Las letras indican los subgrupos de significancia al que pertenecen los tratamientos en cada tiempo.

PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

En la Figura 5 se muestra la observación al microscopio de los linfocitos y heterófilos.



5.3. Índices morfométricos de los órganos linfoides

Los órganos linfoides a partir de los cuales se obtuvieron los índices morfométricos se presentan en la Figura 6. Los índices morfométricos que

relacionan el peso de los órganos linfoides con el peso vivo se detallan en la Tabla 9. El índice peso bursa / peso vivo aumentó para los tratamientos en los primeros 21 días. Posteriormente, se detectó una disminución considerable al final del ciclo de engorde, a excepción del HCE1 en el que aumentó a partir del día 35. Los tratamientos HCE2 y PBE1 presentaron valores promedio mayores que los del control desde el día 14 y el día 21 hasta el final del ciclo de engorde, respectivamente. Los tratamientos restantes no presentaron una tendencia definida en relación al grupo control, sus valores fluctuaron de mayor a menor durante toda la experimentación. El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos para este índice en los diferentes intervalos de tiempo.

En el índice peso timo / peso vivo ningún tratamiento mostró una evolución similar en el tiempo, aumentando y disminuyendo durante todo el ciclo de engorde. El HCE1 disminuyó en el tiempo, en tanto que el PBE1 aumentó. En general, solo los valores del HCE2 fueron superiores al control en todo el experimento. El análisis estadístico reveló que existieron diferencias significativas en el día 35 ($P < 0,05$), entre el control y el PBE1.

El índice peso bazo / peso vivo para el grupo control y del PBE1, disminuyó hasta el día 14. A partir de ahí, los valores en ambos tratamientos aumentaron hasta el final del ciclo de engorde. Asimismo, hubo disminución de los valores del HCE2 hasta el día 21, punto en el que empezó el ascenso del índice hasta el día 28 donde comenzó nuevamente su descenso. Por otra parte, el HCE1 tuvo una tendencia creciente hasta el día 28 y posteriormente disminuyó hasta el día 35, donde presentó nuevamente un aumento hacia el final del ciclo de engorde, aunque ahí sus valores promedio fueron menores que los del control. El PBE2 también aumentó hasta el día 14, pero luego mostró una tendencia decreciente hasta el día 21 con valores menores que los del grupo control. A partir ahí, sus valores promedios aumentaron hasta ser mayores que el control y el PBE1. El análisis estadístico reveló que no existieron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9. Índice morfométrico de la bursa, el timo y el bazo en función de los distintos tratamientos en el tiempo de evaluación

Tratamiento/ Tiempo (Días)		7	14	21	28	35	42
Peso bursa / Peso vivo	Control	1,87 ± 0,40	2,19 ± 0,35	1,93 ± 0,36	1,82 ± 0,44	1,89 ± 0,59	1,22 ± 0,56
	PBE1	1,77 ± 0,59	1,96 ± 0,36	2,03 ± 0,25	1,98 ± 0,39	1,93 ± 0,53	1,47 ± 0,25
	PBE2	1,58 ± 0,54	1,94 ± 0,52	2,10 ± 0,59	1,50 ± 0,37	2,37 ± 0,06	1,84 ± 0,60
	HCE1	2,02 ± 0,53	2,01 ± 0,64	2,43 ± 0,61	2,02 ± 0,42	1,66 ± 0,37	1,84 ± 0,40
	HCE2	1,46 ± 0,47	2,43 ± 0,56	2,22 ± 0,39	2,06 ± 0,54	2,22 ± 0,21	1,44 ± 0,38
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Peso timo / Peso vivo	Control	5,40 ± 1,89	4,09 ± 0,42	5,14 ± 1,25	5,65 ± 0,50	3,59 ± 1,06 ^b	4,99 ± 1,22
	PBE1	4,35 ± 1,49	4,75 ± 0,97	4,72 ± 1,58	5,61 ± 1,42	5,37 ± 0,42 ^a	4,91 ± 0,57
	PBE2	5,18 ± 1,46	4,98 ± 1,20	6,38 ± 0,98	3,72 ± 1,18	5,03 ± 0,79 ^{ab}	4,72 ± 0,61
	HCE1	4,65 ± 1,25	5,44 ± 1,16	4,90 ± 0,87	4,60 ± 0,77	4,84 ± 0,41 ^{ab}	4,43 ± 0,88
	HCE2	4,24 ± 1,63	5,08 ± 1,30	6,61 ± 2,50	5,02 ± 1,67	4,95 ± 0,68 ^{ab}	5,49 ± 0,50
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	0,005	NS
Peso bazo / Peso vivo	Control	1,17 ± 0,68	0,82 ± 0,21	0,81 ± 0,21	0,93 ± 0,29	0,99 ± 0,34	1,17 ± 0,45
	PBE1	1,03 ± 0,42	0,61 ± 0,15	0,75 ± 0,15	0,89 ± 0,11	0,91 ± 0,27	0,97 ± 0,11
	PBE2	0,73 ± 0,41	0,84 ± 0,24	0,75 ± 0,18	0,96 ± 0,26	0,97 ± 0,17	1,53 ± 0,40
	HCE1	0,59 ± 0,23	0,71 ± 0,26	0,90 ± 0,22	1,32 ± 0,61	0,97 ± 0,12	1,13 ± 0,25
	HCE2	0,83 ± 0,52	0,75 ± 0,16	0,75 ± 0,06	1,13 ± 0,65	1,12 ± 0,14	1,09 ± 0,19
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nota: Los valores representan la media aritmética ± DE de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por 1 pollo de engorde. NS = no significativo a un valor *P* > 0,05. Las letras indican los subgrupos de significancia al que pertenecen los tratamientos en cada tiempo.

PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

La Tabla 10 presenta la variación de la razón entre pesos de los órganos linfoides en el tiempo de experimentación. Los índices del peso de la bursa sobre el peso del timo en todos los tratamientos, a excepción del PBE1, fluctuaron de mayor a menor durante todo el ciclo de engorde. El tratamiento PBE1 mantuvo una tendencia decreciente en el tiempo. En el día 28 todos los tratamientos arrojaron valores promedio de los índices mayores al control. No obstante, al inicio y final del ciclo, el control manifestó valores mayores en relación a los otros tratamientos.

Los índices para ésta relación fueron menores a 1, por lo que se deduce que la bursa tuvo menor peso que el timo durante toda la experimentación. Estadísticamente no existieron diferencias significativas entre los distintos tratamientos ($P > 0,05$).

Los resultados de la relación entre el peso de la bursa y el peso del bazo, indican que existió una tendencia a reducirse el índice en el tiempo, con excepción de los índices del control, el PBE1 y el HCE2 que se incrementaron hasta el día 14 y posteriormente disminuyeron hasta el final del tiempo de evaluación. Únicamente los valores promedio del índice bursa / bazo en el grupo tratado con PBE1 fueron mayores que el del grupo control durante todo el ciclo de engorde. El índice de los grupos tratados con HC solo fue mayor que el del grupo control durante los primeros 21 días de experimentación.

La mayoría de índices calculados para los distintos tratamientos presentaron valores mayores a 2, a excepción del índice para todos los tratamientos en el día 42, control en el día 7, el grupo tratado con PBE2 en el día 28 y el tratado con el HCE1 en los días 28 y 35. A pesar de ello, todos los índices calculados fueron mayores a la unidad, lo que indica que el bazo creció más en relación a la bursa. En esta relación los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos en los distintos intervalos de tiempo.

En cuanto el índice peso timo / peso bazo se observó que ningún tratamiento presentó una tendencia similar en el tiempo. Los valores en todos los tratamientos experimentales aumentaron y disminuyeron a lo largo de todo el ciclo de engorde. En el grupo tratado con PBE1, el índice disminuyó a partir del día 14 hasta el final del experimento. Los primeros 21 días de edad, todos los tratamientos tuvieron valores de índice mayores con relación al grupo control. Posteriormente, a partir del día 35 todos los grupos con excepción del HCE2 y el control, presentaron una tendencia decreciente siendo más marcado para PBE2 y HCE1.

El análisis estadístico indicó que no existieron diferencias significativas para este parámetro con un valor de $P > 0,05$ (Tabla 10). Los índices en todo el tiempo de evaluación presentaron valores superiores a la unidad, lo que indica que el tamaño del timo fue mayor al del bazo a lo largo del tiempo.

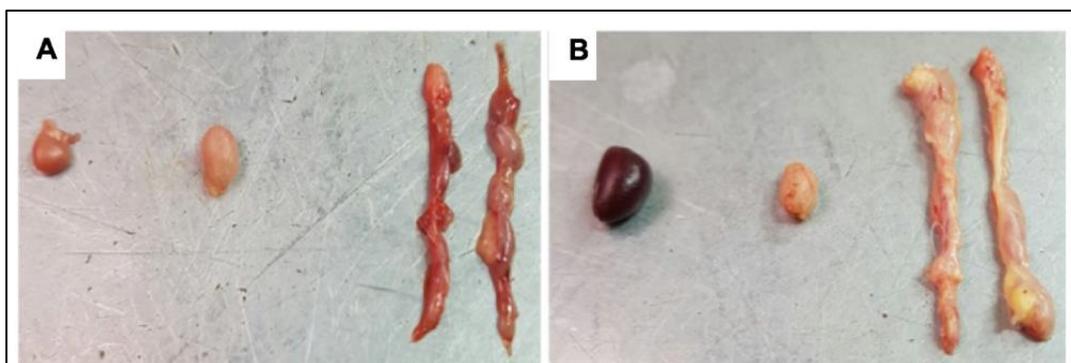


Figura 6. Bazo, bursa y timo de los pollos de engorde. Órganos linfoides de:
A) 1 día de edad
B) 21 días de edad

Tabla 10. Relación del peso de los órganos linfoides (bursa-timo, bursa-bazo y timo-bazo) en función de los distintos tratamientos en el tiempo de evaluación

Tratamiento/ Tiempo (Días)		7	14	21	28	35	42
Peso bursa / Peso timo	Control	0,36 ± 0,08	0,54 ± 0,10	0,40 ± 0,15	0,32 ± 0,07	0,54 ± 0,19	0,24 ± 0,09
	PBE1	0,42 ± 0,08	0,43 ± 0,12	0,46 ± 0,14	0,36 ± 0,14	0,36 ± 0,12	0,30 ± 0,06
	PBE2	0,36 ± 0,24	0,42 ± 0,18	0,33 ± 0,10	0,49 ± 0,13	0,45 ± 0,07	0,39 ± 0,12
	HCE1	0,49 ± 0,29	0,38 ± 0,12	0,50 ± 0,12	0,45 ± 0,06	0,34 ± 0,05	0,37 ± 0,09
	HCE2	0,36 ± 0,09	0,50 ± 0,15	0,38 ± 0,15	0,44 ± 0,15	0,45 ± 0,06	0,26 ± 0,07
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Peso bursa / Peso bazo	Control	1,09 ± 0,74	2,80 ± 0,76	2,55 ± 0,88	2,08 ± 0,69	2,03 ± 0,74	1,25 ± 0,78
	PBE1	2,30 ± 2,11	3,50 ± 1,50	2,82 ± 0,74	2,33 ± 0,68	2,25 ± 0,84	1,55 ± 0,39
	PBE2	3,00 ± 2,12	2,42 ± 0,91	2,90 ± 0,96	1,63 ± 0,61	2,49 ± 0,39	1,26 ± 0,45
	HCE1	3,80 ± 1,48	3,20 ± 1,71	2,83 ± 1,09	1,75 ± 0,77	1,71 ± 0,34	1,63 ± 0,28
	HCE2	2,57 ± 1,59	3,37 ± 1,06	2,93 ± 0,38	2,08 ± 0,93	2,00 ± 0,31	1,42 ± 0,57
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Peso timo / Peso bazo	Control	5,97 ± 4,17	5,37 ± 1,97	6,62 ± 2,24	6,51 ± 1,45	3,98 ± 1,74	4,84 ± 2,09
	PBE1	5,60 ± 4,93	8,10 ± 2,07	6,54 ± 2,54	6,40 ± 1,48	6,31 ± 1,74	5,12 ± 0,89
	PBE2	8,80 ± 5,36	6,25 ± 1,88	9,06 ± 3,14	4,00 ± 0,67	5,56 ± 0,95	3,27 ± 0,96
	HCE1	9,00 ± 4,12	9,13 ± 6,20	5,57 ± 1,01	3,86 ± 1,40	5,01 ± 0,68	4,00 ± 0,98
	HCE2	6,97 ± 3,87	6,83 ± 1,17	8,82 ± 3,57	4,92 ± 1,94	4,40 ± 0,22	5,50 ± 0,98
	Valor <i>P</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nota: Los valores representan la media aritmética ± DE de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por 1 pollo de engorde. NS = no significativo a un valor *P* > 0,05. Las letras indican los subgrupos de significancia al que pertenecen los tratamientos en cada tiempo.

PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

5.4. Parámetros zootécnicos

5.4.1. Consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia

Los resultados de la evolución semanal de los parámetros zootécnicos se presentan en las Figuras 7 y 8. El consumo de alimento representado en la Figura 7A, mostró que en las 3 fases de desarrollo los grupos correspondientes a los tratamientos E2 presentaron valores mayores de consumo de alimento que los correspondientes a los grupos tratados con la E1. Una tendencia similar se observó cuando se analizó todo el ciclo de engorde (Figura 8A). Por otra parte, se observó que en la fase inicial, el grupo correspondiente al tratamiento HCE2 fue el único que presentó mayor consumo de alimento comparado con el grupo control. Sin embargo, en las fases posteriores el PBE2 fue el tratamiento con un mayor valor promedio de consumo de alimento en comparación al control. Por lo tanto, en todo el ciclo de engorde, el grupo correspondiente al tratamiento PBE2 es el que presentó el mayor consumo de alimento entre los grupos tratados (Figura 8A).

El análisis estadístico reflejó que en todas las fases se encontraron diferencias estadísticas significativas, al igual que en todo el ciclo de engorde ($P < 0,05$) (Tabla 11). En la fase inicial se encontraron diferencias entre el control y todos los grupos experimentales, a excepción del PBE2. En la fase de crecimiento y todo el ciclo de engorde la diferencia se encontró entre el grupo control y los tratamientos E1. Solo en la fase final el grupo control arrojó diferencias significativas respecto al HCE1.

