



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Prevención de la translocación bacteriana mediante el uso de un prebiótico comercial
hecho a base de Paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL) en pollo de
engorda.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

Miguel Adrián Barrera Aguilar

ASESOR:

M en C. Juan Omar Hernández Ramírez (FES CUAUTITLÁN UNAM)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES - CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Prevención de la translocación bacteriana mediante el uso de un prebiótico comercial hecho a base de paredes celulares de Saccharomyces cerevisiae (PCL) en pollo de engorda

Que presenta el pasante: MIGUEL ADRIAN BARRERA AGUILAR

Con número de cuenta: 30507508-6 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Ariel Ortíz Muñiz	
VOCAL	Dr. José Juan Francisco Ortega Sánchez De Tagle	
SECRETARIO	M. en C. Juan Omar Hernández Ramírez	
1er. SUPLENTE	M.V.Z. Juan Arturo Olivares Díaz	
2do. SUPLENTE	M. en C. Celso López López	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecerle a Dios por darme tantas bendiciones durante estos 28 años, por darme dos hermosos regalos, mis padres, quienes fueron las únicas dos personas que me acompañaron durante este largo viaje y que a pesar de muchas cosas jamás dejaron de creer en mí.

Papá, gracias porque has sido mi maestro y mi ejemplo a seguir todos los días, recuerdo todas las mañanas nuestras pláticas y consejos que me dabas con mucho amor.

Mamá, gracias por dejar a un lado todas tus actividades siempre y dedicarme todo tu tiempo para que mi educación fuera la mejor, me has regalado el carácter más noble y al pasar de los años me has forjado para ser un hombre de bien como mi padre.

Gracias papás por dármelo todo y enseñarme a ser un hombre de bien, los amo.

A mis abuelos Delfina y Ricardo que a pesar de que ya se encuentran muy lejos, aún siento su compañía todos los días. Este gran paso va también para ustedes.

A mi novia por ser tan amorosa y por pintar sonrisas en mis días nublados, y ser mi compañía durante todo este proyecto.

A mi asesor Juan Omar que con mucha paciencia y dedicación me brindó la confianza y el tiempo para poder desarrollar este proyecto.

A mis amigos que hice desde el primer día que llegué a esta gran institución y que al pasar de los años nos hemos visto crecer, necesitaría muchas hojas para poder mencionarlos a todos, pero quiero agradecerles por compartir tantos momentos conmigo, los quiero a todos.

Gracias FES Cuautitlán por convertirme en mi segunda casa, gracias por todas las enseñanzas, no cambiaría por nada toda la formación que tuve aquí, te llevare en el corazón siempre.

Tú eres tu propio límite y sólo tú decides hasta dónde llegarás hoy

ÍNDICE

Apartado	Clasificación	Página
1.0	Índice	2
1.1	Resumen	6
2.0	Introducción	8
2.1	Salud intestinal	8
2.2	Parámetros productivos	9
2.3	Problemática de la salud avícola	10
2.4	Enfermedades bacterianas	11
2.4.1	<i>Salmonella</i>	11
2.4.2	Salmonelosis	12
2.5	Adhesión bacteriana	14
2.6	Translocación bacteriana	14
2.6.1	Prevención de la translocación bacteriana	15
2.7	Uso de aditivos	15
2.7.1	Probióticos	16
2.7.1.1	Levadura de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
2.7.2	Prebióticos	17
2.7.2.1	Pared celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.7.2.1.1	Mananos	17
2.7.2.1.2	Glucanos	18
3.0	Justificación	19
4.0	Hipótesis	19
5.0	Objetivo general	20
5.1	Objetivos particulares	20
6.0	Material y métodos	21
6.1	Pared celular de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	21
6.2	Área de desarrollo	22
6.3	Parámetros productivos	22
6.4	Vacunación	23

6.5	Inoculación de <i>Salmonella enteritidis</i>	24
6.6	Toma de muestras	25
6.6.1	Hematocrito	26
6.6.2	Proteínas totales	26
6.6.3	Albúmina	27
6.7	Necropsia	28
6.8	Evaluación histológica	29
6.9	Bioquímica sanguínea	30
6.10	Respuesta enzimática	30
6.10.1	Alanina aminotransferasa (ALT)	30
6.10.2	Fosfatasa ácida (FA)	31
6.10.3	Gammaglutamil transferasa (GGT)	32
7.0	Diseño experimental	33
8.0	Resultados	34
9.0	Análisis microscópico	45
10.0	Conclusión	48
11.0	Anexo I Redituabilidad	49
12.0	Anexo II Gráficos	50
13.0	Bibliografía	57

RESUMEN

Se realizó un experimento para evaluar el efecto de un prebiótico comercial hecho a base de pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* en pollos de engorda a los 21 días de edad, para prevenir la translocación e invasión bacteriana después de inocular por vía oral una cepa de *Salmonella enteritidis*. Se utilizaron 120 aves de un día de edad (estirpe Cobb) los cuales fueron distribuidos al azar en cuatro tratamientos con tres repeticiones por tratamiento y 10 aves por repetición. Los tratamientos evaluados fueron: T1 (control): alimento comercial sin aditivos, T2 (PCL): alimento comercial sin aditivos + pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (con un contenido de 0.25 kg/t), T3 (bacteria): alimento comercial sin aditivos + *Salmonella enteritidis* a 1×10^8 UFC, T4 (PCL + bacteria): alimento comercial sin aditivos + pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (con un contenido de 0.25 kg/t) + *Salmonella enteritidis* a 1×10^8 UFC. Se evaluó la ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión alimenticia, y análisis sanguíneos para evaluar el hematocrito, albúmina, proteínas totales y transaminasas hepáticas (ALT, GGT, FA). El tratamiento bacteria fue quien obtuvo los valores más bajos de peso y un aumento de los valores hematológicos ($p < 0.05$); el tratamiento PCL + bacteria reflejó un menor consumo de alimento (4,519 +/- 0,365 g) con los pesos más altos ($p < 0.05$) y por lo tanto un índice de conversión alimenticia más efectivo ($p < 0.05$).

Al concluir el experimento se comprobó que la administración de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta provocaba un efecto positivo sobre los parámetros productivos y hematológicos en las aves y que cuando son infectadas con *Salmonella enteritidis* se observan índices de producción menos eficientes y alteraciones en los valores hematológicos normales.

Palabras clave.

prebiótico, *Saccharomyces*, translocación, *Salmonella*, parámetros productivos, transaminasas, albúmina, proteínas.

SUMMARY

An experiment was conducted to evaluate the effect of a commercial prebiotic based on *Saccharomyces cerevisiae* cell wall in broiler chickens at 21 days of age to prevent translocation and bacterial invasion after oral inoculation of a strain of *Salmonella enteritidis*. A total of 120 one-day-old birds (Cobb strain) were randomly distributed in 4 treatments with 3 replicates per treatment and 10 birds per replicate. The treatments evaluated were: T1 (control): commercial food without additives, T2 (PCL): commercial food without additives + cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* (with a content of 0.25 kg/t), T3 (bacteria): commercial food without additives + *Salmonella enteritidis* at 1×10^8 CFU, T4 (PCL + bacteria): commercial food without additives + cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* (with a content of 0.25 kg/t) + *Salmonella enteritidis* at 1×10^8 UFC. Weight gain, feed intake, feed conversion index, and blood tests were evaluated for hematocrit, albumin, total proteins and liver transaminases (ALT, GGT, FA). The bacteria treatment was the one that obtained the lowest values of weight and an increase of the hematological values ($p < 0.05$); The PCL + bacteria treatment showed a lower feed intake (4.519 +/- 0.365 g) with the highest weights ($p < 0.05$) and therefore a more effective feed conversion index ($p < 0.05$).

At the conclusion of the experiment, it was verified that the administration of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall in the diet had a positive effect on the productive and hematological parameters in the birds and that when infected with *Salmonella enteritidis*, less efficient production rates and alterations were observed in normal hematological values.

Keywords.

prebiotic, *Saccharomyces*, translocation, *Salmonella*, productive parameters, transaminases, albumin, proteins.

2.0 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la población humana demanda la producción de alimentos a bajo costo para cubrir sus necesidades nutricionales. En México la avicultura constituye una de las mejores alternativas viables, ya que proporciona tanto carne como huevo a un precio menor al de otros productos de origen animal.¹

La avicultura mexicana en 2013, aportó 0.77% en el PIB total, 19.7% en el PIB agropecuario y 40.9% en el PIB pecuario. Para el 2014 el crecimiento en la industria avícola fue de 3.1% con respecto al año anterior y para 2015 se estimó un aumento interanual de 1.5%. La tendencia de crecimiento en la producción avícola será favorecida para los siguientes años por el incremento sostenido de la demanda nacional, debido al precio bajo de la carne de pollo.^{2,3.}

El sector avícola mexicano participa con 63% de la producción pecuaria total,⁴ debido a esto la industria avícola ha tenido que mejorar su manejo y nutrición en las aves de producción enfocándose en los costos de alimentación que representan de 60 a 70% del costo total de producción.⁵

2.1 SALUD INTESTINAL

Debido a la importancia de la alimentación en la producción avícola, la salud intestinal es esencial para lograr una conversión eficiente de alimento en sus componentes básicos y garantizar una absorción óptima de los nutrientes por lo tanto una buena producción y de esta manera abastecer la demanda en el mercado.⁶

Para cumplir con su función el intestino debe de contar con una estructura bien diseñada⁷ debido a que el aparato gastrointestinal es el principal responsable del desarrollo y aprovechamiento nutricional.⁸

El tracto digestivo representa una superficie de contacto muy extensa entre el medio ambiente externo y el ave, considerándose el punto de entrada para gran cantidad de enfermedades de impacto económico.⁹ Si la salud intestinal se ve comprometida, se ve afectada la absorción de nutrientes lo que provoca un efecto perjudicial en el índice de conversión alimenticia, pérdidas económicas en la parvada y una mayor susceptibilidad a enfermedades.^{10,11} El concepto de integridad intestinal se basa en el mantenimiento del equilibrio entre el huésped, la microbiota, el ambiente intestinal y los componentes de la dieta. Una inestabilidad en esta relación puede comprometer la salud intestinal. Cuando el equilibrio es el ideal hay una eficiente digestión y absorción de nutrientes. La mala absorción origina que las proteínas, los azúcares y las grasas pasen a los ciegos permitiendo un crecimiento excesivo de la población bacteriana alterando el equilibrio de los microorganismos intestinales.^{5,7}

Debido a la importancia que recibe la salud e integridad intestinal y su relación con las características físicas, de manejo y alimentación, el ave debe de mantener el intestino con un correcto funcionamiento para permitir una mejor productividad en la parvada, dando como resultado una composición corporal ideal; de esta manera, la avicultura utiliza ciertos parámetros que le permiten identificar problemas en la parvada.¹²

2.2 PARÁMETROS PRODUCTIVOS

La salud es uno de los aspectos de mayor importancia en la producción del pollo de engorda. Cuando el pollito no se encuentra saludable, esto tendrá un impacto negativo sobre todos los aspectos de la producción y el manejo de la parvada.¹³