En cuanto a la evolución semanal de la ganancia de peso (Figura 7B), se evidenció que en las fases inicial y final, los tratamientos correspondientes a la estrategia E2 presentaron valores mayores que el control y que los grupos experimentales E1. Por su parte, en la fase de crecimiento el grupo control presentó una ganancia de peso mayor en comparación con los demás tratamientos. Cabe destacar que al comparar cada inmunomodulador por separado, los tratamientos de la estrategia E2 mostraron valores promedio de

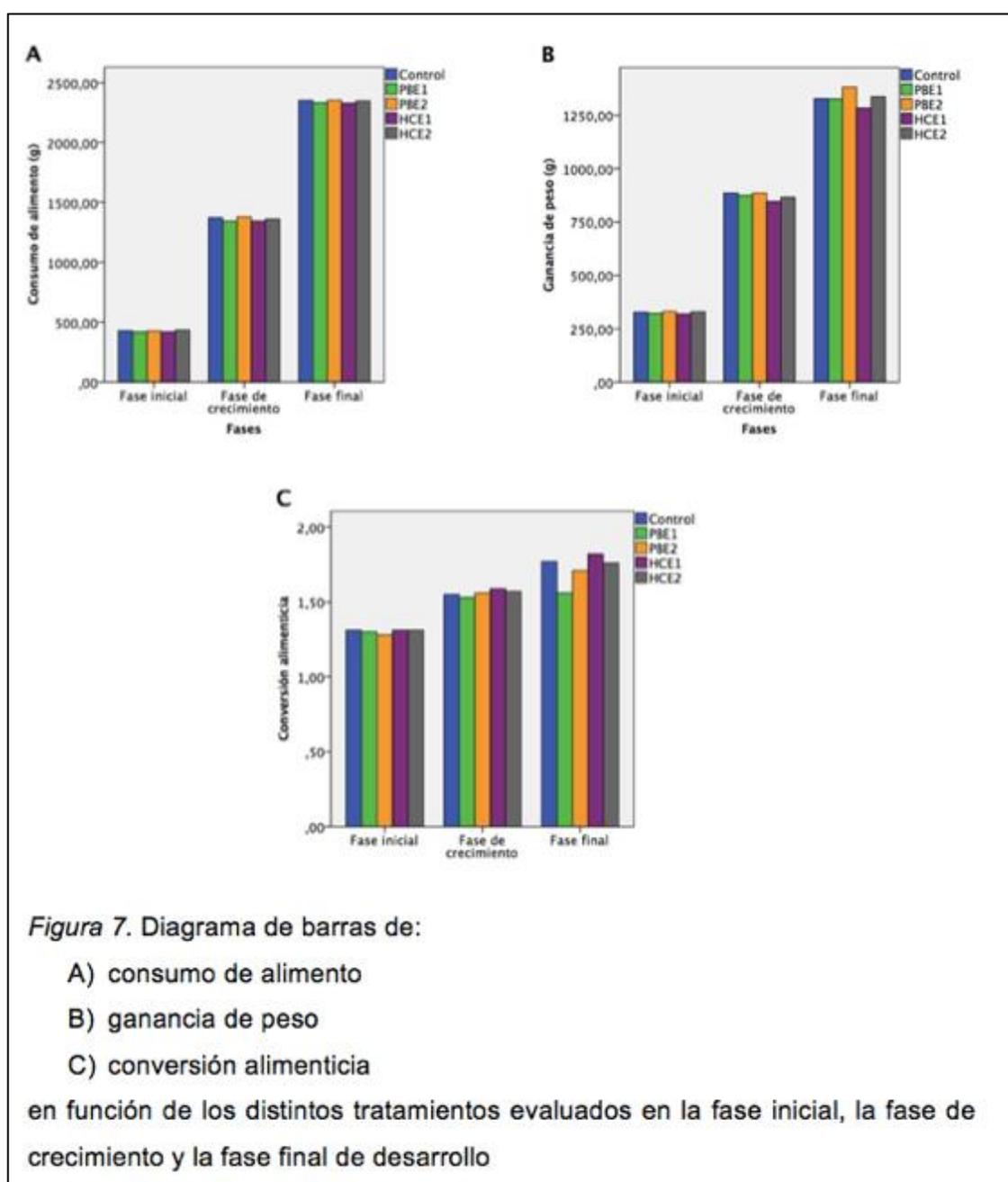
ganancia de peso mayores que los E1. Al analizar todo el ciclo de engorde (Figura 6B) el PBE2 resultó el tratamiento con mayor ganancia de peso, con valores promedio mayores que los del control y de los demás grupos experimentales.

El análisis estadístico mostró que en las 3 fases de desarrollo y el ciclo de engorde existieron diferencias significativas. En la fase inicial las diferencias estuvieron entre los tratamientos con HC y entre el PBE2 y el HCE1 ($P < 0,05$) (Tabla 11). En la fase de crecimiento, solo el tratamiento HCE1 presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) respecto al control, mientras que en la fase final el tratamiento PBE2 fue el que presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) respecto al control. Por otra parte, en el ciclo de engorde la diferencia significativa ($P < 0,05$) se presentó entre el grupo tratado con HCE1 y el grupo control.

Al analizar la conversión alimenticia (Figura 7C) se observó que comparados con el grupo control, en la fase inicial los tratamientos PB presentaron valores menores y los tratamientos HC valores iguales. Sin embargo, el análisis estadístico indicó que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre grupos en esa fase (Tabla 11). Por otro lado, en la fase de crecimiento todos los tratamientos, a excepción del PBE1, presentaron valores promedio de conversión alimenticia mayores que el control. En la fase final, exceptuando el HCE1, todos los tratamientos mostraron valores de conversión alimenticia menores que el grupo control. En la Figura 8C se pudo observar que los tratamientos con PB tuvieron una conversión alimenticia menor que el resto de los tratamientos durante todo el ciclo de engorde. El grupo correspondiente al tratamiento PBE2 presentó los menores valores de conversión alimenticia.

El análisis estadístico para este parámetro, mostró que hay diferencias estadísticamente significativas en las fases de crecimiento, final y en el ciclo de engorde con un $P < 0,05$ (Tabla 11). Las diferencias en la fase de crecimiento

se encontraron entre los tratamientos E1. En tanto que en la fase final, la diferencia se encontró entre el grupo correspondiente al tratamiento PBE2 y el control. Para el ciclo de engorde las diferencias significativas se encontraron entre los tratamientos PB y el HCE1, ningún grupo experimental fue diferente al control.



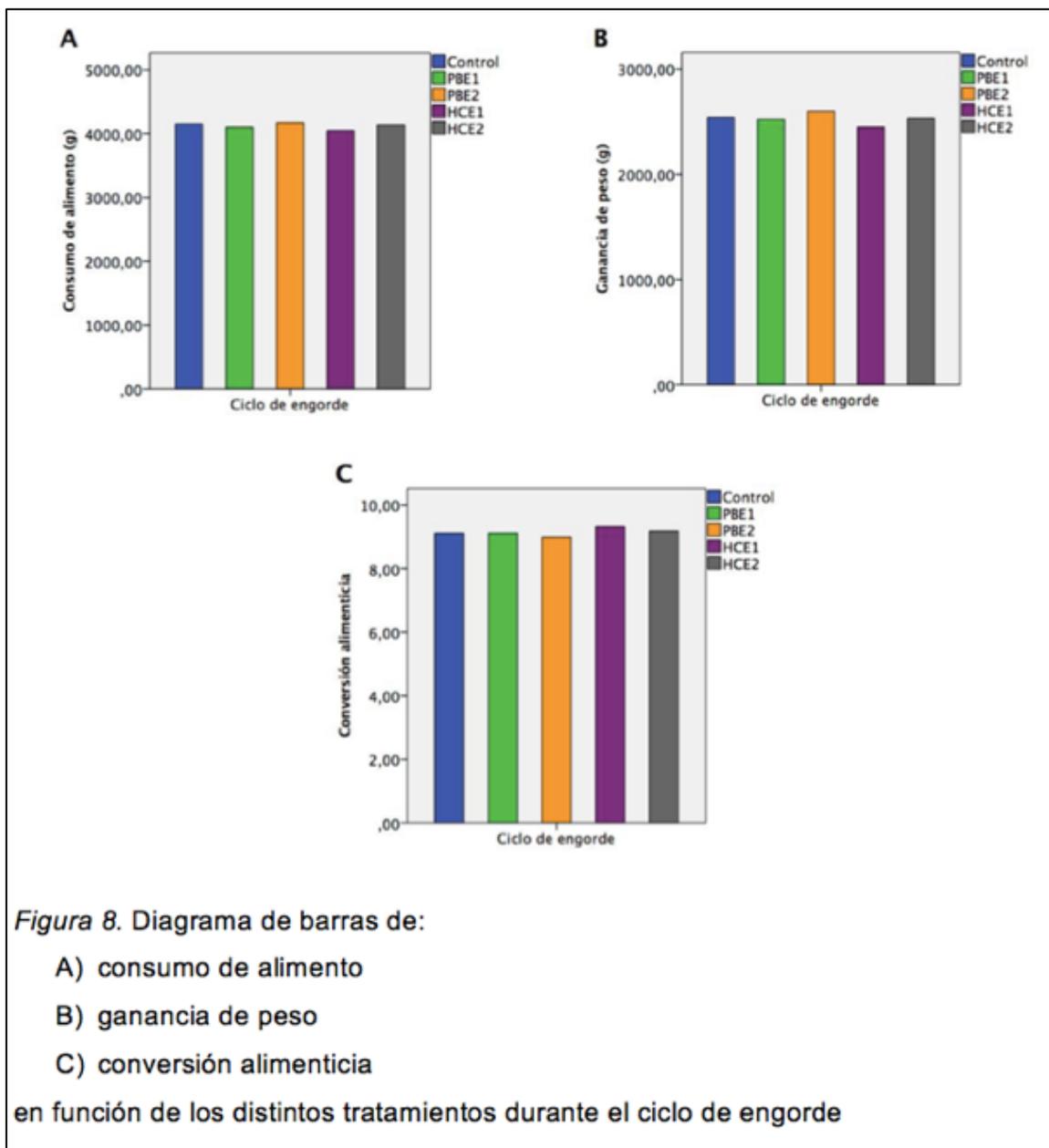


Tabla 11. Consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia de los pollos de engorde durante las diferentes fases de desarrollo y durante todo el ciclo de engorde

	Tratamiento/ Tiempo	Fase Inicial	Fase de Crecimiento	Fase Final	Ciclo de Engorde
Consumo de alimento (g)	Control	427,96 ± 2,07 _b	1370,96 ± 10,15 ^a	2352,81 ± 5,57 ^a	4151,73 ± 12,87 ^a
	PBE1	418,84 ± 2,98 ^c	1343,69 ± 17,67 ^b	2333,37 ± 11,35 ^{ab}	4095,89 ± 18,66 ^b
	PBE2	425,70 ± 1,73 ^b	1379,91 ± 9,77 ^a	2355,83 ± 7,91 ^a	4161,45 ± 18,21 ^a
	HCE1	418,51 ± 0,97 ^c	1343,66 ± 11,42 ^b	2327,72 ± 21,53 ^b	4089,89 ± 26,88 ^b
	HCE2	434,02 ± 3,08 ^a	1359,97 ± 9,59 ^{ab}	2349,40 ± 7,66 ^{ab}	4143,39 ± 10,86 ^a
	Valor <i>P</i>	0,000	0,001	0,01	0,000
Ganancia de peso (g)	Control	327,57 ± 4,57 ^{ab}	886,23 ± 23,38 ^a	1327,11 ± 30,10 ^b	2540,91 ± 22,00 ^{ab}
	PBE1	321,89 ± 6,94 ^{ab}	875,68 ± 18,96 ^{ab}	1326,23 ± 25,76 ^b	2523,81 ± 46,92 ^b
	PBE2	331,87 ± 3,49 ^a	885,47 ± 10,90 ^a	1381,14 ± 16,24 ^a	2598,48 ± 16,11 ^a
	HCE1	318,48 ± 3,25 ^b	845,21 ± 12,24 ^b	1283,29 ± 52,63 ^b	2446,98 ± 58,64 ^c
	HCE2	330,28 ± 8,13 ^a	866,36 ± 8,33 ^{ab}	1336,57 ± 21,24 ^b	2533,20 ± 32,17 ^{ab}
	Valor <i>P</i>	0,09	0,53	0,02	0,000
Conversión alimenticia	Control	1,31 ± 0,02	1,55 ± 0,04 ^{ab}	1,77 ± 0,04 ^a	1,63 ± 0,02 ^{ab}
	PBE1	1,30 ± 0,03	1,53 ± 0,02 ^b	1,76 ± 0,04 ^{ab}	1,62 ± 0,03 ^b
	PBE2	1,28 ± 0,009	1,56 ± 0,01 ^{ab}	1,71 ± 0,02 ^b	1,60 ± 0,01 ^b
	HCE1	1,31 ± 0,01	1,59 ± 0,02 ^a	1,82 ± 0,07 ^a	1,67 ± 0,03 ^a
	HCE2	1,31 ± 0,04	1,57 ± 0,01 ^{ab}	1,76 ± 0,03 ^{ab}	1,64 ± 0,02 ^{ab}
	Valor <i>P</i>	NS	0,01	0,02	0,003

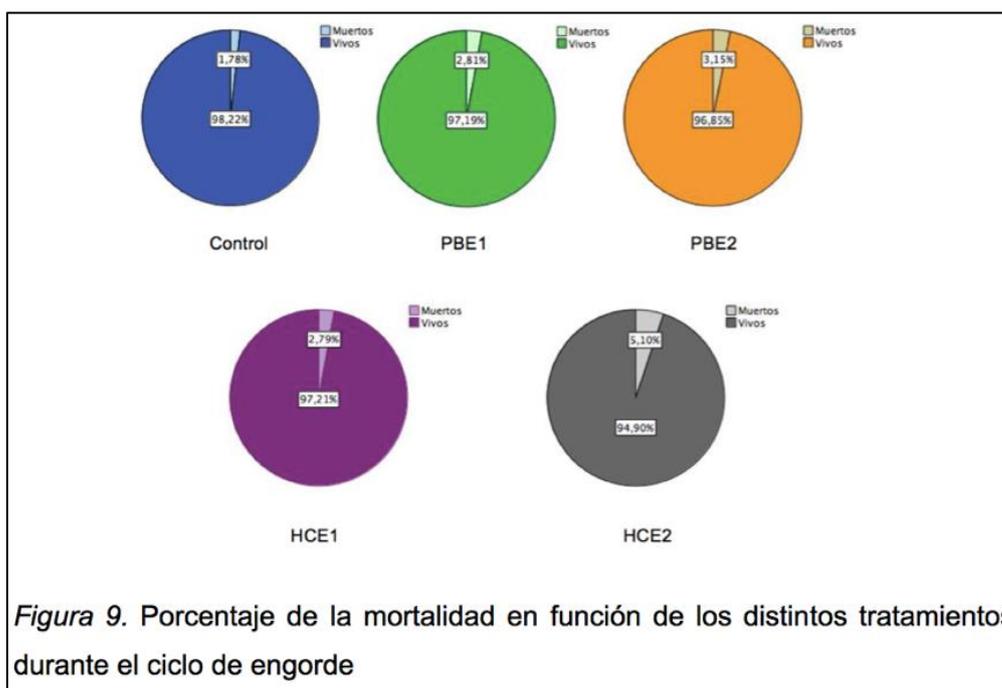
Nota: Los valores representan la media aritmética ± DE de 5 réplicas por tratamiento cada una formada por toda la población existente en cada fase. NS = no significativo a un valor *P* > 0,05. Las letras indican los subgrupos de significancia al que pertenecen los tratamientos en cada fase.