El proceso de crianza de pollos de engorda considera ciertos parámetros para medir el comportamiento productivo de las aves. Como el peso vivo, que se debe de monitorear una vez por semana, el mismo día y a la misma hora para que esta periodicidad permita hacer la evaluación del manejo del lote. El seguimiento del consumo de alimento diario y semanal permitirá hacer ajuste a la dieta en el caso de algún desbalance nutricional. La conversión alimenticia está relacionada con la cantidad de alimento que consume un ave para convertirlo de modo eficiente en un kilogramo de carne, esta característica es heredable y evalúa los resultados de la producción. El manejo del pollo de engorda, las enfermedades, la mortalidad

que se presente en la granja y el consumo del alimento son los factores que pueden alterar la conversión alimenticia.¹⁴ La mortalidad está determinada por el número de aves muertas acumuladas a lo largo de la crianza. Los parámetros anteriores permitirán evaluar el desempeño de la granja, pueden ser alterados por microorganismo patógenos, causando daños en el organismo y por consiguiente pérdidas económicas en la parvada.^{15,16.}

2.3 PROBLEMÁTICA DE LA SALUD AVÍCOLA

La avicultura moderna no está exenta de factores causantes de desequilibrios en la granja. La alta densidad de población, vacunación, altas o bajas temperaturas, humedad inadecuada, incidencia de gases tóxicos, alta carga de microorganismos patógenos e inmunodepresión son algunas de las problemáticas causantes de altos niveles de estrés en las aves. Estas constantes situaciones traen consigo la aparición frecuente de diversas enfermedades y la disminución de los niveles de producción de las aves.¹⁷

Es importante saber que las aves de engorda tienden a sufrir enfermedades de tipo bacteriano, viral, fúngico y/o parasitario y que cualquiera de ellas individualmente o en conjunto pueden causar un desequilibrio en el organismo de las aves repercutiendo de manera negativa en los parámetros productivos.¹⁸

En el caso de las enfermedades producidas por bacterias, en su mayoría, causan infecciones intestinales e intervienen con la adecuada salud intestinal y por consiguiente afectan el correcto desarrollo de la parvada. Esta afección inicia con la adhesión a las células del huésped, de esta forma evitan el desalojo de los microorganismos por mecanismos fisiológicos. Una vez que la bacteria se adhiere a la célula se facilita el acceso a los nutrientes, se facilita la liberación de toxinas en el huésped y la eventual penetración a los diferentes tejidos.¹⁹

2.4 ENFERMEDADES BACTERIANAS

Para que una bacteria se desarrolle en el huésped es necesaria la localización en un ambiente adecuado para su replicación. Los pasos que se presentan en el proceso de infección bacteriana son: adhesión, invasión, replicación, resistencia a los mecanismos de defensa y daño al huésped. Una vez que la bacteria se encuentra dentro del organismo experimenta severos cambios ambientales como por ejemplo: pH, temperatura, tensión de oxígeno y osmolaridad y responde a estos cambios modulando la expresión de sus genes.²⁰

Cuando se habla de bacterias, *Salmonella* es uno de los principales microorganismos capaz de causar enfermedad gastrointestinal, lo cual le da mayor importancia en la salud animal debido al impacto económico que ocasiona, así como problemas de salud pública; se trata de una enfermedad de curso agudo o crónico, distribución mundial, responsable de pérdidas en la industria avícola.²¹

2.4.1 SALMONELLA

Esta bacteria pertenece a la familia Enterobacteriaceae, phylum Proteobacteria. Es un bacilo Gram (-) que no forma esporas, anaerobio facultativo, estrechamente relacionado morfológica y fisiológicamente con los otros géneros de la familia Enterobacteriaceae, mide de 2 a 4 μm de largo por 0.6 μm de ancho. Es móvil debido a la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *S. gallinarum* y *S. pullorum*.²²

Para fines de diagnóstico y epidemiología, la nomenclatura se basa en los nombres de los serotipos de la subespecie, por ejemplo *Salmonella entérica*, subespecie *entericae*, serotipo *enteritidis*, se abrevia como *Salmonella enteritidis*.²³ Según la clasificación de Kauffmann-White, *Salmonella enteritidis* pertenece al grupo D, subgrupo 1 con antígenos O: 1, 9, 12 y H: g, m; lo cual le permite a este serotipo afectar a todas las especies animales, incluido el humano.²⁴ Desde 1980 se produjo un aumento mundial de casos de infecciones por *Salmonella enteritidis*, lo cual produjo incremento de estas infecciones en el humano y en aves comerciales, derivando en pérdidas económicas en la industria avícola. Mientras que la mayoría de los estudios sobre la patogénesis de *Salmonella sp* se enfocaron en *S.*

typhimurium, la patogénesis de *S. enteritidis* ha sido muy poco investigada, a pesar de que en los últimos años ésta última ha superado a *S. typhimurium* como el serotipo más común en la industria avícola.^{20,25.}

2.4.2 SALMONELOSIS

La salmonelosis es una enfermedad causada por *Salmonella sp* que se ha tornado muy importante en la investigación avícola ya que se trata de una de las principales enfermedades que causa problemas en el sistema digestivo de las aves y por consiguiente pérdidas económicas en la granja. Su transmisión puede ser por vía vertical o por vía oral. En este último caso, después de su ingestión a través de agua y alimento contaminado, se inicia su ciclo de infección invadiendo al huésped a través de las placas de Peyer y tonsilas cecales.^{17,26.}

Cuando *Salmonella sp* llega a la mucosa intestinal y después a la submucosa es fagocitada por macrófagos, estos mueren vía caspasa 1 y la bacteria queda libre, después se disemina en el torrente sanguíneo, entrando directo a los vasos sanguíneos para llegar a otros órganos como a el hígado. Una vez en sangre, es reconocida como una bacteria extracelular. Induce la migración de heterófilos y macrófagos (PMN), así la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1, IL8, IFN γ , TNF α . El incremento de la permeabilidad vascular que acompaña la inflamación en combinación con la pérdida de la integridad epitelial de la mucosa intestinal provoca la diarrea, al verse incrementada la salida de líquidos y electrolitos al lumen intestinal.^{21,27.}

En el epitelio intestinal se localizan conglomerados de células del sistema inmunológico llamadas células M. Éstas, al tener contacto directo con los antígenos bacterianos, provocan la secreción de anticuerpos en el lumen intestinal, predominantemente inmunoglobulinas A (IgA).²⁸ A pesar de la activación de la IgA, las bacterias destruyen a las células M dando lugar a la ruptura de la arquitectura intestinal permitiendo que *Salmonella* pueda infectar a los enterocitos adyacentes.¹⁹

Otro mecanismo por el cual *Salmonella* puede alcanzar la submucosa intestinal es a través de las células dendríticas, las cuales emiten prolongaciones entre las uniones celulares de los

enterocitos, permitiéndole llegar a torrente sanguíneo y diseminarse a sitios distantes para ocasionar infección sistémica.

La colonización del huésped requiere una adaptación genética de *Salmonella*, misma que se ubica en una parte específica del cromosoma bacteriano denominada isla de patogenicidad (IPS). Aunque existen más de 14 diferentes IPS, la presencia de cada una de ellas varía dependiendo de la serovariedad de *Salmonella*; sin embargo, cinco de ellas son comunes en el cromosoma de todas las serovariedades.

La IPS-1 codifica proteínas involucradas en la translocación de las moléculas efectoras y sus chaperonas (proteínas que ayudan al despliegue de otras proteínas) dentro del citoplasma de la célula huésped; la IPS-2 regula la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimentos intracelulares de fagocitos y células epiteliales; la IPS-3 se requiere para la supervivencia intracelular en macrófagos, provee productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de Mg^{2+} ; la IPS-4 media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos; la IPS-5 codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal; además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos.^{19,29.}

Asimismo *Salmonella* logró desarrollar dos sistemas de interacción con el huésped llamados sistemas de secreción tipo III (SST3) configurados por las IPS-1 y 2. Su principal función no es la de secretar proteínas al medio extracelular, sino la translocación de éstas desde el citosol bacteriano hasta el interior de las células del huésped. De esta manera se realizan cambios en el enterocito modificando sus rutas de transducción y rearrreglos en el citoesqueleto por un mecanismo conocido como disparo (trigger); la bacteria envía señales a las células epiteliales que inducen la formación de ondulamiento (ruffling) en su superficie y así *Salmonella* entra al enterocito dentro de una vacuola, la cual le servirá para poder replicarse.^{17,30,31.} Después del periodo de adaptación, *Salmonella* se replica dentro de las células fagocíticas y no fagocíticas (VCS), que se caracterizan por tener concentraciones limitadas de Mg^{2+} y Fe^{2+} y un pH ácido, la acidificación dentro del fagosoma es necesaria para la supervivencia y replicación intracelular.^{19,30.}

2.5 ADHESIÓN BACTERIANA

Las lectinas son proteínas de origen no inmune que tienen especificidad por residuos de carbohidratos, monosacáridos, glucoproteínas o glucolípidos terminales o subterminales, con los que forman uniones no covalentes selectivas y reversibles, característica que les confiere la propiedad de reconocer, aglutinar células o precipitar glucoconjugados. En el caso de *Salmonella* se adhiere al enterocito por medio de su lectina fimbrial tipo 1 relacionada con el carbohidrato de manosa específicamente ubicado sobre la superficie del enterocito.³²

La mayoría de las lectinas de superficie (adhesinas o factores de colonización) parece reconocer oligosacáridos complejos de la superficie de las células eucarióticas. En el caso de *Salmonella*, sus lectinas son específicas a la D-manosa.

El hecho notable es que la lectina bacteriana se une a los tres primeros azúcares ligados con el lípido ceramida, ubicado en la membrana celular y no con los azúcares terminales. Es decir que la lectina bacteriana está preparada para reconocer cortas secuencias internas que pueden ser mostradas por el glucoesfingolípido insertado en la membrana de la célula huésped.³³

En la actualidad algunas investigaciones revelan que el glucoesfingolípido (GSL) GlcCer (N-1) y el gangliósido GM3 (G-1) de la mucosa intestinal de los pollos, presentes en el intestino delgado, ciego y recto, son los receptores de la fimbria SEF21 específica de *Salmonella enteritidis*.^{17,20,23.}

2.6 TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

Después de que *Salmonella* se fija al enterocito por medio de su lectina invade enterocitos vecinos y destruye células M; queda un espacio de entrada en la pared intestinal para que la bacteria llegue libremente a la lámina propia, después al torrente sanguíneo y por último a otros órganos como el hígado. Al paso de *Salmonella* desde el intestino hacia el torrente sanguíneo y de manera posterior a otros órganos se le conoce como translocación bacteriana. Se necesitan tres tipos de mecanismos básicos para que se produzca la translocación bacteriana. En primer lugar, la alteración del equilibrio ecológico bacteriano de la flora intestinal, en concreto el sobrecrecimiento de *Salmonella*. En segundo lugar, la

disfunción de los mecanismos de defensa inmunológica del huésped. Por último, la alteración en la barrera intestinal, con el consiguiente incremento en la permeabilidad intestinal favoreciendo el paso de las bacterias. El aumento de población bacteriana intestinal desempeña un papel muy importante en la patogenia de la translocación bacteriana y está favorecido por diversos factores como las alteraciones en los mecanismos de defensa inmunológica locales, la disminución en la motilidad intestinal, el mal manejo de la parvada, la administración prolongada de antibióticos o la mala nutrición.³⁴

2.7.1 PREVENCIÓN DE TRANSLOCACIÓN BACTERIANA

Cuando *Salmonella* activa sus islas de patogenicidad y sus sistemas de secreción destruyen y colonizan las placas de Peyer y los enterocitos, facilita su replicación dentro del enterocito y su supervivencia dentro de los macrófagos, lo cual le permite llegar al torrente sanguíneo para diseminarse en otros órganos. Ante el aumento de los casos de translocación e invasión bacteriana y la elevada resistencia a los antibióticos, la OMS sugirió la búsqueda de alternativas para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales como la terapia de interferencia microbiana, es decir, el uso de aditivos como los prebióticos o probióticos.³⁵