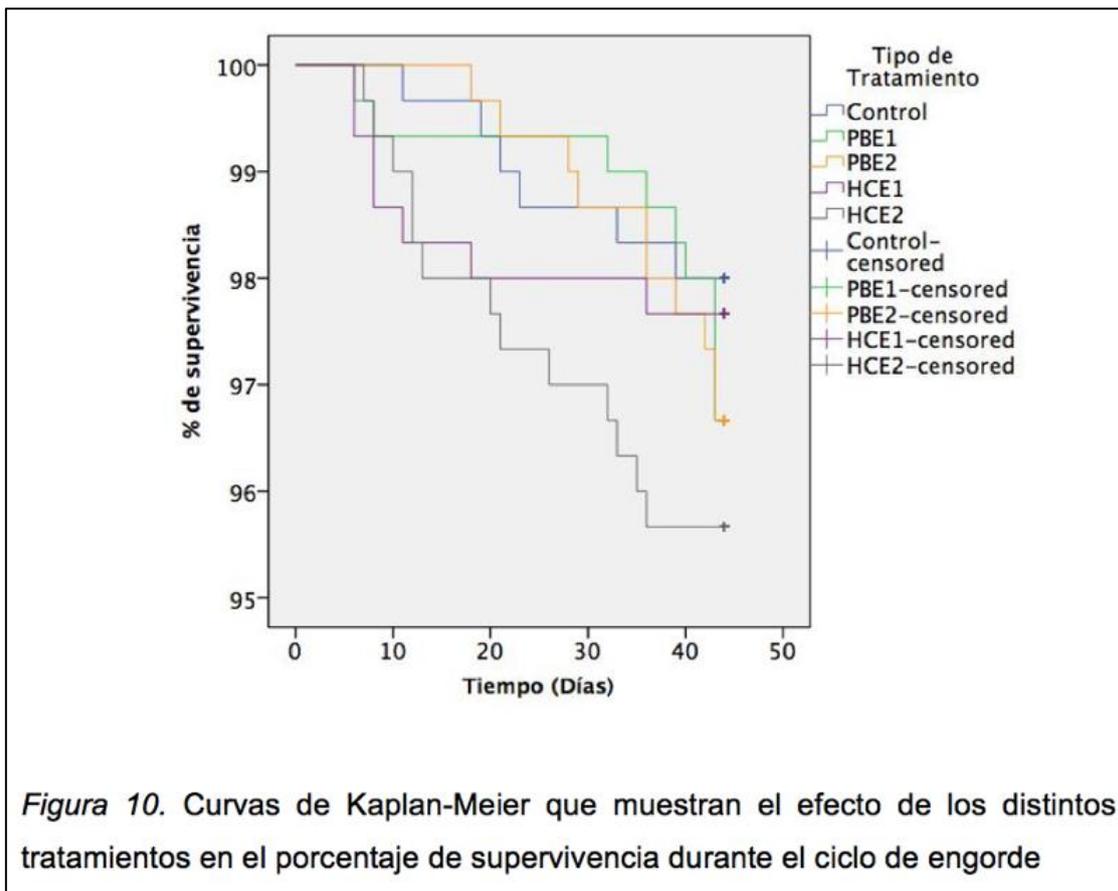
PBE1 = plasma bovino en estrategia de dosificación 1, PBE2 = plasma bovino en estrategia de dosificación 2, HCE1 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 1 y HCE2 = hidrolizado de camarón en estrategia de dosificación 2.

5.4.2. Estudio de la mortalidad

Los resultados del estudio de mortalidad se presentan en la Figura 9, donde se puede apreciar que en ninguno de los tratamientos el porcentaje de muertes superó el 6 %. El grupo control fue el que presentó menor porcentaje de mortalidad mientras que el grupo tratado con HCE2 el mayor porcentaje. A pesar de estas diferencias entre los tratamientos, no existió diferencia estadísticamente significativa entre ellos, lo cual se demuestra por el valor $P > 0,05$ obtenido en la prueba de Log Rank, que indica que la variable de supervivencia (100 % - mortalidad) no es dependiente de los tratamientos aplicados.

Los resultados de mortalidad se complementan con los de supervivencia mostrados en la Figura 10, donde se observa que durante las primeras semanas el grupo tratado con PBE2 es el que presentó mayor porcentaje de supervivencia en comparación con los otros tratamientos. Por otro lado, el grupo correspondiente al tratamiento HCE2 tuvo el menor porcentaje de supervivencia a lo largo de todo el ciclo de engorde.





6. Capítulo VI: Discusión

En el presente estudio se evaluó el efecto del plasma bovino y el hidrolizado de camarón sobre la respuesta inmune y el desempeño de pollos de engorde, en presencia de desafío inmunitario por el empleo de cama semireutilizada y ausencia de vacunación para el Síndrome de Cabeza Hinchada. Ambos inmunomoduladores fueron evaluados empleando dos estrategias de dosificación.

En la literatura consultada hasta la fecha, los dos productos utilizados en este trabajo han sido evaluados para determinar su efecto en los parámetros zootécnicos de los pollos de engorde. Sin embargo, su uso como inmunomoduladores ha sido poco estudiado en la avicultura. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio son un aporte para ampliar el conocimiento de la acción del plasma bovino y el hidrolizado de camarón en la respuesta inmunología.

Brevemente, los resultados obtenidos a través de la prueba ELISA, indicaron que los títulos de anticuerpos contra APV no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en la mayoría de los intervalos de tiempo estudiados, a excepción de los días 7 y 21. En ambos se observó que el PBE2 presentó títulos de anticuerpos significativamente más altos en comparación con el resto de los tratamientos, seguido con ambos grupos tratados con HC. En todos los tratamientos el título de anticuerpos fue disminuyendo desde la primera semana.

La caída de los títulos de anticuerpos contra el APV que se observó en todos los tratamientos en el tiempo de evaluación, fue una tendencia normal cuando no existió un programa de vacunación contra el virus. Estos títulos correspondieron al conjunto de anticuerpos maternos, en este caso inmunoglobulinas G específicas para el patógeno, que fueron transmitidas de la madre a su descendencia a través de la yema de huevo. Según la literatura, los niveles deben disminuir entre los primeros 7 a 10 días de vida de las aves,

hasta llegar a un título por debajo del nivel de protección entre los 15 y 20 días (Faulker et al., 2013; Leeson, 2009; Peres et al., 2006). En este trabajo, las aves no fueron vacunadas contra el APV, por lo tanto, a partir del día 14 del procedimiento experimental, los animales fueron potencialmente susceptibles a la infección por el patógeno. No obstante, la parvada no presentó signos del Síndrome de Cabeza Hinchada durante toda la crianza, a pesar de que fueron criados con cama reutilizada de reproductoras que experimentaron la enfermedad 5 semanas antes del inicio de este experimento. Posiblemente, el desafío con la cama reutilizada no fue suficiente para generar una infección. Velayudhan et al. (2003) encontraron que el APV en cama reutilizada puede ser infeccioso solo hasta 3 días a temperatura ambiente, ya que las ribozimas y RNAsas secretadas por las bacterias presentes en la cama, degradan el RNA viral limitando su replicación.

El mayor título de anticuerpos encontrado en PBE2 en el día 7 en comparación al resto de tratamientos, podría estar relacionado con la acción del inmunomodulador, evitando así la caída drástica del título de los anticuerpos maternos y su posterior estabilización por debajo del nivel óptimo de protección. Un efecto similar han encontrado Selegian et al. (2009) al investigar el efecto de un extracto de polisacáridos de *Pleurotus ostreatus* sobre los títulos de anticuerpos contra la Enfermedad de Gumboro en pollos de engorde, en presencia y ausencia de vacunación.

A pesar de existieron diferencias significativas en títulos de anticuerpos entre los tratamientos a los 21 días de edad, estos valores son despreciables en la crianza práctica y no ejercen un efecto de protección.

Pese a que esta investigación estuvo centrada en el SHS, un indicador de inmunocompetencia que puede sustentar el posible efecto del plasma bovino y del hidrolizado de camarón sobre la inmunidad, es la respuesta serológica de las aves frente a un programa de vacunación (Perozo-Marín et al., 2004). En el Anexo 1 (Figura 11) se puede apreciar como varían los títulos de anticuerpos

como respuesta serológica frente a la Enfermedad de Newcastle (NDV) debido a la aplicación de vacuna en la incubación y en los días 8 y 21.

La evolución de los títulos de anticuerpos contra NDV en todos los tratamientos, mostró que en las 3 primeras semanas hubo una disminución de las inmunoglobulinas G y posteriormente un incremento hasta el día 35, donde nuevamente existió un descenso de las mismas (Figura 11). Esta tendencia es normal en presencia de vacunación, porque inicialmente se produce un catabolismo acelerado de los anticuerpos maternos y tras el periodo de silencio inmunológico, se produce un ascenso de los títulos en respuesta a la estimulación del sistema inmune por la vacuna a los 21 días (Vásquez, 2009). La vacunación a los 8 días solo constituyó un refuerzo para uniformizar la respuesta de todos los animales a la última dosis de vacunación. En sí, la presencia de anticuerpos maternos en la fase inicial del ciclo de engorde, interfirió con el estímulo de la inmunización a los 8 días, debido que disminuyó la exposición de los antígenos a las células del sistema inmune (Maas et al., 2011).

Al considerar la variación del título de los anticuerpos contra NDV en el tiempo, no se observaron diferencias significativas (Anexo 1, Tabla 12). Sin embargo, los títulos en el grupo tratado con el PBE1 fueron mayores en comparación a los otros tratamientos, en 4 de las 6 mediciones realizadas en el tiempo. En investigaciones comparables a ésta, no se han realizado mediciones de anticuerpos específicos para una enfermedad, sino que se han medido las inmunoglobulinas G totales como un marcador inmunológico del sistema inmune innato (Khosravi et al., 2015b). Por ello, los resultados se contrastaron con los de estudios en los cuales se tuvo en consideración este parámetro.

Zhang et al. (2016) obtuvieron resultados similares a los encontrados en esta investigación. Estos investigadores evaluaron el efecto del plasma de pollo en el estado inmunológico de los cerdos y no encontraron diferencias significativas en la cantidad de IgG, sin embargo, su valor en el grupo tratado con plasma fue

mayor. Al contrario de lo que se encontró en otras investigaciones que emplearon plasma porcino en pollos de engorde, donde no se observaron diferencias estadísticamente significativas, pero los tratamientos con plasma presentaron valores menores de IgG. Una explicación probable para la disminución de IgG, podría ser que el plasma animal reduce la sobreestimulación del sistema inmune (Beski et al., 2015b; Jamroz et al., 2012). Por otra parte, la ausencia del efecto inmunomodulador del hidrolizado de camarón sobre las IgG, también ha sido reportado para cerdos jóvenes (Sun et al., 2009).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la menor dosis de plasma animal (PBE2) permite sostener títulos protectivos maternos más altos contra APV, únicamente en la primera semana de vida. Además en cuanto a los anticuerpos para la Enfermedad de Newcastle, tanto el grupo tratado con el plasma bovino como con el hidrolizado de camarón, presentaron el mismo efecto que el grupo control. A pesar de que el plasma promovió un aumento no significativo de títulos, especialmente en presencia de vacunación.

En referencia a los resultados obtenidos en la biometría hemática, los porcentajes de los distintos tipos celulares estudiados (linfocitos, monocitos y heterófilos) se encontraron dentro de los rangos hematológicos normales para las aves, establecidos por Martínez et al. (2009). Tanto el porcentaje de los linfocitos como el de los monocitos raramente superaron el rango normal (Anexo 2, Tabla 13). Asimismo, el porcentaje de los heterófilos casi nunca se encontró bajo el intervalo establecido. Los valores fuera de rango, se observaron principalmente en el día 28 para los linfocitos y los heterófilos. En general, los porcentajes obtenidos en este estudio variaron con relación a las medias establecidas por día para cada parámetro para los pollos de engorde Cobb (Anexo 2, Tabla 14) (Talebi et al., 2005). Estas variaciones se estima que se debieron a la presencia del desafío inmunitario dado por la cama reutilizada. Se ha reportado que la crianza de pollos de engorde sobre una cama reutilizada tiende a estimular procesos inflamatorios, a diferencia de una cama

nueva que estimula procesos antiinflamatorios, especialmente en lo que refiere a la inmunidad intestinal (Shanmugasundaram, Lilburn y Selvaraj, 2012). Estos procesos inflamatorios tienden a modificar los parámetros sanguíneos. En este sentido, en un estudio reciente se ha encontrado que una cama no tratada produce un conteo mayor de células blancas en los pollos de engorde en comparación con una cama tratada con 60 y 120 g/m² de dióxido de titanio, que actúa como desinfectante y antibiótico (Adamu et al., 2015).

Continuando con el análisis de la biometría hemática, se encontraron diferencias significativas en el día 7 para el porcentaje de linfocitos, monocitos, heterófilos y la relación H/L. En el caso de los linfocitos el porcentaje mayor se encontró en el tratamiento PBE2 en relación con el control. Al contrario de los heterófilos y la relación H/L cuyo mayor valor lo presentó el grupo control y el menor el PBE2. Para los monocitos el mayor valor de porcentaje lo presentó el PBE1 seguido por el control. En el día 14 sólo existió diferencia en el porcentaje de los linfocitos, en donde el mayor valor se encontró para el HCE2 seguido del PBE2 en relación con el control. En el día 28 a pesar que no existieron diferencias significativas En el día 42 las diferencias se encontraron tanto para los linfocitos y heterófilos como para la relación H/L. El porcentaje de los linfocitos fue mayor para ambos tratamientos con plasma y el HCE1 en comparación al control. El porcentaje de los heterófilos y la relación H/L fue mayor para el control en comparación a ambos tratamientos con plasma y el HCE1.

Las diferencias encontradas indican que en el día 7 el PBE2 generó mejores resultados en cuanto a los porcentajes de células blancas en presencia de desafío. Lo mismo sucedió en el día 42, pero no solo con el PBE2 sino también con el PBE1 y HCE1. Esto debido a que McWilliams (2008) determinó que un nivel constante de linfocitos durante el estrés, en este caso una menor disminución de dichas células, es un indicador de que las aves son menos susceptibles a la presencia de un factor estresante. Sin embargo, nuestros resultados difieren de lo obtenido por Jamroz et al. (2012). Estos autores no

encontraron diferencias significativas en el porcentaje de linfocitos y monocitos al evaluar el efecto del plasma porcino sobre los elementos del sistema inmune de los pollos de engorde criados en condiciones controladas.