2.7 USO DE ADITIVOS

Debido a los métodos de manejo intensivo en la industria avícola, es necesario mejorar la eficiencia productiva mediante la aplicación de estrategias con el fin de regular la disponibilidad y utilización de nutrientes en el tracto gastrointestinal. Una de estas estrategias es la inclusión de aditivos en los alimentos balanceados,^{36,37} incluyen sustancias diversas como suplementos vitamínicos y minerales; sustancias auxiliares como antioxidantes y saborizantes; y agentes promotores del crecimiento como antibióticos, probióticos, prebióticos y enzimas.^{38,39}

Tras la prohibición por parte de la Unión Europea en 2006 del uso de los antibióticos promotores del crecimiento (APC) en alimentación animal, se buscaron alternativas viables para la industria avícola y así poder sustituir de manera efectiva a los APC.⁴⁰ Ya que se ha

comprobado el aumento de la resistencia bacteriana y el efecto residual que tienen en los productos de origen animal, lo que puede ser perjudicial para el hombre. ^{11,26.}

Esta situación prohibitiva afecta la cría intensiva de animales, al incrementar la mortalidad y la morbilidad, lo que trae como consecuencia una disminución de la productividad. En la industria avícola, lo más significativo es la aparición de enfermedades gastrointestinales que, en los casos subclínicos, afecta el crecimiento y la eficiencia alimenticia y en los casos severos, provoca gran número de muertes. ⁴¹

2.7.1 PROBIÓTICOS

Al hablar de probióticos se incluyen cultivos vivos de uno o varios microorganismos, que cuando son administrados en la dieta provocan efectos benéficos mediante modificaciones en la población microbiana de tracto digestivo. La mayoría de las bacterias que se utilizan son *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bacillus*. Estos impiden a los microorganismos patógenos colonizar el tracto digestivo, reducen su concentración o producción de toxinas. Asimismo, hay aumentos de la concentración de inmunoglobulinas en el tracto digestivo, por lo tanto se estimula al sistema inmunológico. ⁴²

2.7.1.1 LEVADURA DE *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras son hongos unicelulares de los cuales existen aproximadamente 600 especies agrupadas en 60 géneros. Estos microorganismos se encuentran distribuidos de manera amplia en la naturaleza, pero el género *Saccharomyces* es el que ofrece mayor interés industrial y aunque consta de 41 especies, *S. cerevisiae* es la levadura que más se emplea en la alimentación animal. ⁴³

Desde hace 20 años se ha usado la levadura en la industria avícola, obteniéndose efectos en beneficio de la producción de pollos de engorda. *Saccharomyces cerevisiae* es la levadura más usada ya que es rica en proteínas de alto valor biológico.

Uno de los procesamientos más comunes incluye la realización de autólisis, y por acción de enzimas endógenas, se rompe la pared celular y se libera el protoplasma, obteniéndose entonces extracto (E) y pared celular (PC). ⁴⁴

2.7.2 PREBIÓTICOS

El término "prebiótico" incluye compuestos indigestibles por el animal, que mejoran su estado de salud debido a que estimulan del crecimiento y/o la actividad de determinados microorganismos benéficos del tracto digestivo, y que además pueden impedir la adhesión de microorganismos patógenos. Las sustancias más utilizadas son los oligosacáridos, que alcanzan el tracto digestivo sin ser digeridos y ahí son fermentados por las bacterias intestinales benéficas.^{26,45.}

La avicultura se enfrenta cada vez más a presiones legislativas para reducir el uso de productos como promotores del crecimiento, relacionados químicamente con los antibióticos que se aplican para el tratamiento de las enfermedades del ser humano. El uso de las paredes celulares de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) como prebióticos, puede ser buena opción, ya que demuestra propiedades específicas sobre el aparato digestivo, que incluyen modificación de la flora y modulación del sistema inmune intestinal, con beneficios directos en la tasa de crecimiento, eficiencia en la conversión alimenticia y en la viabilidad de las aves.^{46,47,48.}

2.7.2.1 PARED CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae*

La pared celular de la levadura de *Saccharomyces cerevisiae* está compuesta sobre todo por complejos de polímeros de glucanos y mananos, estos compuestos actúan en el intestino seleccionando la presencia de algunas bacterias y eliminando otras que son nocivas para el ave.

2.7.2.1.1 Mananos

Los mananos actúan como receptor de alta afinidad, ofrecen un sitio de cubierta competitivo para las bacterias que tienen receptor de manosa específica tipo-1, adsorben los mananoligosacáridos (MOS) en lugar de atacar a las células epiteliales intestinales y por lo tanto se mueven a través del intestino sin colonizarlo en forma de acúmulos de bacterias, de esta manera se logra prevenir la colonización bacteriana.⁴⁹

2.7.2.1.2 Glucanos

Los glucanos tienen como acción modificar la respuesta inmune, contribuyen con la prevención de enfermedades infecciosas y por consecuencia a la mejor expresión de los caracteres productivos de los pollos de engorda. Hoy se conoce que los peptidoglucanos derivados de *Saccharomyces cerevisiae* se caracterizan por su habilidad para promover la formación de IgA en la pared intestinal. Asimismo la administración oral incrementa la respuesta inmune ya que la dectina-1 es el principal receptor implicado en el efecto de los glucanos sobre la inmunidad, cumple un rol esencial en la respuesta inmune innata: coopera con el reconocimiento y eliminación de los patógenos. Este receptor es muy expresado en células inmunes tales como las células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos y monocitos así como en algunas poblaciones de células T y B, en macrófagos y enterocitos.^{50,51} Se demostró que en la avicultura, el uso de los β -1-glucano como aditivo en el alimento puede reducir las infecciones de campo y por consiguiente promover el crecimiento al reducir de esta forma la necesidad del uso de los antibióticos. Los β -1-3-glucanos activan las enzimas lisosomales (β -glucuronidasa) para la destrucción intracelular de los microorganismos en el macrófago y en sentido general juegan un papel en la inmunidad.^{9,19,24,25,26} Debido a que los β -glucanos no son sintetizados por el organismo, el sistema inmune innato los reconoce como patrones moleculares asociados con patógenos (PAMPS) los cuales a su vez son reconocidos como receptores de reconocimiento de patrones (RRP). Los RRP se encuentran presentes en la membrana celular de neutrófilos, células dendríticas y macrófagos. Los principales RRP para el reconocimiento de los β -glucanos son la dectina-1 y los receptores tipo toll. La activación de estos receptores promueve la respuesta inmune innata produciendo citocinas inflamatorias y quimocinas.^{46,47}

El efecto promotor de crecimiento de las paredes celulares en el pollo de engorda puede explicarse al hallar una mayor longitud y número de las vellosidades intestinales, lo cual pudo haber propiciado mayor aprovechamiento de nutrimentos, al aumentar la absorción de ácidos grasos, aminoácidos y glucosa. Una excelente salud intestinal conduce a un incremento de las vellosidades intestinales y se ha demostrado que los mananos y glucanos presentes en las paredes celulares disminuyen las bacterias enteropatógenas que impiden

aumentar el dominio de la flora bacteriana benéfica. La edad del ave determina el área de las vellosidades intestinales, ya que a mayor edad hay incremento en la amplitud, número y área de las vellosidades, ello indica que a medida que el ave se desarrolla, se incrementan las posibilidades de absorción de nutrimentos de acuerdo con sus necesidades.²⁵

3.0 JUSTIFICACIÓN

Salmonella enteritidis es uno de los patógenos gastrointestinales más importantes en la industria avícola. Se trata de la causa de una deficiente conversión alimenticia, bajas en la tasa de crecimiento y un mal estado de salud de las aves llevándolas en ciertos casos hasta la muerte. Al tomar en cuenta que *Salmonella enteritidis* es la serovariedad más común en la industria avícola en la actualidad, después de haber desplazado a *Salmonella typhimurium*, y saber poco sobre su patogenia se han usado paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* para controlar los efectos negativos que ocasiona dentro del huésped, modificando la microflora intestinal y modulando el sistema inmune al tener como objetivo mejorar los parámetros de producción avícola.

4.0 HIPÓTESIS

El uso de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL) con un contenido de 0.25 kg/t, tendrá un efecto positivo sobre los parámetros productivos, la respuesta inmune, los cambios morfológicos intestinales y la translocación e invasión bacteriana provocados por *Salmonella enteritidis* en un contenido de 1×10^8 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en el pollo de engorda a los 21 días de edad.

5.0 OBJETIVO GENERAL

Se evaluará el efecto de un prebiótico comercial hecho a base de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la integridad intestinal, invasión y translocación bacteriana, respuesta inmune en pollos de engorda a los 21 días de edad expuestos a *Salmonella enteritidis*.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Observar el efecto de la PCL ante la translocación e invasión bacteriana intestinal en el pollo de engorda mediante la evaluación histológica después de ser expuestos al consumo de *Salmonella enteritidis*.
- Evaluar la morfología microscópica de intestino, hígado, proventrículo y molleja después de haber sido expuestos al consumo de *Salmonella enteritidis* con o sin la administración de PCL.
- Determinar la concentración de transaminasas hepáticas: fosfatasa alcalina sérica (FAS), alanina aminotransferasa (ALT), gammaglutamil transferasa (GGT). Así como hematocrito, proteínas totales y albúmina en pollos de engorda que fueron inoculados con *Salmonella enteritidis* y con o sin la administración de PCL.

6.0 MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4, de la Universidad Nacional Autónoma de México. 19° 40' 50'' (19.65682), 99° 12' 25'' (-99.20953), altura promedio de 2,252 msnm.

Para el desarrollo experimental se utilizaron 120 aves de un día de edad (estirpe Cobb) los cuales fueron distribuidos al azar en cuatro tratamientos con tres repeticiones por cada uno y 10 aves por repetición.

Al inicio del trabajo y semanalmente se pesó de manera individual cada ave y el consumo de alimento se determinó por repetición. Se evaluó a nivel clínico a las aves durante todo el estudio y se registraron las observaciones en bitácoras.

6.1 Pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*

Se utilizó un producto comercial llamado Safmannan[®] (un contenido de 0.25 kg/t) que es un producto constituido por mananos y glucanos (Cuadro 1) los cuales tiene la facilidad de impedir la adhesión de algunas bacterias enteropatógenas y ejercen una acción inmunoestimulante. Este compuesto es obtenido de la purificación de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*. Se trata de un producto inerte, por lo que su uso aplica para todo tipo de alimentos sometidos a cualquier proceso de fabricación.⁵²

En este caso la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* fue donada por Safmex Safmannan[®] de casos diagnósticos.⁵³

Cuadro 1. Composición del producto comercial Safmex Safmannan[®]

Mananos	Mín 22%
B-glucanos	Mín 24%
Proteína	Mín 14%
Carbohidratos totales	47-53 %
Lípidos	17-25 %
Materia seca	Mín 97%

6.2 Área de desarrollo

El experimento se desarrolló dentro de las instalaciones de FES Cuautitlán.

En un área anexa al anfiteatro se contó con un área de aislamiento destinada para el alojamiento de los pollos de engorda, con medidas aproximadas de 3 m², en la cual el suelo se aisló con plástico para evitar irregularidades en la temperatura.

Por otra parte otros tratamientos se establecieron en el edificio del bioterio de la facultad, se trabajó en un área de aislamiento destinada al alojamiento de los pollos de engorda, con medidas aproximadas de 4 m², también se aisló el suelo con un plástico para mantener una temperatura adecuada.