Por otra parte, en general se observó que los linfocitos y los heterófilos presentaron un comportamiento inverso, mientras el porcentaje de linfocitos aumentó, el de heterófilos disminuyó en el tiempo. Este resultado concuerda con lo observado por Talebi et al. (2005) en su estudio de parámetros hematológicos para distintas líneas de pollos de engorde (entre ellas la línea Cobb). Esta tendencia se mantuvo durante casi todo el tiempo de experimentación, a excepción de los días 7 y 28 donde se invirtió. Esta inversión de la tendencia puede ser un signo del desarrollo de una respuesta inflamatoria para adaptarse al estrés. Se podría presuponer que en nuestro caso la inversión se dio por la necesidad de una respuesta inmune provocada por el desafío generado por la reutilización de la cama. Normalmente, esta respuesta inflamatoria se caracteriza por el aumento de los heterófilos y la disminución de los linfocitos (McWilliams, 2008), como se corresponde a lo encontrado en los días 7 y 28 de nuestro estudio. Ese aumento inicial de los heterófilos pudo deberse a la respuesta innata no específica que actúa de manera rápida frente a la invasión de un patógeno, para su eliminación por fagocitosis y otros mecanismos (Talebi et al., 2005; Genovese et al., 2013). La respuesta innata mencionada constituye el inicio de la respuesta inmune, que da paso a una respuesta adaptativa específica de antígeno mediada por los linfocitos, donde se produce la proliferación y diferenciación de los mismos (Talebi et al., 2005; Abbas et al., 2014), que corresponde con el incremento de los linfocitos en el día 14 y en menor medida al final de la experimentación.

La presencia del estrés provocado por la reutilización de la cama se puede corroborar mediante el cálculo de la relación H/L, puesto que este es un indicador hematológico de la respuesta a estrés en aves (Müller et al., 2011). El aumento de esta relación ante la exposición al estrés observado en los días 7 y 28 es característico de la exposición a un estrés agudo, breve y posiblemente

no severo; es decir, que no atenta contra la vida del animal (Sandoval et al., 2002).

Los resultados obtenidos en el análisis de la biometría hemática mostraron que existió un desafío inmunológico no precisamente viral como se esperaba, sino de otro tipo como bacteriano, fúngico y/o parasitario, lo que es muy común cuando se emplea una cama reutilizada (Tambini et al., 2010; Wiedemann, 2015). Esto se demostró en la tendencia decreciente de los linfocitos y creciente de los heterófilos en los días 7 y 28 y en la variación de los porcentajes en relación a los rangos normales. Los resultados indican que existió un efecto favorable de los inmunomoduladores, especialmente del PBE2, sobre la respuesta inmune en presencia de desafío. La acción de los inmunomoduladores sobre las células blancas estudiadas permite una mejor adaptación al estrés generado por las condiciones de campo y una producción intensiva.

En los resultados del estudio del índice de los órganos linfoides en relación al peso vivo y entre órganos, se evidenció que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna de las edades analizadas, excepto para el peso relativo del timo a los 35 días de edad, donde el tratamiento PBE1 obtuvo un 32,65% más de peso en relación con el grupo control.

Al considerar el incremento significativo del índice del timo para el tratamiento PBE1 en relación al grupo control en el día 35 y al resto de los valores de la relación peso timo/peso vivo, puede inferirse que el desafío aplicado en nuestro diseño experimental no generó un gran impacto sobre el desarrollo de los órganos linfoides, dado que los índices calculados fueron mayores a 4,27, valor máximo obtenido en el trabajo de Perozo-Marín et al. (2004) realizado bajo condiciones de campo. Este grupo de investigadores postuló que las situaciones de estrés tienden a provocar una involución de los tejidos linfoides, por la liberación de glucocorticoides y catecolaminas. Cabe resaltar, que estos

autores recalcan que los índices morfométricos varían en dependencia de distintos factores como el manejo, genéticos y medioambientales.

Como se mencionó inicialmente los productos utilizados en este estudio no han sido evaluados con anterioridad, respecto a su impacto sobre la respuesta inmune en los pollos de engorde, como es el caso de los índices morfométricos. Pese a ello, otros inmunomoduladores de origen natural que presentan alguna similitud en su composición con los productos empleados en el presente estudio, han sido probados en esta especie. Un grupo de investigadores han estudiado el impacto del huevo entero en polvo, a distintas concentraciones, sobre la respuesta inmune en pollos machos de carne. Este producto es rico en aminoácidos, lípidos, pigmentos antioxidantes y contiene además inmunoglobulinas G, al igual que el plasma bovino. Los autores encontraron resultados similares a los de ésta investigación; es decir, la aplicación de los tratamientos no afectó significativamente a los índices de la bursa y del bazo (Lei y Kim, 2013).

En contraste, Esmailzadeh et al. (2013) al realizar un estudio similar con el huevo entero en polvo, encontraron que el peso relativo del timo, el bazo y la bursa disminuyó significativamente en comparación al control. El efecto fue mayor a medida que aumentó la concentración del producto ensayado.

Del mismo modo, se ha probado la adición de distintas concentraciones de quito-oligosacáridos a la dieta de los pollos y su efecto sobre la inmunidad. Este compuesto es producto de la hidrólisis del quitosano, presente en la composición del hidrolizado de camarón. Zhou et al. (2009) determinaron que la inclusión de este polímero en la dieta de los pollos de engorde, no genera un efecto significativo en los índices morfométricos tanto del bazo como de la bursa, lo que se corresponde con los resultados obtenidos en este trabajo. En un estudio similar, Deng et al. (2008) obtuvieron que los índices de la bursa, el bazo y el timo aumentaron significativamente. Ellos concluyeron que los quito-oligosacáridos poseen propiedades estimulantes para la inmunidad.

Además de considerar el peso relativo de los órganos linfoides, como se mencionó anteriormente, también se estudió la relación del peso de los órganos entre sí. La relación permite conocer el estado inmunológico de una parvada. Es conocido que la relación bursa-bazo muestra la capacidad de respuesta inmune de los pollos y la relación timo-bazo indica la variación en la tasa de crecimiento de los órganos linfoides. Teniendo en cuenta esta información, se puede concluir que el plasma bovino y el hidrolizado de camarón no afectaron significativamente estos parámetros, pues no se observó un aumento en los mismos. No obstante, los valores encontrados para el índice bursa-bazo, indicaron que las aves en esta experimentación presentaron un estado adecuado de inmunocompetencia, dado que la mayoría de los índices calculados para los distintos tratamientos en el tiempo, presentaron valores mayores a 2, lo que según Perozo-Marín et al. (2004) es una evidencia de competencia del sistema inmune.

Basándose en lo expuesto en los párrafos previos, la inclusión del plasma bovino y el hidrolizado de camarón en la dieta de pollos de engorde, no afecta al peso relativo de los órganos linfoides ni a la relación del peso de los órganos entre sí, tal y como se ha visto con otros inmunomoduladores de origen natural.

En cuanto a los resultados de desempeño obtenidos en las 3 fases del ciclo de engorde y en el ciclo total, se encontró que en el consumo de alimento, la ganancia de peso y la conversión alimenticia hubo diferencias significativas al comparar los tratamientos en todos los intervalos de tiempo estudiados, a excepción de la conversión alimenticia en la fase inicial.

Específicamente, en el consumo de alimento se observó que el tratamiento que promovió mayor ingesta fue el PBE2, seguido del control y el HCE2 en el ciclo de engorde, mientras que el grupo control presentó mayor ingesta en todas las fases de desarrollo, sin considerar la fase inicial en la que el PBE2 y el control fueron superados por el HCE2.

Estudios previos en los cuales se evaluó por separado el efecto del plasma bovino y del hidrolizado de camarón en el desempeño de los pollos de engorde, han reportado que su adición al alimento no afectó significativamente el consumo de alimento (Campbell et al., 2003; Mahata et al., 2008). Por otro lado, Okoye et al. (2005) y Henn et al. (2013) al emplear productos similares como la harina de desechos de camarón y el plasma porcino respectivamente, han obtenido resultados similares a los reportados en la presente investigación. En el caso del plasma porcino solo en la fase final y en el de la harina de camarón en la fase inicial.

El efecto del plasma bovino y el hidrolizado de camarón sobre el consumo de alimento no está totalmente dilucidado. Pierce et al. (2005) postularon en un estudio de la influencia del plasma animal en el desempeño de los cerdos, que el modo de acción por el cual este producto incrementa el consumo de alimento no se ha podido esclarecer. Por un lado, algunos estudios mencionan que el plasma bovino y el hidrolizado de camarón aumentan la palatabilidad de la dieta (Tucker et al., 2011; Leal et al., 2010). Por otro, hay que considerar que los factores que poseen mayor influencia sobre el consumo de alimento en las aves de corral son el color, la textura, la forma y el tamaño del alimento, a diferencia de los mamíferos en donde predomina el gusto y el aroma. Además de otros factores como el acceso al agua y al alimento, el estrés ambiental, los desafíos inmunológicos, algunos factores fisiológicos y en menor medida la composición de la dieta (Ferket y Gernat, 2006; Applegate, 2012). Por lo tanto, como en el presente estudio el manejo, el ambiente y las propiedades organolépticas de las dietas fueron similares para todos los tratamientos, no hay evidencias suficientes para establecer una causa que justifique la variación en el consumo de alimento.

Al analizar las otras dos variables de desempeño se evidenció que en la fase inicial la mayor ganancia de peso se encontró en los grupos tratados con PBE2 y HCE2, en la fase de crecimiento en el grupo control y el grupo PBE2 y en la

fase final y en el ciclo de engorde en el grupo PBE2. Es decir, durante todo el periodo de experimentación el PBE2 resultó ser el mejor en cuanto a ganancia de peso se refiere. Aunque en la fase de crecimiento, el valor del control es mínimamente mayor.

Además, en los periodos en donde existieron diferencias significativas para la conversión alimenticia, se advirtió que el PBE2 es el que presentó mejor valor para este parámetro, salvo en la fase de crecimiento donde el PBE1 fue el que presentó el mejor valor.

El tratamiento HCE1 fue el que mostró peores resultados tanto para la conversión alimenticia como para la ganancia de peso durante todo el tiempo de experimentación en relación con los tratamientos restantes. Los resultados para el tratamiento HCE2 en su mayoría fueron similares a los del control.

En trabajos previos se ha descrito, que incluir plasma animal en la dieta de animales como aves de corral, cerdos, terneros, entre otros, mejora su desempeño, especialmente en ambientes no sanitarios o desafiantes donde su acción se potencia (Campbell et al., 2003; Bregendahl et al., 2005). Así lo comprueba Campbell et al. (2006) pues al estudiar el efecto del plasma porcino en el desempeño de pollos de engorde, observaron que el inmunomodulador mejoró la ganancia de peso y la conversión alimenticia, lo que concuerda con lo obtenido en este trabajo experimental. En el estudio antes mencionado, los autores postulan que la mejora del desempeño animal dada por el inmunomodulador está relacionada con su efecto sobre el nivel de estimulación del sistema inmune (Campbell et al., 2006). Esto se debe a que cuando el sistema inmune se activa, ocurren procesos que requieren consumo de energía y la disponibilidad de la misma se ve reducida para funciones productivas como el crecimiento (Campbell et al., 2004a). Torrallardona (2010) concluyó que la activación del sistema inmune genera un aumento de citocinas proinflamatorias que inhiben el consumo de alimento y el crecimiento del animal.

Otros estudios mencionan que el uso del plasma animal mejora la salud y por ende el desempeño del animal debido a su composición. Específicamente, las inmunoglobulinas son las que brindan protección antimicrobiana y reducen la activación del sistema inmune intestinal en cerdos y ratas. Sin embargo, se menciona que las glicoproteínas también son responsables de los efectos beneficiosos del plasma, debido a que impiden la unión antigénica en el momento de la entrada al organismo de patógenos (Torrallardona, 2010). Además, el plasma bovino promueve el crecimiento del epitelio intestinal y aumenta la longitud de las vellosidades y la profundidad de la cripta en las mismas. Estos cambios a nivel morfológico aumentan la capacidad de absorción y digestión de proteínas y mejoran la barrera intestinal, impidiendo que los patógenos atraviesen las paredes intestinales (Sun et al., 2009; Torrallardona, 2010). Por lo tanto, el plasma animal mejora el desempeño ya que al estimular la salud del intestino, minimiza la sobreestimulación del sistema inmune y disminuye el gasto energético innecesario (Campbell et al., 2006; Henn et al., 2013).

Por su parte, para el hidrolizado de camarón se ha descrito que produce un efecto importante sobre la ganancia de peso y la conversión alimenticia en los pollos de engorde (Mahata et al., 2008). Estos autores observaron que a pesar de las diferencias significativas en estos parámetros, este producto empleado hasta cierta concentración genera un efecto en el desempeño de los animales similar al tratamiento control, resultados que corresponden con los hallazgos de este trabajo experimental. No obstante, en otra investigación donde se probó el efecto del hidrolizado de camarón en el desempeño del pez besugo, se observó una mejora significativa en el crecimiento. Probablemente, se atribuye esta mejora del desempeño animal, a la naturaleza del hidrolizado, pues los péptidos de bajo peso molecular presentes en su composición, son fácilmente asimilados para su rápido paso y absorción a través de la membrana intestinal, permitiendo una mejora en la absorción proteica (Bui et al., 2014). Otros autores han propuesto que los hidrolizados de origen marino, específicamente el hidrolizado de salmón añadido a las dietas iniciales de pollos de engorde,

tienden a incrementar la longitud de las vellosidades en el duodeno y en el ileón y el área de absorción de este último. Motivo por el cual se presume que se mejora el desempeño en etapas posteriores a la fase inicial del ciclo de engorde, pues se facilita la absorción de nutrientes (Opheim et al., 2016).

Por consiguiente, se puede concluir, que el efecto generado por el tratamiento con plasma bovino en el desempeño, se debe principalmente al refuerzo que proporciona a la inmunidad animal y a la mejora de la morfología intestinal. Mientras que el efecto del hidrolizado de camarón está más ligado a su capacidad de potenciar la absorción del intestino, tanto por su composición como por su efecto sobre la morfología intestinal.

Además, cabe resaltar que el plasma bovino genera mejores resultados en presencia de desafío inmunológico, concretamente en el caso de la presente investigación por el empleo de cama reutilizada y en ausencia de vacunación para APV (Bregendahl et al., 2005). Al parecer la presencia de estas condiciones de desafío no modifican el efecto del hidrolizado de camarón en el desempeño. Los resultados obtenidos en este trabajo no difieren de aquellos revisados en la literatura en ausencia de desafío inmunológico.

Al considerar las concentraciones para ambos inmunomoduladores se observó que a menor concentración hubo mejor consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia que a mayor concentración. Aunque en algunas fases no es significativa la comparación entre los tratamientos E1 y E2, los de menor concentración de modo general, presentaron mejores valores de desempeño.