En ambos laboratorios se tuvo que montar un circuito eléctrico que recorriera todas las corraletas a una altura aproximada de 2 m, los cuales llevarían en su punta un socket para focos infrarrojos que ayudarían a mantener la temperatura en cada corraleta.

Cada corraleta fue colocada para proporcionar un área de 1.20 m². Proporcionando de esta manera el espacio ideal, ya que por cada 10 aves se requiere como mínimo de 1 m². Se utilizaron 12 bebederos en total durante todo el experimento (un bebedero por corraleta) y 12 comederos chick feeder en total durante todo el experimento (un comedero por corraleta). La cama de todas las corraletas fue de viruta de madera. Se utilizaron tapetes sanitarios en todas las entradas de los dos laboratorios.

6.3 Parámetros productivos

En los dos laboratorios se realizaron rondines tres veces al día para corroborar si los comederos aún contaban con alimento, los bebederos dispusieran de agua limpia y fresca, que la temperatura en cada corraleta fuera la ideal y en el caso de que existiera un ave muerta registrarla.

Por corraleta las aves fueron marcadas con plumón marcador en el área de la cabeza, lomo y plumas de las alas para diferenciar cada lote de experimentación.

Los registros de pesaje individual de los pollos por semana, registro semanal del consumo de alimento y alimento rechazado por semana en cada una de las corraletas se realizó por medio de una báscula digital Torrey PCR comercial.

6.4 Vacunación

Se realizó la vacunación contra la enfermedad de Newcastle el día 7.

Composición: la vacuna de Newcastle virus vivo cepa LaSota o B1 liofilizada es desarrollada en embrión de pollo SPF, bajo las más estrictas normas de control de calidad y técnicas más modernas de fabricación que maximizan y garantizan la integridad de los antígenos.

Uso: en aves.

Descripción: sólida, segura y confiable. La vacuna contra la enfermedad de Newcastle cepa LaSota o B1 de Maver[®] posee altos títulos, los cuales se reflejan en gran protección de las aves contra esta enfermedad (no menos de 10⁹). Es una vacuna que no revierte a estados patógenos por el tipo de cepa que se utiliza. Sin embargo, confiere protección sólida contra la enfermedad de Newcastle incluso en zonas de alta incidencia o recurrencia.

Indicaciones: está indicada para la prevención y control de la enfermedad de Newcastle (paramixovirus) en aves sanas a partir de la primera semana de edad. La vacuna de virus vivo de administración ocular, confiere protección a nivel traqueal, produce anticuerpos tipo IgA secretor, protegiendo la vía de entrada natural del virus al organismo.

Dosis y vía de administración: instilación ocular, una gota en el ojo por ave.

Advertencias: manténgase en refrigeración entre 2 a 7 °C. Evite que el producto se congele. No se exponga a la luz solar. Una vez preparado el producto utilícelo en su totalidad a la brevedad.

Presentaciones: frascos con 25, 50, 100, 500 y 1,000 dosis.

6.5 Inoculación *Salmonella enteritidis*

Al día 14 los pollos se inocularon por sondeo esofágico con una cepa de *Salmonella enteritidis* en un contenido de 1×10^8 UFC (Cuadro 2).

Cuadro 2. Material utilizado para la inoculación de *Salmonella enteritidis*

Sondas prenatales
Jeringas de 3 mL
Bacteria <i>Salmonella enteritidis</i> 1 X 10⁸ UFC/mL
Guantes
Cubreboca
Cofia

La cepa de *Salmonella enteritidis* fue donada por el laboratorio de microbiología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán C4, la cual fue sembrada y por medio de pases se llegó a un contenido de 1×10^8 UFC/mL.

Para la inoculación de la bacteria se procedió a la sujeción de las aves causando el menor estrés posible, manteniendo las valvas abiertas con un dedo se insertó la sonda paranasal aproximadamente 3 cm, se conectó la jeringa a la sonda y se procedió a la inoculación de 1 mL de la solución de *Salmonella enteritidis* (1×10^8 UFC) en cada una de las aves.

6.6 Toma de muestras

La toma de muestras fue al final del experimento al día 21 por técnica de punción directa a corazón (Cuadro 3).

Se obtuvieron 2 mL de sangre la cual se dividió en 2 tubos Vacutainer, uno con anticoagulante (heparina) y el otro sin ella, el tubo que contenía anticoagulante se mantuvo bajo movimientos suaves circulares para poder mezclar perfectamente la heparina con la sangre y evitar la coagulación. El tubo que no tenía heparina se dejó reposar en gradilla a un ángulo de 45° para permitir que se formara un coágulo y después los tubos se colocaron en la centrífuga para la obtención de suero.

Para la toma final de muestras se obtuvo la mayor cantidad de sangre posible captando en promedio de 3 a 4 mL y de este total se utilizó para obtener hematocrito y la parte restante de la sangre se utilizó para la captación de suero.

Después de la obtención de las muestras, se colocaron en frascos limpios y estériles para su conservación. En el caso del suero se llevó a congelación hasta -3 °C.

Posteriormente se procedió a realizar las pruebas de proteínas plasmáticas, albúmina, hematocrito.

Cuadro 3. Material utilizado para realizar la toma de muestras

Tubos Vacutainer Becton Dickinson de tapón rojo con volumen de 3 mL
Heparina sódica 25, 000 UI
Jeringas hipodérmicas con capacidad de 5 mL
Tubos capilares con EDTA
Microcentrífuga 5,000 rpm
Gradillas
Encendedor
Lector de microhematocrito SolBac
Refractómetro Atago ATC-S/Mill-E
Viales de cristal limpios y estériles

6.6.1 HEMATOCRITO

Para su lectura los tubos capilares se llenaron con la muestra hasta 3/4 de su capacidad, fueron sellados con fuego y después centrifugados por cinco minutos a 12,000 rpm; posterior a la centrifugación se obtienen tres partes visibles en el tubo capilar, una de color claro/amarillento correspondiente al plasma, una blanca en la parte central propia de glóbulos blancos y otra de color oscuro conteniendo glóbulos rojos. Después de la centrifugación se realizó la lectura del capilar colocándolo en el lector de microhematocrito y se reportaron los resultados en la bitácora.

6.6.2 PROTEÍNAS TOTALES

Para su lectura se llevó a cabo la técnica descrita por laboratorios Winner-lab®.

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, ampliamente distribuidos en el organismo, esenciales para la vida. Actúan como elementos estructurales y de transporte y aparecen bajo la forma de enzimas, hormonas, anticuerpos, factores de coagulación, etc. En el plasma, las proteínas contribuyen a mantener el volumen del fluido circulante, transportan sustancias relativamente insolubles y actúan en la inactivación de compuestos tóxicos y en la defensa contra agentes invasores. La determinación de proteínas totales es útil para el monitoreo de cambios ocasionados por diversos estados de enfermedad.^{54, 55}

Método, Proteínas totales.

PROCEDIMIENTO			
En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:			
	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo A	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar con varilla. Incubar durante 15 minutos a 37°C.
Leer en espectrofotómetro a 540 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (520-560 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

Técnica estándar para la lectura de Proteínas totales Wiener lab®

6.6.3 ALBÚMINA

Para su lectura se realizó el procedimiento descrito por laboratorios Winner-lab®

Los aumentos anormales de albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con la deshidratación que provoca la reducción en el contenido del agua plasmática. La hipoalbuminemia ocurre bajo condiciones patológicas tales como pérdida excesiva de proteínas en el síndrome nefrótico, desnutrición e infecciones prolongadas. Otras causas son disminución en la síntesis por una dieta deficiente, enfermedad hepática o malabsorción. ^{51,}

56

Método, Albumina.

PROCEDIMIENTO			
En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:			
	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivo A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

Mezclar con varilla. Mantener los tubos entre 15 y 28°C durante 10 minutos. Leer en espectrofotómetro a 625 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (620-650 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

Técnica estándar para la lectura de Albúmina Wiener lab®

6.7 Necropsia

La necropsia se realizó con la finalidad de obtener los órganos después de todos los tratamientos para su evaluación macroscópica y su posterior procesamiento y evaluación microscópica (Cuadro 4).

Se llevó a cabo la necropsia de acuerdo con lo establecido en el Manual de necropsias de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (Cardenti et al. 2008)⁵⁷.

Después de realizar la extracción de los órganos de manera ordenada y por sistemas se procedió a pesarlos individualmente, para poder contar con una relación entre el peso de las aves y el peso de cada uno de los órganos. Se llevó un registro donde se anotaban los pesos ya mencionados.

Los órganos se conservaron en solución de formalina al 10% para después poder ser procesados histológicamente con la finalidad de su evaluación microscópica buscando lesiones causadas por *Salmonella enteritidis*.

Al finalizar la necropsia el material orgánico fue incinerado.

Cuadro 4. Material utilizado durante la realización de la necropsia

Cuchillos

Pinzas de disección

Tijeras

Bisturí

Navaja para bisturí

Bolsas Ziploc®

Guantes y cubreboca

Solución de formalina al 10%

Báscula analítica (marca omrom wbs-05 con capacidad de 0-5000 g)

6.8 Histopatológico

La revisión histológica se llevó a cabo de manera minuciosa en cada órgano asegurando que todos sus componentes fueran examinados (Cuadro 5).

Los órganos se encontraban en formalina amortiguada al 10% para su conservación, se colocaron en celdas individuales para su inclusión en parafina, se obtuvieron cubos los cuales se cortaron a 5 micrómetros de espesor para después fijarse en el portaobjetos y pigmentarse con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina.

La elaboración de las laminillas y su coloración con hematoxilina y eosina fue con la finalidad de relacionar los hallazgos encontrados a nivel microscópico con la interacción de la pared celular de *Saccharomices cerevisiae* y *Salmonella enteritidis* en los tratamientos de experimentación.

Cuadro 5. Material utilizado para realizar el montaje y tinción de las laminillas histológicas.

Parafina grado histológico
Portaobjetos
Cubreobjetos
Xilol
Alcohol absoluto
Histoquinete
Platina
Microtomo
Kit de tinción hematoxilina y eosina
Formalina amortiguada 10%

6.9 Bioquímica sanguínea

La importancia de la bioquímica sanguínea es la de determinar la concentración de los parámetros bioquímicos que se transportan por medio de la sangre en diferentes concentraciones cuando las aves son contaminadas con una cepa de *Salmonella enteritidis* y cuando su alimentación es enriquecida con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*.

6.9.1 Respuesta enzimática

Las transaminasas son enzimas ampliamente difundidas en el organismo con elevada concentración en hígado, corazón, músculo esquelético y riñón. La actividad sérica bajo condiciones normales es baja o nula. Una lesión en cualquiera de estos tejidos conduce al aumento en los niveles sanguíneos.

6.9.1.1 Alanina aminotransferasa (ALT)

La alanina aminotransferasa (ALT) es una enzima citoplasmática cuya mayor actividad se localiza en el tejido hepático. La destrucción o cambio de permeabilidad de las membranas celulares provoca la liberación de ALT a la circulación sanguínea. Los mayores aumentos de actividad ALT en suero, se producen como consecuencia de alteraciones hepáticas. En el caso de hepatitis virales, el aumento de ALT precede a la aparición de ictericia, alcanzando un máximo luego de la observación de dicho signo. La determinación de ALT adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular, permitiendo así completar el perfil enzimático de órganos como el hígado.⁵⁸

Método, ALT.