Existen estudios en los que se han evidenciado resultados diferentes a los obtenidos en esta investigación en relación al tratamiento con plasma bovino. Por ejemplo, Campbell et al. (2003) al evaluar el efecto que tiene el plasma bovino disuelto en el agua de bebida, en distintas concentraciones, sobre el desempeño de pollos de engorde, observaron mejores resultados cuando

utilizaron el inmunomodulador en altas concentraciones (1,25%). Este trabajo se realizó bajo un ajuste adecuado de la dieta con el fin de mantener el contenido de aminoácidos similar en todos los tratamientos (Campbell et al., 2003). Cuando se trabaja con plasma animal en elevadas concentraciones, se puede generar un desbalance nutricional especialmente de aminoácidos y disminuir las respuestas productivas (Torrallardona, 2010). Por lo tanto, al no haber realizado un balance proteico adecuado en la dieta de la fase inicial cuando se trabajó con concentraciones elevadas del plasma bovino, las variables de desempeño se pudieron haber visto afectadas por el desbalance aminoacídico. El animal para cumplir adecuadamente las funciones fisiológicas y generar un buen desempeño, necesita que su alimentación se ajuste al concepto de proteína ideal. Es decir, que exista una concentración limitante de cada aminoácido, ni mayor ni menor a la necesaria, para lograr un equilibrio nutricional (Wijtten et al., 2004; Campos et al., 2008). Otros autores señalan además, que el desbalance puede afectar al desempeño, pues es posible que se afecten las células satélite activas que controlan el tamaño de la fibra muscular y la proporción del músculo en las aves de corral (Henn et al., 2013).

Existen estudios que han evaluado el efecto de otros productos sobre el desempeño animal (Jamroz et al., 2012; Henn et al., 2013). Campbell et al. (2006) estudiaron el efecto del plasma porcino en el desempeño de pollos de engorde y observaron aumento en el crecimiento animal únicamente en la fase inicial. Los autores señalaron que no fue posible detectar diferencias relacionadas con el desempeño, ni en la fase de crecimiento ni en la final. Estos resultados pudieron darse debido a que los pollos de engorde en las primeras semanas tienen un sistema inmune inmaduro, por lo que se espera que los anticuerpos presentes en el plasma bovino compensen el estado del GALT y generen protección contra patógenos para evitar la supresión del desempeño durante ese periodo (Bregendahl et al., 2005). Los resultados obtenidos por este grupo de investigadores, no concuerdan con los obtenidos en nuestra investigación. Sin embargo, se conoce que cuando se incluye el plasma porcino o bovino en la dieta animal desde fases tempranas, mejora el

desarrollo del sistema inmune e intestinal y esto genera un mejor desempeño en las siguientes fases (Campbell et al., 2006). Por consiguiente, se puede concluir que el haber observado buenos resultados de desempeño en todas las fases puede ser debido a un desarrollo temprano del sistema inmune e intestinal.

Los trabajos en los que se emplearon distintas concentraciones del hidrolizado de camarón o de harina de desechos de camarón en la dieta de los pollos de engorde, han sugerido que hasta cierta concentración el efecto sobre el desempeño animal es comparable al del grupo control, como se estableció anteriormente. A una concentración mayor se observa una disminución en los parámetros de desempeño (Mahata et al., 2008; Okonkwo, Akpan e Isaac, 2012; Ingweye et al., 2008). Sin embargo, se advierte que estas investigaciones no coinciden en la concentración máxima a la cual es posible emplear el producto (8-25 %). En el estudio del reemplazo de la harina de pescado por distintas concentraciones de hidrolizado de camarón de Mahata et al. (2008), los investigadores establecieron que es posible utilizar el inmunomodulador hasta una concentración del 8 %. En los estudios con harina de desecho de camarón de Okonkwo et al. (2012) e Ingweye et al. (2008), recomendaron aplicar el producto hasta una concentración del 5 % y 25 %, respectivamente, esta última como reemplazo de la harina de pescado. Resultados similares fueron encontrados en este trabajo experimental, donde la estrategia de menor concentración mostró mejor desempeño.

Según Leal et al. (2010), los distintos resultados obtenidos en ciertas investigaciones se pudieron presentar por la variación en la composición de los productos empleados. La composición cambia de acuerdo a la aplicación o no de hidrólisis e incluso de acuerdo a las condiciones y los procesos bajo los cuales se lleve a cabo este procedimiento. La alta concentración de fibra y ceniza en el producto no hidrolizado afecta a su digestibilidad. Mahata et al. (2008) señalaron que la alta cantidad de quitina en la harina de camarón influye en la digestibilidad y en la absorción de los nutrientes, pues constituye una

barrera física para el contacto entre las enzimas digestivas y los lípidos o las proteínas, lo que obstaculiza su adecuada utilización. Por otro lado, en la hidrólisis, un pH muy ácido causa la pérdida de ciertos aminoácidos lábiles lo que modifica la composición de los desechos de camarón procesados.

El último parámetro zootécnico que se consideró en esta investigación fue la mortalidad. Al analizar esta variable no se observaron porcentajes elevados, en los cuales las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas. Algunos autores han obtenido resultados similares al estudiar el efecto del plasma bovino o porcino, o la harina de desechos de camarón en pollos de engorde y el efecto del hidrolizado de camarón en tilapia (Bregendahl et al., 2005; Henn et al., 2013; Ingweye et al., 2008; Leal et al., 2010). Por lo tanto, la mortalidad en la presente investigación no depende de los tratamientos aplicados, por ende no existe una mejora de la supervivencia al añadir a la dieta de los pollos de engorde los inmunomoduladores estudiados. Las principales causas por las que se presentó mortalidad en la fase inicial fueron onfalitis y síndrome de muerte súbita, y en la fase de crecimiento y final ascitis, síndrome de muerte súbita y problemas respiratorios.

7. Capítulo VII: Conclusiones

En ausencia de vacunación el plasma bovino en la estrategia de dosificación menor (E2), evitó la caída drástica del título de anticuerpos maternos para APV durante la primera semana de vida de los pollos de engorde, por lo que este inmunomodulador a diferencia del HC podría mejorar la protección contra una enfermedad inicialmente.

La adición del plasma bovino y el hidrolizado de camarón en la dieta de los pollos de engorde, no afectó el peso relativo de los órganos linfoides estudiados, ni la relación del peso de los órganos entre sí, porque no se apreció un aumento significativo de la mayor parte de los índices, lo que indica que los productos no generan una mejor capacidad de respuesta inmune por un mejor desarrollo de órganos linfoides.

El efecto inmunomodulador del plasma bovino y el hidrolizado de camarón fue más evidente sobre el porcentaje de las células blancas estudiadas que sobre el resto de los parámetros inmunológicos analizados, especialmente cuando existió indicio de la presencia de estrés provocado por un desafío inmunológico. Cuando se presenta un estrés en la primera semana de vida de los pollos de engorde, solo el plasma bovino en la estrategia de dosificación menor (E2) genera mejores resultados en cuanto a las células del sistema inmune. Si el estrés se presenta en las semanas finales del ciclo de engorde, no solo el PBE2 genera mejores resultados, sino también el plasma bovino y el hidrolizado de camarón en la estrategia de dosificación mayor (E1). Resultados favorables para los animales porque un mejor porcentaje celular, permite que se adapten más fácilmente a la presencia de distintos factores estresantes y ser menos susceptibles a los mismos.

La adición del hidrolizado de camarón en la dieta de los pollos de engorde no genera un efecto positivo sobre el desempeño animal. A menor concentración (E2) actúa de forma similar que cuando los animales consumen una dieta basal y a mayor concentración (E1) se observa un efecto negativo sobre el

desempeño. Por lo tanto, no es posible señalar una estrategia de dosificación óptima pues ninguna genera mejores resultados en el desempeño en comparación a una dieta basal.

El plasma bovino en una estrategia de dosificación menor (E2), como parte de la dieta de pollos de engorde desafiados inmunológicamente, produce un mejor desempeño en todo el ciclo de engorde en comparación con una dieta sin la adición del mismo, ya que mejora la salud y la morfología intestinal, disminuye la sobreestimulación del sistema inmune y por ende evita el gasto energético innecesario. Por lo tanto, la estrategia mencionada se considera como la dosificación óptima para este inmunomodulador.

El plasma bovino y el hidrolizado de camarón no produjeron un efecto significativo sobre la mortalidad de la parvada. La mortalidad fue independiente de los tratamientos y se produjo por causas comunes de la crianza de los pollos de engorde como ascitis y síndrome de muerte súbita, entre otros.

8. Capítulo VIII: Recomendaciones

El efecto del plasma bovino y el hidrolizado de camarón sobre el título de anticuerpos se realizó mediante el análisis de anticuerpos específicos para una enfermedad. Sin embargo, se recomienda analizar el título de inmunoglobulinas G totales, pues son un mejor indicador de la estimulación del sistema inmune innato.

El desafío inmunológico para las aves se proporcionó mediante cama reutilizada y ausencia de vacunación contra APV, no obstante, para asegurar un desafío viral se recomienda realizar una simulación de la infección con los agentes patogénicos mediante la inoculación directa de los mismos en los animales. Si no es posible llevar a cabo lo antes mencionado, se recomienda emplear la cama reutilizada, pero que previamente haya sido analizada microbiológicamente para conocer los patógenos presentes en la misma y por ende las enfermedades que posiblemente podría presentar la parvada.

La formulación de la dieta con concentraciones altas de plasma bovino, generó un desbalance aminoacídico en las dos primeras semanas de crianza, por ello se recomienda ajustar las cantidades de aminoácidos esenciales al concepto de proteína ideal para asegurar la acción favorable del inmunomodulador sobre el desempeño en la estrategia de dosificación menor.

El estudio del desempeño en cuanto al consumo de alimento se realizó sólo por técnicas de gravimetría, sin embargo, para determinar el mecanismo por el cual produce un mejor consumo de alimento en presencia de los inmunomoduladores, se recomienda hacer estudios más profundos de la fisiología intestinal como: motilidad digestiva, distensión del intestino, capacidad de absorción, velocidad de hidratación del alimento, entre otras (Scott, 2005)

Referencias

- Abbas, A., Lichtman, A., y Pillai, S. (2014). *Cellular and Molecular Immunology*. (8.^a ed.). Filadelfia, Estados Unidos: Saunders Elsevier.
- Abbas, G., Khan, S., Hassan, M., Mahmood, S., Naz, S., y Gilani, S. (2015). Incidence of poultry diseases in different seasons in District Khushab, Pakistan. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2(2), 141-145.
- Abdel-Fattah, S., El-Sanhoury, M., El-Mednay, N. y Abdel-Azeem, F. (2008). Thyroid Activity, Some Blood Constituents, Organ Morphology and Performance of Broiler Chicks Fed Supplemental Organic Acids. *International Journal of Poultry Science*, 7 (3), 215-222.
- Abeysekera, A. M. (1998). Immunomodulators from medicinal plants used in Sri Lanka. *Vidyodaya Journal of science*, 7, 69-80.
- Adamu, Y. A, Usman A., Mera, U. M., Abubakar, M. B., Bello, A., y Umaru, M.A. (2015). Haematological Values of Broilers Managed on Titanium Dioxide Treated Litter. *International Invention Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(10), 139-143.
- Alkhalaf, A. (2010). Serological Survey on Avian Pneumovirus Infection in Commercial Poultry Farms in Saudi Arabia. *Pakistan Veterinary Journal*. 30(2), 124-125.
- Applegate, T. (2012). *Factors affecting feed intake – What do we know?*. En M. Mitchell. (Ed.), Arkansas Nutrition Conference, Rogers AR (pp. 1-8). Rogers, Estados Unidos: Diamond V.
- Aquativ. (2015). *HP 1 - s1 Shrimp Hydrolysate Powder*. Elven, Francia: Autor.
- Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T., Shirai-Matsumoto, K., Pérez-Zavaleta, Á., Barriga-Sosa, I. D. L. Á., & Ruiz Luna, A. (2013). Effects of including shrimp protein hydrolysate in practical diets on the growth and survival of redclaw crayfish hatchlings *Cherax quadricarinatus* (Von

- Martens, 1868). *Aquaculture Research*, 44(6), 966–973.
<http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03102.x>
- Aviagen. (2014). *Manual de Manejo*. Recuperado el 14 de marzo de 2016 de http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/RossBroilerHandbook2014-ES.pdf
- Bagust, T. (2012). *Salud de las aves de corral y control de enfermedades en los países en desarrollo: Bioseguridad de los centros de producción y estrategias de apoyo para la prevención y control de enfermedades*. Recuperado el 04 de marzo de <http://www.fao.org/docrep/016/al733s/al733s00.pdf>
- Bagust, T. (2016). *Salud de las aves de corral y control de enfermedades en los países en desarrollo*. Recuperado el 04 de marzo de 2016 de <http://www.fao.org/docrep/016/al729s/al729s00.pdf>
- Bao, Y. M., y Choct, M. (2010). Dietary NSP nutrition and intestinal immune system for broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 66(03), 511–518.
- Bascones-Martínez, A., Mattila, L., Gómez-Font, R., y Meurman, J. (2014). Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 19(1), 24-31.
- Bautista, J. y Castillo, A. (2011). Evaluación de la ganancia de peso en pollos de engorde suplementados con harina de bore. *Revista Innovando en la U*, 3(3), 111-114.
- Beski, M., Swick, A., y Iji, A. (2015a). Specialized protein products in broiler chicken nutrition: A review. *Animal Nutrition*, 1(2), 47–53.
- Beski, S., Swick, A., y Iji, P. (2015b). Effect of dietary inclusion of spray-dried porcine plasma on performance, some physiological and immunological response of broiler chickens challenged with *Salmonella sofia*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1-10.

- Bregendahl, K., Ahn, D. U., Trampel, D. W. y Campbell, J. M. (2005). Effects of dietary spray-dried bovine plasma protein on broiler growth performance and breast-meat yield. *The Journal of Applied Poultry Research*, 14(3), 560–568.
- Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N., y Sánchez-Machado, D. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chemistry*, 112(3), 671-675.
- Bui, H. T. D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M., y Lee, K.-J. (2014). Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*, 418-419, 11–16. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.046>
- Butcher, G. (2009). *Bioseguridad para la industria avícola*. Recuperado el 04 de marzo de 2016 de <http://www.elsitioavicola.com/articles/1825/bioseguridad-para-la-industria-avicola/>
- Butcher, G., y Miles, R. (1995). *The Avian Immune System*. Gainesville, Estados Unidos: Universidad de Florida.
- Butcher, G., y Miles, R. D. (2014). *Interrelationship of nutrition and immunity*. Recuperado el 12 de abril de 2016 de <https://edis.ifas.ufl.edu/vm104>
- Campbell, M., Crenshaw, D., Russell, E., y Hayes, K. (2008). Influence of Dietary Plasma Proteins on Supporting Animal Immunity Systems. In *Proc. 19th Annual meeting, Florida Ruminant Nutrition Symposium, Florida*, 79–88.
- Campbell, M., Quigley, D., Russell, E., y Kidd, T. (2003). Effect of spray dried bovine serum on intake, health and growth of broilers housed in different environments. *Journal of Animal Science*, 81, 11, 2776-2782.