PROCEDIMIENTO	
A) 30 ó 37°C	
I- TECNICA CON REACTIVO UNICO	
En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:	
Reactivo único	1,0 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Muestra	100 ul
Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/min$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.	
II- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS	
En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:	
Reactivo A	0,80 ml
Muestra	100 ul
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Reactivo B	0,20 ml
Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/min$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.	
B) 25°C	
Emplear 250 ul de Muestra siguiendo el procedimiento indicado en A).	

Técnica estándar para la lectura de Alanina aminotransferasa Wiener lab®

6.9.1.2 Fosfatasa acida (FA)

Las fosfatasas ácidas se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo en particular altas las cantidades de estas enzimas en hígado, músculo, bazo, eritrocitos, próstata, estómago y plaquetas. Se encuentra actividad elevada de fosfatasa ácida total (FAT) en algunas enfermedades hepáticas (hepatitis, ictericia obstructiva), etc.

Método, FA.

PROCEDIMIENTO		
En una cubeta mantenida a 37°C colocar:		
	ACP	ACP-NP
Reactivo B ACP	1 ml	-
Reactivo B ACP-NP	-	1 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:		
Muestra	100 ul	100 ul
ACP: mezclar y disparar simultáneamente el cronómetro. A los 5 minutos registrar la D.O. Leer posteriormente la absorbancia cada minuto durante 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/minuto ($\Delta A/\text{min}$) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos ($\Delta A/\text{min}$).		
ACP-NP: proceder de la misma manera que para ACP. Se obtiene el $\Delta A/\text{min}$.		

Técnica estándar para la lectura de Fosfatasa acida Wiener lab®

6.9.1.3 Gammaglutamil transferasa (GGT)

La γ -glutamyl transferasa (γ -GT) es una enzima de membrana ampliamente distribuida en el organismo. Se localiza sobre todo en hígado, riñón, vesículas seminales, páncreas, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas, la γ -GT en general es índice de agresión tóxica. Sin embargo, la determinación sólo tiene valor clínico cuando sus valores son comparados con los de otras enzimas de mayor órgano-especificidad. El análisis conjunto de γ -GT, fosfatasa alcalina, transaminasas y bilirrubina, amplía significativamente el panorama del diagnóstico diferencial de las enfermedades hepáticas primarias y secundarias, formando parte del hepatograma.⁵⁹

Método, GGT.

PROCEDIMIENTO En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada colocar:	
Reactivo único	1 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Muestra	100 μ l
Mezclar rápidamente y proseguir de inmediato la incubación disparando simultáneamente el cronómetro. Registrar la absorbancia a los 1, 2 y 3 minutos. Determinar la diferencia promedio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.	

Técnica estándar para la lectura de Gammaglutamil transferasa Wiener lab®

7.0 DISEÑO EXPERIMENTAL

En el experimento se utilizaron 120 pollos de engorda (estirpe Ross) de un día de edad, sin sexar, con distribución aleatoria en cuatro tratamientos diferentes, integrados por tres repeticiones y 10 aves por cada repetición, la duración del experimento fue de 21 días (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tratamientos, repetición y número de aves por tratamiento.

Tratamiento	Repeticiones	Aves por tratamiento
Control	3	10
PCL	3	10
Bacteria	3	10
Bacteria + PCL	3	10

8.0 RESULTADOS

Los análisis estadísticos para cada variable se realizarán con base en un diseño completamente al azar (ANOVA) y la comparación de medias se hará utilizando la prueba de LDS (diferencia mínima significativa), con un valor de significancia de ($p < 0.05$). Se utilizará el paquete estadístico Centurión 16

Cuadro 7. Peso (g), consumo de alimento (g) e índice de conversión alimenticia (ICA) a los 21 días en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento 21 días	Peso (g)	Consumo de alimento (g)	ICA
	Media +/- EE	Media +/- EE	Media +/- EE
Control	0,814 +/- 0,007 ^{ab}	6,236 +/- 0,111 ^b	0,812 +/- 0,032 ^b
PCL	0,833 +/- 0,016 ^b	5,158 +/- 0,524 ^{ab}	0,676 +/- 0,059 ^{ab}
Bacteria	0,785 +/- 0,016 ^a	5,487 +/- 0,615 ^{ab}	0,752 +/- 0,103 ^{ab}
PCL + Bacteria	0,838 +/- 0,015 ^b	4,519 +/- 0,365 ^a	0,602 +/- 0,030 ^a

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

RESULTADOS

Peso

En el tratamiento bacteria se obtuvo un efecto negativo al evaluar el peso final de las aves mostrando diferencia estadística ($p < 0.05$) en comparación con los demás tratamientos (Cuadro 7).

Se demostró que en los tratamientos donde se administró PCL se obtuvieron mejores pesos en comparación con el tratamiento control y bacteria. También se registró una tendencia positiva en el tratamiento PCL+ bacteria mostrando la media de pesos más elevada en todo el estudio.

Consumo

Los tratamientos que mostraron un menor consumo de alimento fueron las dietas adicionadas con PCL (Cuadro 7).

El tratamiento control muestra consumo de alimento similar al tratamiento PCL y bacteria sin mostrar diferencia estadística ($p < 0.05$), mientras que PCL + bacteria muestra menor consumo de alimento con diferencia estadística ($p < 0.05$) en comparación con tratamientos PCL y bacteria.

ICA

El tratamiento PCL + bacteria fue quien mostró la media más baja mostrando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en relación con los tratamientos restantes (Cuadro 7).

Se observó que la media más alta se encontraba en el tratamiento control mostrando diferencia estadística ($p < 0.05$) en relación a los tratamientos bacteria, PCL, PCL + bacteria.

La media del tratamiento bacteria se relaciona con la del tratamiento PCL mostrando una tendencia positiva del tratamiento bacteria.

Se demostró que los tratamientos donde la dieta fue enriquecida con PCL tuvieron las medias más bajas en el experimento, demostrando que su ICA es más efectivo que el de los tratamientos bacteria y control.

DISCUSIÓN

Arce (2008)⁴¹ demostró que al agregar paredes celulares de levadura de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta se causa un efecto positivo en la evaluación de los parámetros productivos como: peso, consumo de alimento e índice de conversión alimenticia. Aunque en su estudio el contenido de PCL era de 0.5 kg/t, en el presente estudio se demostró que con un contenido menor de PCL (0.25 kg/t) se observan efectos positivos en los parámetros productivos ya antes mencionados.

Santin (2001)⁶⁰ y Zhang (2005)⁶¹ mencionan que el uso de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* tiene un efecto positivo sobre el desarrollo de la mucosa digestiva aumentando la altura de las vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas. Por lo tanto se ve favorecida la absorción de nutrientes y por consiguiente los parámetros productivos.

Hernández (2015)⁶² confirma con su estudio que el uso de PCL de *Saccharomyces cerevisiae* con un contenido de 0.25 kg/t usado como suplemento en la alimentación del pollo de

engorda mejora los parámetros productivos como consumo de alimento e índice de conversión alimenticia, disminuye los efectos negativos cuando *Salmonella enteritidis* es inoculada en un contenido de 1×10^8 UFC y hay presencia de aflatoxinas en el alimento de pollos de engorda con tres semanas de edad.

Los parámetros de producción del pollo de engorda a partir de las paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae*, han sido demostrados por otros autores y pueden ser explicados por un mayor aprovechamiento de nutrientes, al encontrar una mejor salud intestinal, que incluye, un incremento en la altura de las vellosidades intestinales, una mejor respuesta inmunológica y una disminución de bacterias enteropatógenas que impidan aumentar el dominio de la flora bacteriana benéfica, características del modo de actuar de los componentes activos (mánanos y glucanos), presentes en las paredes celulares de las levaduras.⁶³

En este experimento se encontró que el uso de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en pollos que fueron expuestos a *Salmonella enteritidis* (1×10^8 UFC) resultó ser eficaz ya que mostró medias de peso más altas, consumo de alimento más bajo llevando a un mejor índice de conversión alimenticia.

Cuadro 8. Hematocrito (%) para pollos de engorda a los 21 días, que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento	Media +/- EE
Control	39,6 +/- 1,48 ^b
PCL	36,5 +/- 1,66 ^b
Bacteria	31,6 +/- 1,48 ^a
PCL + bacteria	37,5 +/- 1,66 ^b

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

RESULTADOS

En el cuadro 8 se observa que el porcentaje de hematocrito del tratamiento bacteria muestra diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en comparación con el valor de los tratamientos restantes (Cuadro 8).

La media más alta se encuentra en el tratamiento control, teniendo relación estadística con los tratamientos adicionados con PCL.

DISCUSIÓN

Urdaneta (1998)⁶⁴ y Perozo (2003)⁶⁵ consideran que valores menores a 27% de hematocrito en pollos de engorda refleja un estado de anemia, en el presente estudio el tratamiento bacteria fue el que mostró una media más baja con 31.6%, por lo tanto no se reporta ningún proceso anémico.

Hurtado (2014)⁶⁶ comenta en su estudio que el rango normal de hematocrito va de 23 a 55%. Al comparar con los valores obtenidos, todos se encuentran dentro del rango normal, por lo tanto, no hay alteraciones en los porcentajes de hematocrito cuando los pollos son infectados con *Salmonella enteritidis*.

Cuadro 9. Proteínas totales (g/L) \bar{x} +/- EE para pollos de engorda a los 21 días, que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento	Media +/- EE
Control	4,045 +/- 1,718 ^a
PCL	5,826 +/- 2,173 ^a
Bacteria	15,284 +/- 1,837 ^b
PCL + bacteria	2,154 +/- 1,718 ^a

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes significan diferencia estadística significativa p<0.05

RESULTADOS

Se muestra un incremento en la media del tratamiento bacteria el cual muestra diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en comparación con los tratamientos restantes (Cuadro 9).

El tratamiento PCL+Bacteria es quien muestra la media más baja de todo el experimento y el tratamiento PCL tiene un aumento en el valor de su media al compararlo con el tratamiento control sin mostrar diferencia estadística.

DISCUSIÓN

Debido a que no existe en el mercado un paquete de pruebas diagnósticas específico para aves se decidió trabajar con las pruebas diagnósticas de laboratorio Winner-lab[®] con los cuales se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) al evaluar el tratamiento bacteria en comparación con el tratamiento control.

Las proteínas totales se conforman sobre todo por dos partes: albúmina y globulinas. El aumento en la cantidad de proteínas totales se debe a deshidratación o a un aumento de globulinas como mencionó en su investigación Sandoval (1999)⁶⁷

Durante el desarrollo del experimento, después de la administración de *Salmonella enteritidis* se logró observar que las camas del tratamiento bacteria estaban húmedas, debido a que las aves presentaban deyecciones acuosas, lo que derivó deshidratación y por lo tanto una hemoconcentración incrementando el valor de las proteínas totales en comparación con el tratamiento control.⁶⁸

CUADRO 10. Albúmina (g/L) \bar{x} +/- EE para pollos de engorda a los 21 días, que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento	Media +/- EE
Control	0,264 +/- 0,0290 ^a
PCL	0,350 +/- 0,0177 ^a
Bacteria	0,605 +/- 0,0507 ^c
PCL + bacteria	0,482 +/- 0,0447 ^b

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

RESULTADOS

El valor de la media de los tratamientos PCL y tratamiento control muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) al compararlos con los tratamientos bacteria y PCL + bacteria y estos últimos muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre ellos (Cuadro 10).

El tratamiento control muestra la media más baja del experimento, mientras que los tratamientos que fueron inoculados con *S. enteritidis* muestran la media más alta mostrando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre ellos.

El tratamiento bacteria es quien muestra la media más alta en el experimento y diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) con los tratamientos restantes.

DISCUSIÓN

La albúmina es sintetizada en el hígado y representa la mayor fracción proteica del plasma de las aves. Cuando existen altas concentraciones de esta proteína plasmática se asocia principalmente con cuadros de deshidratación, promoviendo la pérdida de líquidos observándose deyecciones acuosas. Dando como resultado hiperalbuminemia.¹

En el presente estudio se observan valores de medias más altas en proteínas totales del tratamiento bacteria manteniendo esta tendencia al evaluar la concentración de albúmina en plasma. Corroborando de esta manera la hemoconcentración.

CUADRO 11. ALT, GGT, FA (U/L) \bar{x} +/- EE para pollos de engorda a los 21 días, que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento	ALT	GGT	FA
	Media +/- EE	Media +/- EE	Media +/- EE
Control	0,011 +/- 0,038 ^a	0,118 +/- 0,024 ^a	3,529 +/- 1,843 ^a
PCL	0,173 +/- 0,038 ^b	0,162 +/- 0,024 ^a	4,086 +/- 2,128 ^a
Bacteria	0,543 +/- 0,038 ^c	0,313 +/- 0,032 ^b	11,021 +/- 2,128 ^b
PCL + bacteria	0,028 +/- 0,038 ^a	0,120 +/- 0,024 ^a	4,643 +/- 1,843 ^a

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

RESULTADOS

ALT

Los tratamientos PCL + bacteria y control muestran una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en comparación con los tratamientos PCL y bacteria (Cuadro 11).

Entre los tratamientos PCL y bacteria se muestra diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) mostrando al tratamiento bacteria con la media más alta en comparación con los tratamientos restantes.

Los tratamientos donde se administró PCL en el alimento mostraron las medias más bajas al compararlos con el tratamiento bacteria.

GGT

Se muestra una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el tratamiento bacteria al compararlo con los valores de las medias de los tratamientos restantes (Cuadro 11).

Los tratamientos donde se usó la PCL no muestran diferencia estadística significativa al compararlos con el tratamiento control.

FA

Se observa que el tratamiento bacteria muestra una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en relación con los tratamientos restantes (Cuadro 11).

Los tratamientos donde se usó PCL no muestran diferencia estadística entre ellos ni con el tratamiento control.

DISCUSIÓN

Salmonella enteritidis puede llegar a hígado por medio de la translocación bacteriana, después de haber causado una lesión intestinal y un desbalance en la microflora. Yong.Tao (2016)⁶⁹ encontró en su estudio que la administración de *Salmonella enteritidis* causaba un aumento en la concentración de las enzimas hepáticas. También comenta que la restauración de la microflora intestinal por medio de prebióticos previene el daño hepático, lo cual se demuestra en el presente estudio al comparar los tratamientos PCL y PCL + bacteria contra el tratamiento bacteria.

La enzima ALT se encuentra sobre todo en el citoplasma de los hepatocitos y cuando el hígado presenta daño en la membrana celular estas enzimas que se encuentran en el citoplasma pasan al plasma, aumentando su concentración en la circulación. Como se muestra en este experimento cuando existe una contaminación con *Salmonella enteritidis* y existe translocación bacteriana se confirma el aumento de la enzima ALT en el tratamiento bacteria.

La relación entre los valores de GGT Y FA es de vital importancia cuando se evalúa lesión hepática ya que GGT proviene casi en exclusiva de hígado mientras que FA se encuentra en una variedad más grande de órganos. De esta manera los valores altos en la evaluación de GGT y FA se asocian con una enfermedad del tracto biliar.^{70 71}

La elevación de enzimas hepáticas se debe a la destrucción de los hepatocitos o a una destrucción del conducto biliar. Los resultados obtenidos de GGT y FA (0.313 +/- 0.032 y 11.021 +/- 2.128 respectivamente) se interpretan mejor en conjunción con los niveles de ALT (0.543 +/- 0.038) mostrando un aumento de su concentración en plasma debido a que *Salmonella enteritidis* llega hasta el hígado y causa lesión en los hepatocitos y conductos biliares.⁶⁴

CUADRO 12. Peso de hígado, intestino, molleja y proventrículo (% en relación al peso del ave) \bar{x} +/- EE para pollos de engorda a los 21 días, que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis* vía oral.

Tratamiento	Hígado Media +/- EE	Intestino Media +/- EE	Molleja Media +/- EE	Proventrículo Media +/- EE
Control	3,473 +/- 0,162 ^a	8,499 +/- 0,402 ^{bc}	3,626 +/- 0,116 ^b	0,593 +/- 0,041 ^b
PCL	3,249 +/- 0,059 ^a	9,039 +/- 0,244 ^c	3,459 +/- 0,099 ^b	0,608 +/- 0,039 ^b
Bacteria	3,247 +/- 0,079 ^a	7,317 +/- 0,338 ^a	3,189 +/- 0,032 ^a	0,463 +/- 0,039 ^a
PCL + bacteria	4,073 +/- 0,076 ^b	7,426 +/- 0,458 ^{ab}	3,527 +/- 0,102 ^b	0,614 +/- 0,044 ^b

Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Literales diferentes en la misma columna significan diferencia estadística significativa $p < 0.05$

Hígado

Se observa que el tratamiento PCL + bacteria muestra diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en relación con los tratamientos restantes (Cuadro 12).

El tratamiento bacteria muestra la media más baja de peso del hígado sin mostrar diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en relación al tratamiento control y PCL.

Intestino

El tratamiento PCL muestra la media más alta en todo el experimento y diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en relación a los tratamientos restantes (Cuadro 12).

Los tratamientos donde se administró *Salmonella enteritidis* vía oral mostraron las medias más bajas a pesar de la administración de *Saccharomyces cerevisiae* en el tratamiento PCL + bacteria.

Molleja

El tratamiento bacteria muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) al compararla con los tratamientos restantes. Muestra la media más baja en el experimento (Cuadro 12).

A pesar de que el tratamiento control muestra una media de (3.626 +/- 0.116) y que el tratamiento PCL y PCL + bacteria muestran valores más bajos no muestra diferencia estadística significativa.

Proventrículo

El tratamiento bacteria muestra las medias más bajas en todo el experimento, mostrando diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) al compararlo con los tratamientos restantes.

Los tratamientos donde se adicionó PCL en el alimento mostraron las medias más altas en el experimento.

DISCUSIÓN

Hígado

Al hacer un comparativo del peso hepático con los pesos de las aves al final del experimento se encuentra una relación de ambos parámetros en el tratamiento PCL + bacteria quien mostró el peso final más alto y el peso del hígado más alto, de la misma manera el peso final del tratamiento bacteria muestra una relación con el peso del hígado teniendo los pesos más bajos en ambos parámetros.

El tratamiento PCL y control muestran los mismos valores en el peso hepático por lo cual se confirma que la administración de PCL en la dieta no afecta el peso del hígado, mientras que los tratamientos donde se administró *Salmonella enteritidis* se ve poco disminuido ya que las aves tenían los pesos más bajos del experimento.

Intestino

La adición de paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* en el alimento estimula un incremento en la producción de moco intestinal. Brufau (2015)⁷² habla de esto en su estudio y sobre el efecto promotor de crecimiento de la PCL en el pollo de engorda que estimula el aumento de la longitud y número de las vellosidades intestinales, lo cual propicia un mayor aprovechamiento de nutrientes.

En el presente estudio se refleja el efecto positivo que tiene la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre el intestino ya que el tratamiento PCL es el que muestra los valores más altos de peso intestinal (9.039 +/- 0.244) en el experimento. Y el tratamiento bacteria muestra el peso intestinal más bajo (7.317 +/- 0.338) ya que *Salmonella enteritidis*

provoca destrucción de enterocitos disminuyendo la superficie de absorción de nutrientes repercutiendo en el peso intestinal.

Molleja y proventrículo

El tratamiento bacteria mostraba los pesos más bajos de molleja y proventrículo (3.189 +/- 0.032 y 0.463 +/- 0.039 respectivamente) mostrando una relación con el peso final de las aves demostrando que la administración de *Salmonella enteritidis* tiene un efecto negativo en el peso de estos órganos. Y que al administrar PCL existe un efecto positivo mostrando aves con mejor peso al final del tratamiento lo cual se relaciona con un mejor peso de molleja y proventrículo.

9.0 ANÁLISIS MICROSCÓPICO.

Se realizó un examen microscópico de los órganos de las aves para evaluar su estructura tisular y la existencia de lesiones causadas por la presencia de *Salmonella enteritidis* además de la administración de una dieta con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*.

Tratamiento control

En este grupo se observó que la estructura celular de todos los órganos mantenía su arquitectura normal.

Se observaron cambios degenerativos como vacuolas en los enterocitos y hepatocitos.

En las vellosidades intestinales no se observó lesión o alteración en su tamaño. En promedio se observó una medida de 1242.5 μm que concuerda con lo establecido por García (2012)⁷³

El bazo y riñón mantienen su estructura anatómica normal, algunas células presentan degeneración vacuolar y se observa una cantidad más elevada de eritrocitos debido al corte y procesamiento de las laminillas.

Tratamiento PCL

Hígado, bazo y riñón continuaron mostrando la estructura anatómica normal de cada órgano.

En el intestino se observó un mayor desarrollo de las vellosidades y criptas intestinales aumentando la superficie de absorción de nutrientes y reduciendo la luz del lumen intestinal, en promedio se observaron medidas del largo de la vellosidad intestinal de 1478.20 μm . Arce (2008) menciona en su estudio que una mejor salud intestinal conduce a un incremento en el tamaño de las vellosidades intestinales y esto se logra debido al contenido de mananos y glucanos presentes en la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* al disminuir las bacterias enteropatógenas y estimular el crecimiento de bacterias benéficas. Coello (2005) hizo mención sobre el beneficio en la evaluación de los parámetros productivos de los pollos de engorda que recibieron una dieta enriquecida con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* debido al crecimiento de vellosidades intestinales.

Tratamiento bacteria

Este tratamiento fue donde se observaron mayores cambios morfológicos y pérdida de la continuidad celular.

En el intestino se encontró que el tamaño de las vellosidades estaba disminuido con relación en el tratamiento control, mostrando en promedio 1036 μm de largo en las vellosidades intestinales, por lo tanto hay un aumento del tamaño del lumen intestinal, disminuyendo la superficie de absorción de nutrientes. En la mucosa y submucosa se observó congestión y hemorragia. Infiltrado de linfocitos, heterófilos y macrófagos, en algunas zonas los enterocitos mostraban necrosis (formación de vacuolas, daño de la membrana celular, cariorrexis, cariólisis y picnosis) y otros en proceso de apoptosis. En algunas células se observaron pequeñas estructuras ovals color rojizo sugerente a bacterias intracelulares. Estas lesiones se confirman con lo descrito por Ruiz (2008) donde menciona que al examen microscópico se revela degeneración de enterocitos, inflamación, lesión en las vellosidades intestinales, congestión y hemorragias, además de cambios en el citoplasma de los enterocitos y la consecuente invasión y penetración de *Salmonella enteritidis*

En las laminillas de hígado se encontró hemorragia y congestión en todo el órgano, hiperplasia de conductos biliares, los hepatocitos mostraban degeneración vacuolar y a lo

largo de todo el órgano se encontró un infiltrado de macrófagos y heterófilos, algunos cortes histológicos mostraban un aumento de tamaño en las venas centrales y en distintas regiones cercanas a los vasos sanguíneos se observaban acúmulos de estructuras ovales que con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina adquirirían una coloración rojiza. Como mencionan Ruiz (2008) y Figueroa (2005) *Salmonella* tiene la capacidad de usar funciones celulares a su favor lo cual se puede confirmar al momento de la colonización, cuando la bacteria genera señales de transducción sobre el enterocito formando arreglos en el citoesqueleto, facilitando la formación de una vacuola que le servirá como transporte para la invasión y penetración al organismo causando lesiones principalmente en el hígado.