- Campbell, M., Quigley, D., Russell, E., y Koehn, D. (2004a). Efficacy of spray-dried bovine serum on health and performance of turkeys challenged with *Pasteurella multocida*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 13(3), 388–393.
- Campbell, M., Quigley, D., y Russell, E. (2004b). Impact of Spray-Dried Bovine Serum and Environmental on Turkey Performance. *Poultry Science*, 83, 10, 1683-1687.
- Campbell, M., Russell, E., Crenshaw, D., y Koehn, J. (2006). Effect of spray-dried plasma form and duration of feeding on broiler performance during natural necrotic enteritis exposure. *The Journal of Applied Poultry Research*, 15(4), 584–591.
- Campos, A., Salguero, S., Albino, L., & Rostagno, H. (2008). *Aminoácidos en la nutrición de pollos de engorde: Proteína ideal*. In III CLANA. México: Congreso del Colegio Latino-Americano de Nutrición Animal. Recuperado el 21 de junio de 2016 de <http://www.lisina.com.ve/upload/Aminoacidos%20en%20la%20Nutricion%20de%20Pollos%20de%20Engorde%20Proteina%20Ideal.pdf>
- Casteleyn, C., Doom, M., Lambrechts, E., Van den Broeck, W., Simoens, P., & Cornillie, P. (2010). Locations of gut-associated lymphoid tissue in the 3-month-old chicken: a review. *Avian Pathology*, 39(3), 143–150.
- Chale, M. (2011). *EL DESAFÍO DEL PNEUMOVIRUS AVIAR*. Recuperado el 21 de marzo de 2016 de <http://documents.mx/documents/pneumovirusaviaresp.html>
- Cobb-Vantres. (2012). *Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición de pollos de engorde*. Recuperado el 16 de abril de 2016 de http://www.pronavicola.com/contenido/complementospollo/cobb500_bpn_sup_spanish%202012.pdf
- Cobb-Vantress. (2013). *Guía de Manejo del Pollo de Engorde*. Recuperado el 14 de marzo de 2016 de <http://cobb->

vantress.com/languages/guidefiles/b5043b0f-792a-448e-b4a1-4aff9a30e9eb_es.pdf

- Colin, G. (2015). *Sturkie's Avian Physiology*. (6.a ed.). Milwaukee, Estados Unidos: Elsevier.
- Cook, J. K. A. (2000). Avian Pneumovirus Infections of Turkeys and Chickens. *The veterinary journal*, 160, 2, 118-125.
- Davison, F., Kaspers, B., y Schat, K. (2008). *Avian Immunology*. (1.a ed.). Amsterdam: Elsevier, AP.
- Dhama, K., Chakraborty, S., Kumar, A., Tiwari, R., Barathidasan, R., Kumar, A., y Dayal, S. (2013). Fungal/Mycotic Diseases of Poultry-diagnosis, Treatment and Control: A Review. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16, 1626-1640.
- Deng, X., Li, X., Lui, P., Yuan, S., Zang, J., Li, S., y Piao, X. (2008). Effect of chito-oligosaccharide supplementation on immunity in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21(11), 1651-1658.
- Dinev, I. (2007). *Diseases of poultry*. (1.a ed.). Bulgaria: Ceva Sante Animal.
- Donald, J., Eckman, M. y Simpson, G. (2002). The Impact of Management on Infectious Diseases in Broilers. *The Alabama Poultry Engineering and Economics Newsletter*, (16), 1-4.
- Dunn, O. J. (1961). Multiple Comparisons Among Means. *Journal of the American Statistical Association*, 56(293), 52.
<http://doi.org/10.2307/2282330>
- El-Enshasy, H. y Hatti-Kaul, R. (2013). Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. *Trends in biotechnology*, 31(12), 668-677.

- Esmailzadeh, L., Shivazad, M., Sadeghi, A., y Karimi Torshizi, M. A. (2013). The effect of egg powder inclusion in the pre-starter diet on immune response of male broiler chicken. *Arch Tierz*, 56(51), 527-535.
- Eys, J. (2016). *Influence of nutrition on immune system*. Recuperado el 04 de marzo de 2016 de <http://nutriad.com/2015/01/influence-of-nutrition-on-immune-system/>
- Faulkner, O. B., Estevez, C., Yu, Q., y Suarez, D. L. (2013). Passive antibody transfer in chickens to model maternal antibody after avian influenza vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 152(3-4), 341–347. <http://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.01.006>
- Ferket, P. R., y Gernat, A. G. (2006). Factors that affect feed intake of meat birds: A review. *Int. J. Poult. Sci*, 5(10), 905–911.
- Gallois, M., y Oswald, P. (2008). Immunomodulators as efficient alternatives to in-feed antimicrobials in pig production. *Arch Zootechn*, 11, 15–32.
- García, M., Guerrero, G., Castro, M., y Medina, C. (2009). Inmunomoduladores como terapia adyuvante en la enfermedad infecciosa. *Medicina Universitaria*, 11(45), 247-259.
- Gatne, M., Patil, R., Shivi, M. y Rekhe, D. (2010). Evaluation of Immunodulatory effect of Stresroak Premix in Broiler Chick. *Veterinary World*, 3(3), 122-125.
- Genovese, K. J., He, H., Swaggerty, C. L., y Kogut, M. H. (2013). The avian heterophil. *Developmental & Comparative Immunology*, 41(3), 334–340. <http://doi.org/10.1016/j.dci.2013.03.021>
- Gobierno Autónomo Descentralizado de la Parroquia Rural de Yaruquí. (2016). *Ubicación*. Recuperado el 09 de febrero de 2016 de <http://www.yaruqui.gob.ec/web/index.php/contenido/item/ubicacion>.
- Guilin Botest Medical Electronic. (2008). *URIT-300 Automated Hematology Analyzer Operation Manual*. Guilin, China: Autor.

- Henn, J. D., Bockor, L., Vieira, M. S., Ribeiro, A. M. L., Kessler, A. M., Albino, L., ... Rangel, L. F. S. (2013). Inclusion of porcine spray-dried plasma in broiler diets. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(2), 229–237. <http://doi.org/10.3382/japr.2012-00613>
- HIPRA. (2010). *Pneumovirus aviar (APV) Síndrome de la Cabeza Hinchada*. Recuperado el 06 de noviembre de 2015 de https://www.hipra.com/wps/wcm/connect/61ba780043f3525994789d25884414e5/Pneumovirus_Aviar_Dossier_tecnico.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=61ba780043f3525994789d25884414e5.
- Hofrichter, M. (2011). *The Mycota: Industrial Applications*. (2.a ed.). Heidelberg, Alemania: Springer-Verlag Berlin.
- IDEXX. (2004). *Effective tool for monitoring avian pneumovirus in chicken and turkey flocks*. Recuperado el 20 de marzo de 2016 de https://www.idexx.com/pdf/en_us/livestock-poultry/apv-ab-test-brochure.pdf
- Ingweye, J. N., Okon, B. I., Ubuja, J. A., y Essien, A. I. (2008). Performance of Broiler Chickens Fed Fish and Shrimp Wastes. *Asian Journal of Animal Sciences*, 2 (2), 58-63.
- Jaimes-Olaya, J. A., Gómez Ramírez, A. P., Álvarez Espejo, D. C. M., Soler Tovar, D., Romero Prada, J. R., y Villamil Jiménez, L. C. (2010). Las enfermedades infecciosas y su importancia en el sector avícola. *Revista de Medicina Veterinaria*, (20), 49–61.
- Jamroz, D., Wiliczekiewicz, A., Orda, J., Kuryszko, J., y Stefaniak, T. (2012). Use of spray-dried porcine blood by-products in diets for young chickens: Porcine blood by-products for chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(2), 319–333.
- Jones, R. (2007). Avian pneumoviruses – an update. *International Hatchery Practice*, 21(2), 13-15.

- Jones, R. C. (2002). *AVIAN PNEUMOVIRUS INFECTION IN BROILERS AND LAYING CHICKENS*. Liverpool, Reino Unido: Universidad de Liverpool.
- Keong, S., Abd, M., Banu, N., Yong, W., Rahman, A., Kee, B., y Ky, H. (2011). Evaluation of Immunomodulatory Effect: Selection of the Correct Targets for Immunostimulation Study. *American Journal of Immunology*, 7(2), 17-23.
- Khosravi, S., Bui, H. T. D., Rahimnejad, S., Heralut, M., Fournier, V., Jeong, J. B., y Lee, K.-J. (2015a). Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Nutrition*, 21(3), 321–331.
- Khosravi, S., Rahimnejad, S., Heralut, M., Fournier, V., Lee, C.-R., Dio Bui, H. T., ... Lee, K.-J. (2015b). Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), 858–868. <http://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.039>
- Kidd, M. T. (2004). Nutritional Modulation of Immune Function in Broilers. *Poultry Science*, 83, 650-657.
- Kinung'hi, S. M., Tilahun, G., Hafez, H. M., Woldemeskel, M., Kyule, M., Grainer, M. y Baumann, M. P. (2004). Assessment of economic impact caused by poultry coccidiosis in small and large scale poultry farms in Debre Zeit, Ethiopia. *International Journal of Poultry Science*, 3(11), 715–718.
- Klasing, K. (1998). Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Science*, 18(7), 1119–1125.
- Klasing, K. C. (2007). Nutrition and the immune system. *British Poultry Science*, 48(5), 525-537.

- Kogut, M. H. (2009). Impact of nutrition on the innate immune response to infection in poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 18, 111-124.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583. <http://doi.org/10.2307/2280779>
- Leal, A. L. G., de Castro, P. F., de Lima, J. P. V., de Souza Correia, E., y de Souza Bezerra, R. (2010). Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. *Aquaculture International*, 18(4), 635–646. <http://doi.org/10.1007/s10499-009-9284-0>
- Lebish, J., y Moraski, M. (1987). Mechanisms of immunomodulation by drugs. *Toxicologic Pathology*, 15(3), 338–345.
- Lee, W., Lillehoj, S., Lee, H., Jang, I., Ritter, D., Bautista, A., y Lillehoj, P. (2011). Impact of Fresh or Used Litter on the Posthatch Immune System of Commercial Broilers. *Avian Diseases*, 55(4), 539–544.
- Leeson, S. (2009). *Broiler Breeder Production*. Inglaterra: Nottingham University Press.
- Leeson, S. (2015). *Spray-dried plasma assessed*. Recuperado el 03 de abril de 2016 de http://redmidia.com/microsites/apc/imgs/APC%20%20Leeson%20article%20Feedstuffs%20August_2015.pdf
- Lei, Y., y Kim, I. H. (2013). Effect of whole egg powder on growth performance, blood cell counts, nutrient digestibility, relative organ weights, and meat quality in broiler chickens. *Livestock Science*, 158(1-3), 124–128. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.10.018>
- León, L. y Velázquez, V. (2013). *Manual de Prácticas de Laboratorio de Inmunología*. Toluca, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

- LICAN. (2015). *PROLECHON*. Recuperado el 23 de marzo de 2016 de <http://www.licanfood.com/archivos/productos/PROLECHON.pdf>
- Lister, S. (2006). What's in a name? (TRT, SHS; ART or APV). *Poultry focus*. (12).
- Maas, R., Rosema, S., van Zoelen, D., y Venema, S. (2011). Maternal immunity against avian influenza H5N1 in chickens: limited protection and interference with vaccine efficacy. *Avian Pathology*, 40(1), 87–92. <http://doi.org/10.1080/03079457.2010.541226>
- Mahata, M., Dharma, A., Irsan Ryanto, H., y Rizal, Y. (2008). Effect of Substituting Shrimp Waste Hydrolysate of *Penaeus merguensis* for Fish Meal in Broiler Performance. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(6), 806–810. <http://doi.org/10.3923/pjn.2008.806.810>
- Martínez, C, Benavides, G., y Osorio, J. (2009). El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Biosalud*, 8, 178–188.
- Martins, S., Hötzel, J., y Poletto, R. (2013). Influence of in-house composting of reused litter on litter quality, ammonia volatilisation and incidence of broiler foot pad dermatitis. *British Poultry Science*, 54(6), 669–676.
- Maynard, P. (2012). *An Integrators Perspective of Nutrition and Immunology*. En M. Mitchell. (Ed.), Arkansas Nutrition Conference, Rogers AR (pp. 1-3). Rogers, Estados Unidos: Diamond V.
- McWilliams, L. H. (2008). *Physiological impact of hematocrit level during stress in broilers*. Tesis de doctorado no publicada, Mississippi State University, Mississippi, Estados Unidos.
- Montilla, H. (2007). *LABORATORIO, HERRAMIENTA CLAVE EN LA INDUSTRIA AVÍCOLA*. Recuperado el 04 de marzo de 2016 de http://amevea-ecuador.org/web_antigua/datos/LaboratorioDR%5B1%5D._HECTOR_MONTILLA_.PDF

- Moreno, B., Flores, G. y Sandoval, M. (2007). *Manual de Técnicas de Necropsia Patología General*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Morley, A., y Thomson, D. (1984). Swollen-Head Syndrome in Broiler Chickens. *Avian Diseases*, 28(1), 238-243.
- MSD Animal Health. (2008). *El sitio de información en la red sobre el Metapneumovirus Aviar*. Recuperado el 06 de noviembre de 2015 de <http://www.pneumovirus-aviar.com/metapneumovirus-aviar.asp> el 6/11/2015.
- Mukherjee, P., Nema, N., Bhadra, S., Mukherjee, D., Braga, F., y Matsabisa, M. (2014). Immunomodulatory leads from medicinal plants. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 13(2), 235-256.
- Müller, C., Jenni-Eiermann, S., y Jenni, L. (2011). Heterophils/Lymphocytes-ratio and circulating corticosterone do not indicate the same stress imposed on Eurasian kestrel nestlings: H/L-ratio and corticosterone in kestrel nestlings. *Functional Ecology*, 25(3), 566–576. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01816.x>
- Murphy, K., Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Mowat, a., y Weaver, C. (2012). *Immunobiology*. (8.a ed.). Nueva York, Estados Unidos: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.
- Mussojev, A., Assanov, N., Mussina, G., Sansyzbai, A., y Valdovska, A. (2013). Serological aspects of avian Metapneumovirus Infection in kazakhstan. *Research for rural development*, 1, 147-150.
- Okonkwo, A. C., Akpan, I. P., e Isaac, L. J. (2012). Performance and Carcass Characteristics of Finisher Broilers Fed Shrimp Waste Meal. *Agricultural Journal*, 7(4), 270-272

- Okoye, F. C., Ojewola, G. S., y Njoku-Onu, K. (2005). Evaluation of Shrimp Waste Meal as a Probable animal Protein Source for Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 4(7), 458-461
- Opheim, M., Sterten, H., Øverland, M., y Kjos, N. P. (2016). Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein hydrolysate – Effect on growth performance and intestinal morphometry in broiler chickens. *Livestock Science*, 187, 138–145. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.03.005>
- Orellana, J. (2015). Indicadores del sector avícola del Ecuador. *Avicultura Ecuatoriana*, 213, 4.
- Parreira, V., y Yano, T. (1998). Cytotoxin produced by *Escherichia coli* isolated from chickens with swollen head syndrome (SHS). *Veterinary microbiology*, 62(2). 111-119.
- Peres, M., Carrijo, A., Higa, J., y de Oliveira, J. (2006). Evidência sorológica de Pneumovírus aviário em lotes de frangos de corte em municípios de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(4), 254-258.
- Perozo-Marín, F., Nava, J., Mavárez, Y., Arenas, E., Serje, P. y Briceño, M. (2004). Caracterización morfológica de los órganos linfoides en pollos de engorde de la línea Ross criados bajo condiciones de campo en el estado Zulia, Venezuela. *FCV-LUZ*, 14(3), 217-225.
- Pierce, J., Cromwell, G., Lindemann, M., Russell, L., y Weaver, E. (2005). Effect of spray dried plasma and immunoglobulins and performance of early weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 83, 2876-2885.
- Quigley, D., y Drew, D. (2000). Effects of oral antibiotics or IgG on survival, health and growth in dairy calves challenged with *Escherichia coli*. *Food and Agricultural Immunology*, 12, 311-318.
- Qureshi, M. A., Hussain, I., y Heggen, C. L. (1998). Understanding immunology in disease development and control. *Poultry Science*, 77(8), 1126–1129.