En bazo, ventrículo y bolsa de Fabricio se observó hemorragia y congestión e infiltración de heterófilos y macrófagos

Tratamiento PCL + bacteria

En este tratamiento el intestino mantuvo la integridad de la morfología celular, el tamaño de las vellosidades intestinales fue de 1685 μm en promedio en comparación con el tratamiento control, con lo cual se confirma el efecto benéfico de la administración de pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta ante la infección con *Salmonella enteritidis*. A pesar del efecto benéfico de la pared celular algunos enterocitos mostraban degeneración vacuolar citoplasmática y en algunas regiones del órgano se encontró la presencia de un infiltrado de linfocitos, macrófagos y heterófilos. Spring (2000) ⁷⁴ mencionó en su estudio que los mananoligosacáridos presentes en la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* mantienen una relación estrecha con la fimbria tipo 1 de *Salmonella enteritidis* lo cual le impide fijarse a los enterocitos evitando lesiones que afecten el desempeño productivo de las aves.

El hígado no mostró cambios morfológicos, los hepatocitos presentaron degeneración vacuolar citoplasmática, se observaron algunos heterófilos y macrófagos cerca de los vasos sanguíneos. Con lo cual confirmamos lo dicho por Soriano (2003) quien afirmó que la administración de prebióticos es una alternativa viable para la prevención de la translocación bacteriana causada por *Salmonella enteritidis*

En el bazo y bolsa de Fabricio se encontró congestión, y se observaron algunos heterófilos dispersos.

10.0 CONCLUSIÓN

El presente estudio reveló que el uso de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (PCL) con un contenido de 0.25 kg/t adicionado en la dieta de pollos de engorda tuvo un efecto positivo sobre los parámetros productivos y hematológicos cuando las aves fueron infectadas con *Salmonella enteritidis* en un contenido de 1×10^8 UFC previniendo la translocación e invasión bacteriana en aves a los 21 días de edad

Se demostró que la administración de PCL en la dieta de los pollos de engorde mejora los índices productivos y estas mejoras se deben al desarrollo de la mucosa digestiva, ya que a los 21 días de experimentación la PCL incrementó la altura de las vellosidades intestinales.

Las lesiones causadas por *Salmonella enteritidis*, claramente provocaron una reducción en la eficiencia productiva, debido a que durante su proceso de colonización la bacteria lesiona diferentes órganos, las aves infectadas presentan deyecciones acuosas.

La adición de PCL en aves infectadas con *Salmonella enteritidis* mostró valores similares e inclusive mejores que los del tratamiento control.

Por lo tanto la adición de 0.25 kg/t de PCL en el alimento de pollos de engorda resultó ser eficaz en aves infectadas con *Salmonella enteritidis* en un contenido de 1×10^8 UFC.

11.0 ANEXO I

REDITUABILIDAD

A los 21 días el costo de inversión en alimento en el tratamiento control fue de \$7.99 para obtener aves con peso promedio de 0.814 kg, el tratamiento PCL invirtió \$7.17 obteniendo aves con peso promedio de 0.833 kg, el tratamiento PCL + bacteria invirtió \$ 7.28 con pesos de las aves en promedio de 0.838 kg y el tratamiento bacteria invirtió \$ 7.47 para obtener pesos promedio de 0.785 kg. Demostrando de esta manera que la inversión en dinero es menor con el uso de PCL sola o como tratamiento cuando las aves se encuentran infectadas con *Salmonella enteritidis*.

Control

Día	Consumo de alimento	Peso del ave	Precio del alimento consumido	Precio de la PCL consumida	Total de inversión en alimento a los 21 días
21	1.333 Kg	0.814 Kg	\$ 7.99	\$ 0.0	\$ 7.99

PCL

Día	Consumo de alimento	Peso del ave	Precio del alimento consumido	Precio de la PCL consumida	Total de inversión en alimento a los 21 días
21	1.195 Kg	0.833 Kg	\$ 7.17	\$ 0.0028	\$ 7.1728

PCL + bacteria

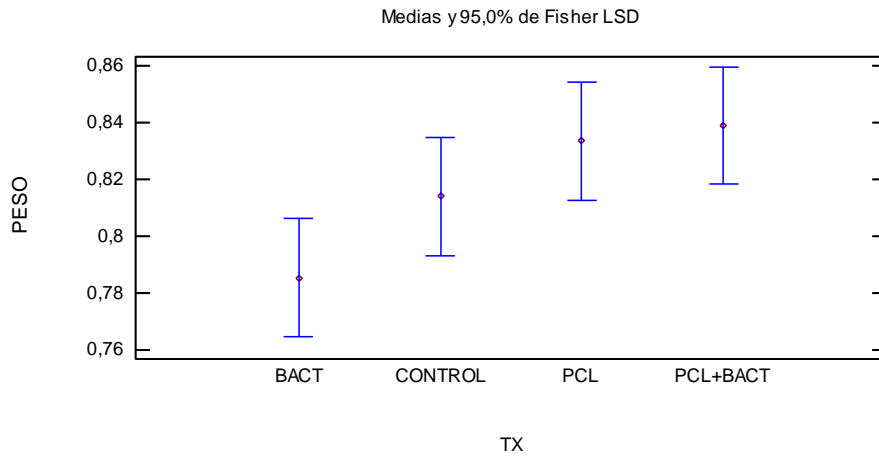
Día	Consumo de alimento	Peso del ave	Precio del alimento consumido	Precio de la PCL consumida	Total de inversión en alimento a los 21 días
21	1.213 Kg	0.838 Kg	\$ 7.27	\$ 0.0028	\$ 7.2728

Bacteria

Día	Consumo de alimento	Peso del ave	Precio del alimento consumido	Precio de la PCL consumida	Total de inversión en alimento a los 21 días
21	1.245 Kg	0.785 Kg	\$ 7.47	\$ 0.0	\$ 7.47

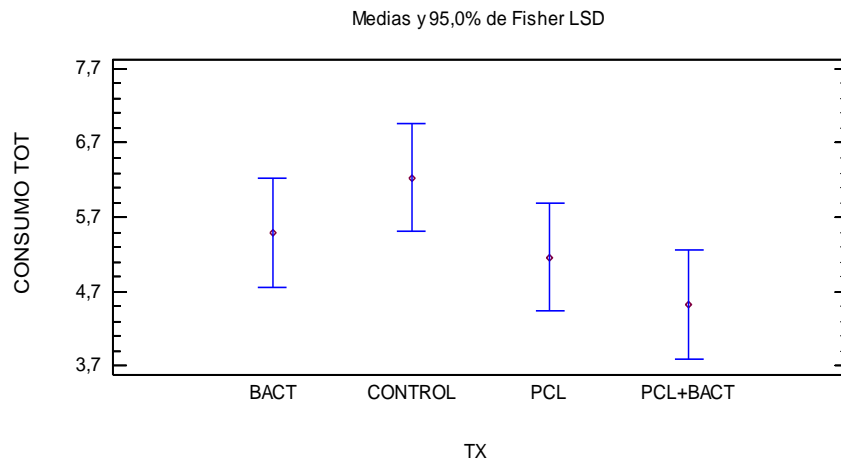
12.0 ANEXO II GRÁFICOS

Grafico 1. Peso final (kg) a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



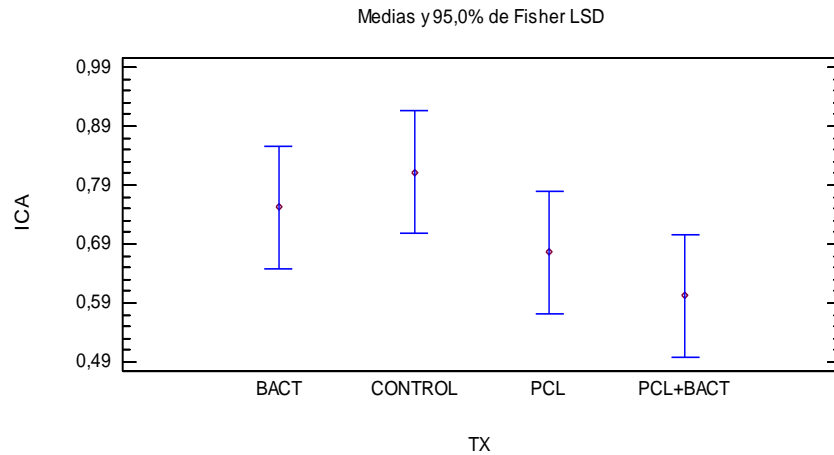
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 2. Consumo de alimento final (kg) a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



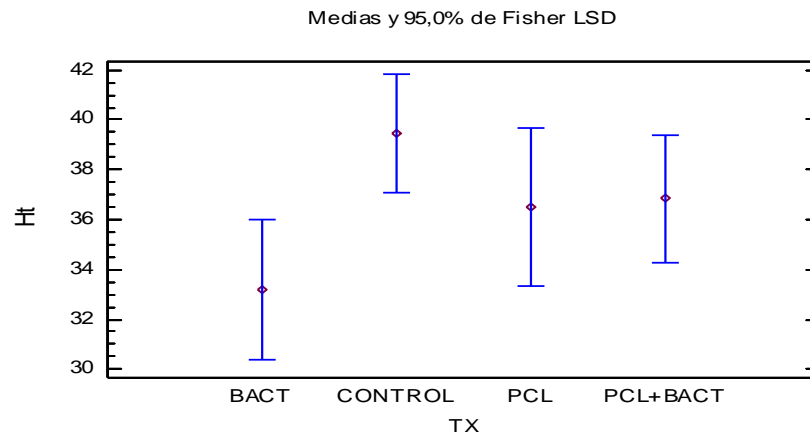
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 3. Índice de conversión alimenticia a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



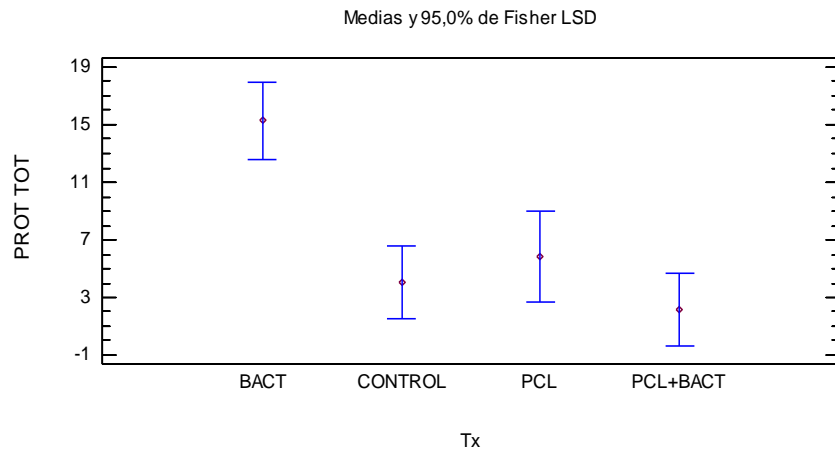
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Grafico 4. Hematocrito a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