- Rautenschlein, S. (2013). *Overview of Avian Metapneumovirus (Turkey rhinotracheitis, Avian pneumovirus, Swollen head syndrome)*. Recuperado el 21 de marzo de 2016 de http://www.merckvetmanual.com/mvm/poultry/avian_metapneumovirus/overview_of_avian_metapneumovirus.html
- Revolledo, L. (2010). *Una breve visión de la inmunidad en las aves y de la respuesta ante la infección por Salmonella*. Recuperado el 11 de abril de 2016 de <http://www.veterinariadigital.com/articulo.php?id=84>
- Ritchie, B., Harrison, G., y Harrison, L. (1994). *Avian medicine: principles and application*. Lake Worth, Estados Unidos: Wingers Publishing, Inc.
- Ritz, C., Fairchild, B., y Lacy, M. (2005). *Litter Quality and Broiler Performance*. Recuperado el 17 de marzo de 2016 de <http://www.thepoultrysite.com/articles/388/litter-quality-and-broiler-performance/>
- Robin, O. (2008). *Estrategia de protección de las aves importancia de su buen funcionamiento*. Recuperado el 06 de abril de 2016 de http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/dr._oscar_robin.pdf
- Rose, M. (1979). The immune system in birds. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 72(9), 701-705.
- Salvadori, M., Yamada, A., y Yano, T. (2001). Morphological and intracellular alterations induced by cytotoxin VT2y produced by *Escherichia coli* isolated from chickens with swollen head syndrome. *FEMES Microbiology Letters*, 79-84.
- Sánchez, H., Guerrero, F. y Castellanos, M. (2005). *Ecología*, Umbral: Zapopan, México.
- Sandoval, G., Zbinden, C., Terraes, J., Revidatti, F., y Fernández, R. (2002). *Relación Heterófilo/linfocito e índice morfométrico burla como indicadores de estrés crónico en pollos parrilleros*. Recuperado el 20 de

junio de 2016 de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/V-044.pdf>

- Santiana, I. (2013). *Programa Nacional Sanitario Avícola*. Recuperado el 04 de marzo de 2016 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2014/11/Programa-Nacional-Sanitario-Avicola-PNSA1.pdf>
- Scott, T. A. (2005). Variation in feed intake of broiler chickens. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, 15, 237-244
- Selegean, M., Putz, M. V., y Rugea, T. (2009). Effect of the Polysaccharide Extract from the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* against Infectious Bursal Disease Virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(8), 3616–3634. <http://doi.org/10.3390/ijms10083616>
- Shanmugasundaram, R., Lilburn, M. S., y Selvaraj, R. K. (2012). Effect of recycled litter on immune cells in the cecal tonsils of chickens. *Poultry Science*, 91(1), 95–100. <http://doi.org/10.3382/ps.2011-01800>
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3/4), 591–611.
- Song, H., Peng, K., Li, S., Wang, Y., Wei, L., y Tang, I. (2012). Morphological characterization of the immune organs in ostrich chicks. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36(2), 89-100.
- Stehling, E., Yano, T., Brocchi, M., y Da Silveira, W. (2003). Characterization of a plasmid-encoded adhesin of an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain isolated from a case of swollen head syndrome (SHS). *Veterinary Microbiology*, 95(2), 111-12-0.
- Stuart, J. C. (1991). Síndrome de la Cabeza Hinchada. *Selecciones Avícolas*, 169-174.
- Sun, Z., Ma, Q., Li, Z., & Ji, C. (2009). Effect of partial substitution of dietary spray-dried porcine plasma or fishmeal with soybean and shrimp protein

hydrolysate on growth performance, nutrient digestibility and serum biochemical parameters of weanling piglets. *Asian-Aust J Anim Sci*, 22(7), 1032–1037.

Talebi, A., Asri-Rezaei, S., Rozeh-Chai, R., y Sahraei, R. (2005). Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *Int. J. Poult. Sci*, 4(80), 573–579.

Tambini, A., Alba, M., Perales, R. y Falcón, P. (2010). Evaluación anatómo-histopatológica de bursa, timo y bazo de pollos de carne criados sobre cama reutilizada vs. cama nueva. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 21(2), 180-186.

Teixeira, A., Oliveira, M., Menezes, J., Gouvea, B., Texeira, S., y Gomes, A. (2015). Poultry litter of wood shavings and/or sugarcane bagasse: animal performance and bed quality. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 28(3), 238-246.

Tizard, I. (2009). *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. (8.a ed.). Barcelona, España: Elsevier.

Torrallardona, D. (2010). Spray dried animal plasma as an alternative to antibiotics in weanling pigs: a review. *Asian-Aust J Anim Sci*, 23(1), 131–48.

Tотора, G., Funke, B., y Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. (9.a ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Tucker, J., Naranjo, V, Bidner, T., y Southern, L. (2011). Effect of salmon protein hydrolysate and spray-dried plasma protein on growth performance of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1466–1473.

Tukey, J. W. (1949). Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics*, 5(2), 99. <http://doi.org/10.2307/3001913>

- Valdivieso, C. E., Valdivieso, R., y Valdivieso, O. A. (2011). Determinación del tamaño muestral mediante el uso de árboles de decisión. *UPB-Investigación & desarrollo*, 11, 148-176.
- Vasquéz, C. (2009). *Algunas consideraciones para la interpretación serológica en ELISA*. Recuperado el 15 de junio de 2016 de <http://www.engormix.com/MA-avicultura/sanidad/articulos/algunas-consideraciones-interpretacion-serologica-t2558/165-p0.htm>.
- Vejarano, M., Alba, M., Reyna, P., y Casas, E. (2008). Comparación productiva de pollos de carne criados en camas nuevas vs. cama reutilizada por cinco campañas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 19(2), 126-133.
- Velayudhan, B. T., Lopes, V. C., Noll, S. L., Halvorson, D. A., y Nagaraja, K. V. (2003). Avian Pneumovirus and Its Survival in Poultry Litter. *Avian Diseases*, 47(3), 764–768. <http://doi.org/10.1637/7042>
- Wiedemann, S. G. (2015). *Litter Reuse: An Evidence-based Guide to Reusing Litter*. Canberra, Australia: RIRDC.
- Wijtten, P. J. A., Prak, R., Lemme, A., & Langhout, D. J. (2004). Effect of different dietary ideal protein concentrations on broiler performance. *British Poultry Science*, 45(4), 504–511. <http://doi.org/10.1080/100071660412331286217>
- WU, G.-J., & TSAI, G.-J. (2004). Cellulase degradation of shrimp chitosan for the preparation of a water-soluble hydrolysate with immunoactivity. *Fisheries Science*, 70(6), 1113–1120.
- Xavier, B., Broom, M., McManus, P., Torres, C., y Bernal, M. (2010). Number of flocks on the same litter and carcass condemnations due to cellulitis, arthritis and contact foot-pad dermatitis in broilers. *British Poultry Science*, 51(5), 586–591.

- Yamak, U., Sarica, M., Boz, M., y Uçar, A. (2016). Effect of Reusing Litter on Broiler Performance, Foot-Pad Dermatitis and Litter Quality in Chickens with Different Growth Rates. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(1), 85–91.
- Zhang, Y., Zheng, P., Yu, B., He, J., Yu, J., y Mao, X. B. (2016). Dietary spray-dried chicken plasma improves intestinal barrier function and modulates immune status in weaning piglets. *Journal of Animal Science*, 94(1), 173–184.
- Zhou, T. X., Chen, Y. J., Yoo, J. S., Huang, Y., Lee, J. H., Jang, H. D., Kim, I. H. (2009). Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, blood characteristics, relative organ weight, and meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, 88(3), 593–600.
<http://doi.org/10.3382/ps.2008-00285>

ANEXOS

Anexo 1. Título de anticuerpos para el Virus de la Enfermedad de Newcastle

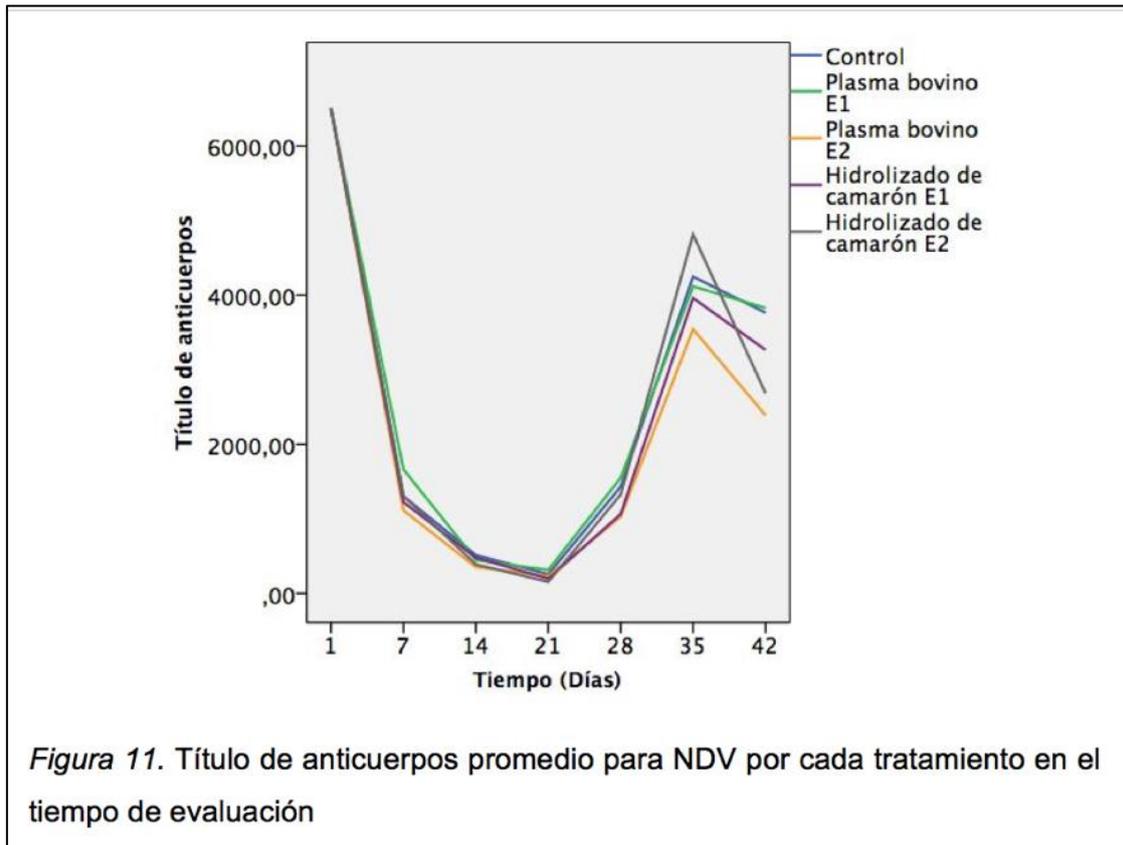


Tabla 12. Título de anticuerpos promedio y Kruskal Wallis para NDV en el tiempo de evaluación

Tiempo (Días)	Título de anticuerpos					Valor P
	Control	PBE1	PBE2	HCE1	HCE2	
1	6503,00	6503,00	6503,00	6503,00	6503,00	NS
7	1302,29	1662,90	1114,23	1223,97	1306,69	NS
14	514,27	447,49	353,92	479,81	389,51	NS
21	256,02	314,07	233,67	197,46	155,40	NS
28	1431,30	1550,40	1029,92	1064,72	1325,97	NS
35	4247,77	4117,88	3543,59	3960,89	4814,48	NS
42	3765,10	3827,57	2387,70	3265,75	2685,67	NS

Nota: Los valores representan la media geométrica \pm DE de 5 réplicas por tratamiento cada una representada por 20 pollos de engorde. NS = no significativo a un valor $P > 0,05$

Anexo 2. Valores normales de linfocitos, monocitos y heterófilos en aves

Tabla 13. Rangos normales de linfocitos, monocitos y heterófilos de aves

Parámetro	Porcentaje
Linfocitos	20-65
Monocitos	0-5
Heterófilos	30-75

Nota: Recuperado de Martínez et al. (2009).

Tabla 14. Porcentaje promedio por edad de linfocitos, monocitos y heterófilos de pollos Cobb Vantres

Edad (días)	Porcentaje		
	Linfocitos	Monocitos	Heterófilos
1	33,41	2,91	51,04
7	35,25	2,95	48,17
14	42,12	3,05	41,18
21	43,04	3,34	38,72
28	45,36	4,02	34,02
35	59,16	5,11	27,09
42	60,02	5,28	25,81

Nota: Recuperado de Talebi et al. (2005).

Anexo 3. Disposición de las aves en el galpón experimental



Anexo 4. Sacrificio por aturdimiento



Anexo 5. Vacunación vía óculo-nasal



Anexo 6. Ficha técnica del plasma bovino (PROLECHON)



www.licanfood.com

PROLECHON®

Spray Dried Blood Plasma
(Plasma de Bovinos en Polvo)

DESCRIPCION DEL PRODUCTO: Ingrediente para Alimentación Animal

Especie de Origen:	Bovino
Tipo de Producto:	Plasma Sanguíneo de Bovinos Deshidratado en Spray
Recomendación de Uso:	Alimentos acuícolas, mascotas, cerdos
Método de Aplicación:	Adicionar directamente al alimento
Dosis:	1% - 10%
Almacenaje:	Almacenar en ambiente fresco y seco
Fecha de expiración:	1 año desde la fecha de elaboración
Embalaje:	20 kg. en bolsas de papel de doble hoja exterior y bolsa de polietileno en el interior.

FABRICANTE & EXPORTADOR:

Lican Alimentos S.A. Santa Adela 9589, Santiago, Chile.
Lican Paraguay S.A. Teniente Espinola 535, Asunción, Paraguay
Lican do Brasil Ltda. Av. Brig. Faria Lima 1768, 4º andar, SP. Brazil.

COMPOSICION - ANALISIS:

Análisis Físico - Químico		Análisis Microbiológico	
Proteína Total	75 % Mínimo	Recuento Aeróbicos Totales	< 200.000 germs /g
Humedad	8 % Máximo	Salmonella	Ausente / 25 g
Grasa	1 % Máximo	E. coli	Ausente / g
Cenizas	10 % Máximo	Enterobacterias	< 10 germs / g

AMINO ÁCIDO PROFILE:

Aminoácidos	Total
Alanina	4,0 %
Arginina	4,5 %
Acido Aspartico	7,6 %
Cistina	2,7 %
Acido Glutamico	11,3 %
Glicina	2,9 %
Histidina	2,7 %
Isoleucina	2,8 %
Leucina	7,5 %

Aminoácidos	Total
Lisina	6,5 %
Metionina	0,7 %
Fenilalanina	4,4 %
Prolina	4,3 %
Serina	4,5 %
Treonina	4,6 %
Triptofano	1,3 %
Tirosina	3,5 %
Valina	5,1 %



Our factory in Chile: Lican Alimentos S.A. is an ISO 9001:2008 certified company and all the process is according to HACCP system certified by SGS.

VERSION 08/ES

LICAN BRASIL
Av. Brig. Faria Lima 1768, 4º andar, SP Brasil
Phone: 55 (11) 3093 0799, FAX: 55 (11) 3816 7661
E-mail: info@licanfood.com

LICAN CHILE
Santa Adela 9580, Santiago, Chile
Phone: 56 (2) 5381081, FAX: 56 (2) 5571341
E-mail: info@licanfood.com

LICAN PARAGUAY
Teniente Espinola 535, Asunción, Paraguay
Phone: 595 (21) 299 542, FAX: 595 (21) 299 543
E-mail: info@licanfood.com

CARACTERISTICAS DE PROLECHON: (Spray Dried Blood Plasma)

PROLECHON es un suplemento proteico para alimentación animal conteniendo albúminas y globulinas plasmáticas. Es una fuente natural de inmunoglobulinas y de proteínas altamente digeribles y palatables. PROLECHON contiene proteínas funcionales presentes en el plasma sanguíneo animal: Alfa globulinas, Beta globulinas, Gamma globulinas (IgG), albúminas y fibrinógeno.

PROLECHON es elaborado a partir de plasma sanguíneo de animales sanos sometidos a una inspección veterinaria oficial ante y pos mortem, sacrificados en establecimientos autorizados y bajo control oficial por autoridades competentes del Ministerio de Agricultura.

PROLECHON es una fuente de proteínas funcionales muy estable y segura, elaborado bajo rigurosos procedimientos de aseguramiento de calidad (GMP y HACCP), por lo tanto nuestro producto PROLECHON es reconocido como un ingrediente para alimentación animal inocuo, seguro y natural.

PROLECHON incrementa fuertemente el consumo de alimentos, aumenta la ganancia de peso, mejora la eficiencia de la utilización de la dieta y mejora el estado de salud general en diversas especies animales: cerdos, aves, perros y peces de cultivo. Investigaciones indican que algunas proteínas funcionales presentes en el plasma sanguíneo en polvo son resistentes a la digestión (IgG) y por lo tanto pueden llegar hasta el intestino donde actúan ayudando a la respuesta inmune local. Estos estudios sugieren que el plasma sanguíneo en polvo es una alternativa ideal para reemplazar algunos antibióticos utilizados en los alimentos para animales.

Diversas investigaciones indican que el plasma sanguíneo en polvo previene infecciones intestinales por E. coli y otros patógenos. El plasma sanguíneo entrega protección inmune a los cerdos jóvenes, por lo tanto los nutrientes son utilizados para funciones de crecimiento más que para la activación del sistema inmune (durante infecciones suaves). La respuesta al plasma sanguíneo en polvo es mayor cuando los cerdos están confinados en condiciones menos sanitarias, y también cuando los cerdos tienen su sistema inmune debilitado.

PROLECHON se utiliza en las raciones pre-iniciales e iniciales de cerdos en dosis que dependen de la edad a destete, el estado de salud y el nivel deseado de ganancia de peso. Los objetivos de esta suplementación son:

- Estimular fuertemente el consumo de alimentos sólidos post destete.
- Aumentar la Ganancia Diaria de Peso
- Mejorar la eficiencia de utilización del alimento
- Prevenir infecciones intestinales por E. coli y otros patógenos
- Entregar protección inmune a los cerdos jóvenes

Como recomendación general, se detallan los siguientes niveles de incorporación en la ración:

Edad de destete	Fase	PROLECHON	Hemoglobina
14 días	hasta 21 días	7,5% a 10%	hasta 2%
	de 22 a 30 días	3,5% a 5%	hasta 2,5%
21 días	hasta 28 días	6% a 7,5%	hasta 2,5%
	de 29 a 42 días	0% a 4%	1% a 2,5%
28 días	hasta 35 días	3,7% a 7,5%	hasta 2,5%
	de 36 a 49 días	0%	1% a 2,5%

Consulte a su asesor en nutrición animal para adaptar los niveles de inclusión a sus propios requerimientos.

VERSION 08/ES

LICAN BRASIL
 Av. Brig. Faria Lima 1768, 4º andar, SP Brasil
 Phone: 55 (11) 3093 0799, FAX: 55 (11) 3816 7661
 E-mail: info@licanfood.com

LICAN CHILE
 Santa Adela 9580, Santiago, Chile
 Phone: 56 (2) 5381081, FAX: 56 (2) 5571341
 E-mail: info@licanfood.com

LICAN PARAGUAY
 Teniente Espinola 535, Asunción, Paraguay
 Phone: 595 (21) 299 542, FAX: 595 (21) 299 543
 E-mail: info@licanfood.com

Anexo 7. Ficha técnica del hidrolizado de camarón (HP1-S1)

ACTIPAL



HP 1 - S1

Shrimp Hydrolysate Powder

PRESENTATION

ACTIPAL HP 1 – S1 is a super premium **functional hydrolysate powder** designed for use in **aqua feed**.

This product is manufactured from **fresh shrimp co-products** (issued from aquaculture) carefully selected for their unique nutritional profile and superior attractiveness and whose freshness is guaranteed by a strict local supply chain control and a fast local production process.

Marine bioactive peptides are well known to have a direct action on key biological mechanisms (immuno-modulator, anti-microbial, hormone-like growth factor peptides...) allowing animal higher resistance to stress and pathogens thus leading to better health and survival.

Our marine raw materials are then submitted to our core hydrolysis process that guarantees adequate level of **free amino acids** and **bioactive peptides**. In addition to the animal health benefit, these low molecular weight compounds are easy to assimilate and quickly cross the intestine membrane leading to an improved feed efficiency and a faster growth.

In addition to its perfectly well balanced protein profile and superior bioactivity, **ACTIPAL HP 1 – S1** provides high quality essential nutrients such as **nucleotides, phospholipids, ω_3 fatty acids**, and **cholesterol**.

Finally, thanks to its shrimp raw material origin, our hydrolysate is also an innate source of **astaxanthin**, a strong antioxidant and a natural pigment.

BENEFITS

ACTIPAL HP 1 – S1 will improve your feed formula by increasing:

- | | | |
|--------------------------------------|---|--|
| - Feed Palatability | → | Higher Feed Intake |
| - Feed Nutritional quality | → | Better FCR, Faster Growth |
| - Feed Bioactivity properties | → | Higher survival, Better Animal Health |

According to your particular problematic, you might take advantage of **ACTIPAL HP 1 – S1** benefits:

- As a **cost effective alternative solution** to substitute specific raw material like fishmeal or krill meal
- As a **performance booster** in your premium feed range

Not for human consumption – This data sheet was created to assist users. The data listed is based on general use only and is not intended to establish a binding contractual relationship.

Information Sheet – Ref: HP 1 – S1 1880119 Date: 04/12/2014 Cancels and replaces the former version

DIANA
Performance from nature
AQUA
Member of the Symrise Group

ACTIPAL



HP 1 - S1

Shrimp Hydrolysate Powder

NUTRITIONAL ANALYSIS

PROXIMAL ANALYSIS

- Moisture:	4-7 %	(CE N°152/2009, Dessication 103°C, 4 hours)
- Protein:	62-67 %	(ISO 16634-1, Dumas method)
- Fat:	8-13 %	(CE N°152/2009, Hot acid hydrolysis)
- Ash:	11-15 %	(Incineration 550°C, 8 hours)

MINERALS

- Calcium:	3.60 %
- Phosphorus:	0.80 %
- Sodium:	1.10 %
- NaCl:	2.43 %

DIGESTIBILITY

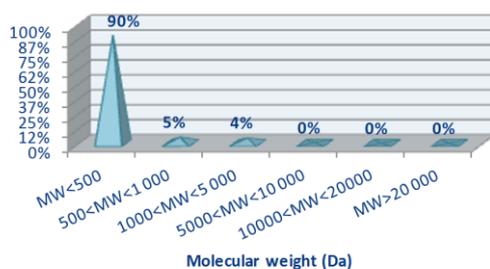
- Ileal Digestibility: 97 %

PROTEIN QUALITY

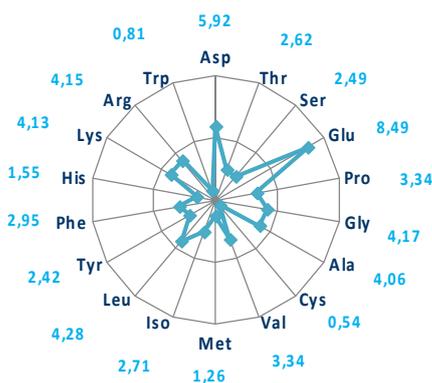
- Soluble Protein:	91 %	of total protein
- Taurine:	0.8 %	of product
- Nucleotides:	0.7 %	of product

- Total Amino acids: 91 % of protein

Molecular weight repartition
(% of peptides)



Main amino acids
(% of products)



Not for human consumption – This data sheet was created to assist users. The data listed is based on general use only and is not intended to establish a binding contractual relationship.

Information Sheet – Ref: HP 1 – S1 1880119 Date: 04/12/2014 Cancels and replaces the former version



ACTIPAL



HP 1 - S1

Shrimp Hydrolysate Powder

NUTRITIONAL ANALYSIS

FAT PROFILE

- Cholesterol:	1.10 % of product	- Total UFA:	29.5 % of fatty acids
- Phospholipids:	4.30 % of product	- Total PUFA:	39.6 % of fatty acids
		- EPA:	6.1 % of fatty acids
		- DHA:	6.3 % of fatty acids
		- Total ω_3 :	15.2 % of fatty acids
		- Total ω_6 :	22.9 % of fatty acids
		- ω_6/ω_3 :	1.5

FATTY ACIDS COMPOSITION

(Relative %)

Saturated		Monounsaturated		Polyunsaturated (PUFA)	
C14:0	: 1,30 %	C16:1	: 2,70 %	C16:2	: 0,20 %
C15:0	: 1,70 %	C17:1	: 0,90 %	C18:2	: 18,30 %
C16:0	: 18,10 %	C18:1	: 22,80 %	C20:2	: 2,00 %
C17:0	: 2,00 %	C19:1	: 0,10 %	C16:3	: 0,10 %
C18:0	: 5,90 %	C20:1	: 2,00 %	C18:3	: 1,40 %
C19:0	: 0,30 %	C22:1	: 0,70 %	C20:3	: 0,50 %
C20:0	: 0,50 %	C24:1	: 0,40 %	C22:3	: 0,30 %
C21:0	: 0,10 %			C16:4	: 0,60 %
C22:0	: 0,70 %			C18:4	: 0,30 %
C23:0	: 0,20 %			C20:4	: 2,30 %
C24:0	: 0,30 %			C22:4	: 0,20 %
				C20:5	: 6,10 %
				C22:5	: 1,40 %
				C22:6	: 6,30 %

FRESHNESS

Biogenic amines

- Histamine:	< 100 ppm
- Cadaverine:	< 500 ppm
- Putrescine:	< 500 ppm

Total Volatile Nitrogen

- TVN:	< 200 mg EQ/100G
--------	------------------

BACTERIOLOGICAL ANALYSIS

- Salmonella:	abs/25g
- Enterobacteria:	< 300 CFU/g

Not for human consumption – This data sheet was created to assist users. The data listed is based on general use only and is not intended to establish a binding contractual relationship.

Information Sheet – Ref: HP 1 – S1 1880119 Date: 04/12/2014 Cancels and replaces the former version

ACTIPAL



HP 1 - S1

Shrimp Hydrolysate Powder

NUTRITIONAL ANALYSIS

FOOD SAFETY

Contaminants

- Lead:	< 10 ppm	- Mercury:	< 0.1 ppm
- Cadmium:	< 2 ppm	- Arsenic:	< 25 ppm

This product does not contain any of below listed contaminants:

- Oxytetracycline	- Erythromycin	- Chloramfenicol	- Florfenicol	- Flumequine
- Ciprofloxacin	- Enrofloxacin	- Emamectine Benzoate	- Crystal Violet	- Leuco Crystal Violet
- Abamectin	- Brilliant Green	- Green Malachite	- Leuco Green Malachite	- Oxolinic Acid

RECOMMENDED USE

ACTIPAL HP 1 – S1 should be used in inclusion from 1 to 5% concentration in feed.

ACTIPAL HP 1 – S1 should be stored:

- at ambient temperature
- away from sunlight
- for up to 12 months following the date of manufacture in unopened bags

Packaging: 20 or 25 kg bags

COMPOSITION

Shrimp hydrolysate; *Preservatives:* citric acid (E330), ascorbic acid (E300); *antioxidants:* BHA (E320), propyl gallate (E310)

Other specific analysis may be available on request.

For more information, please contact your local representative: Email: aquativ@diana-aqua.com

Not for human consumption – This data sheet was created to assist users. The data listed is based on general use only and is not intended to establish a binding contractual relationship.

Information Sheet – Ref: HP 1 – S1 1880119 Date: 04/12/2014 Cancels and replaces the former version