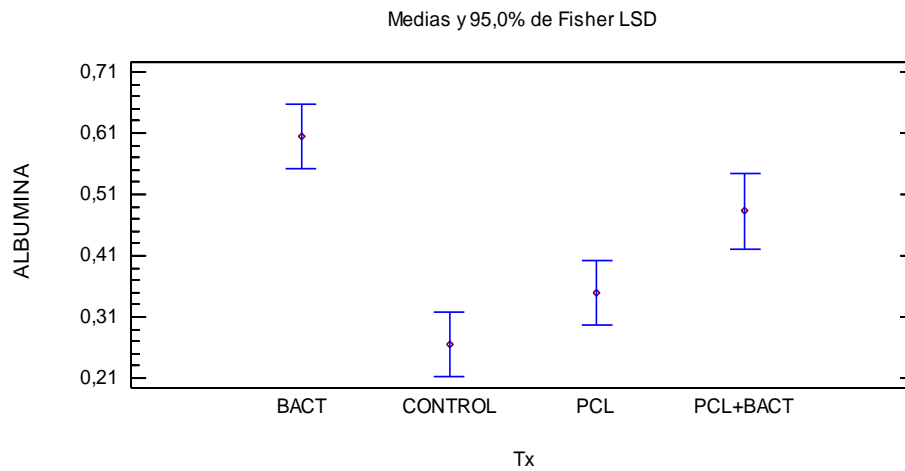
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Grafico 5. Proteínas totales a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



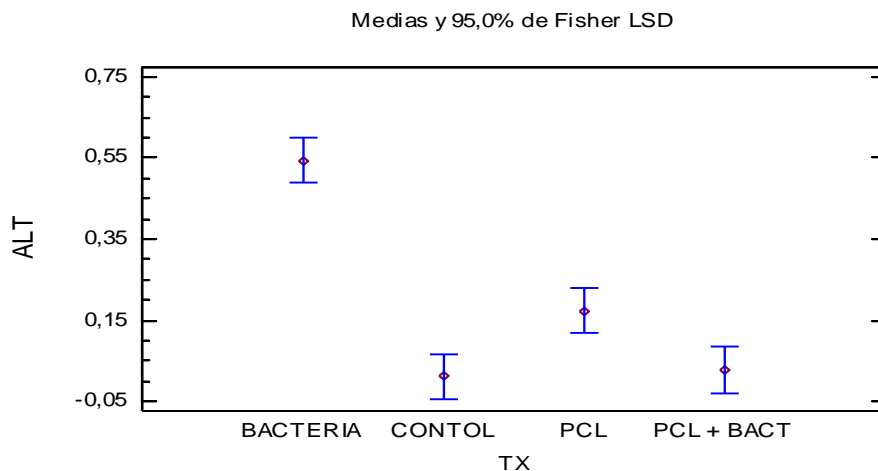
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 6. Albumina a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



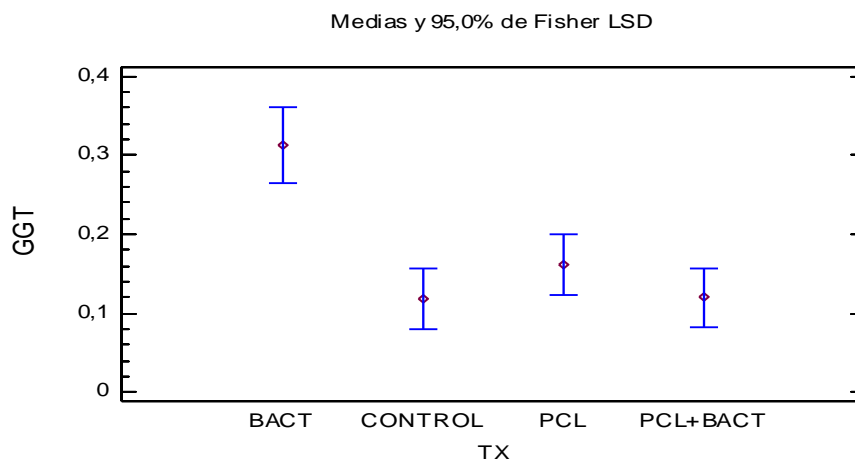
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 7. ALT a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



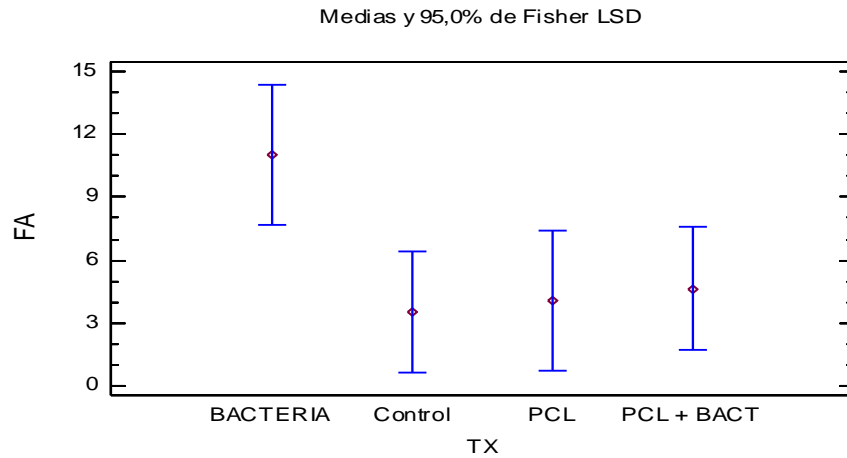
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Grafico 8. GGT a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



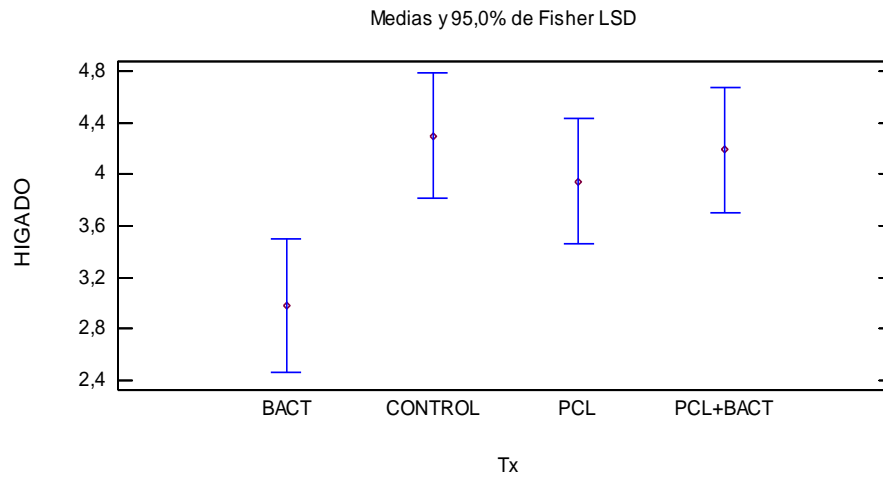
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1x10⁸ UFC.

Grafico 9. FA a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



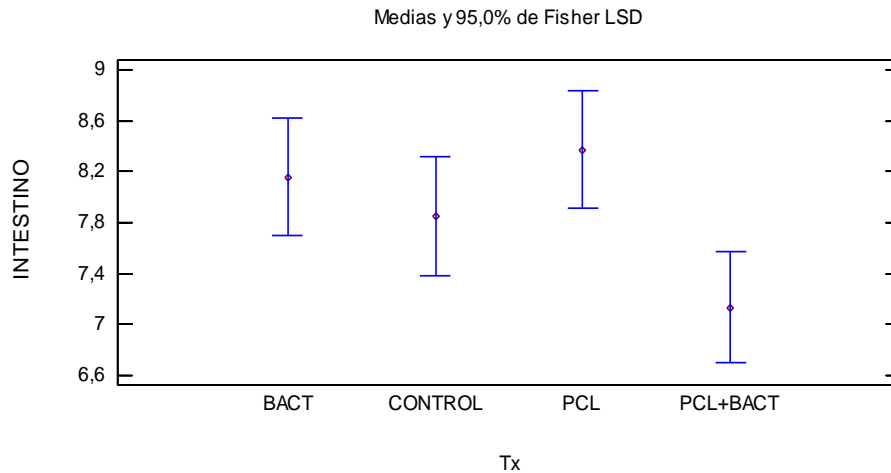
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 10. Peso del hígado a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



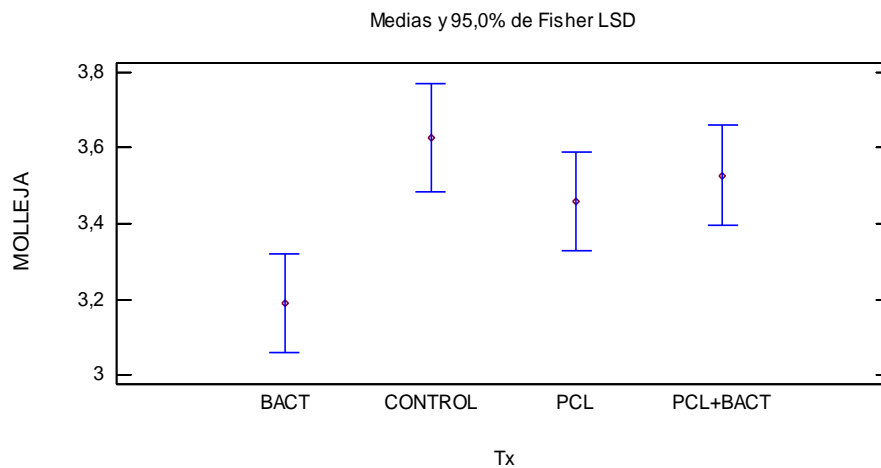
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 11. Peso del intestino a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



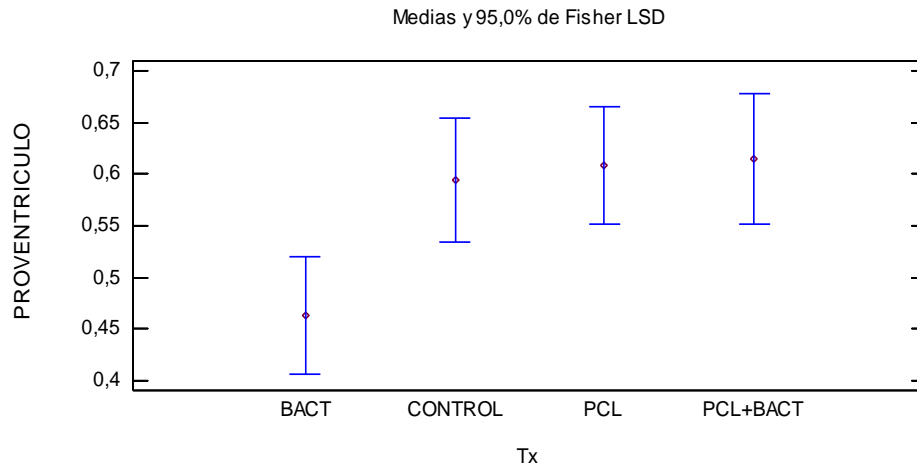
Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 12. Peso de molleja a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

Grafico 13. Peso del proventrículo a los 21 días de edad en pollos de engorda que consumieron dietas con pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* e inoculados con una cepa de *Salmonella enteritidis*



Control = alimento comercial (Kg), PCL = 0.25 kg/t, Bacteria = *Salmonella enteritidis* 1×10^8 UFC.

13.0 BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Sánchez Ramírez, et al; (2005). Comportamiento de algunas características productivas, estrés y resistencia a Salmonella enteritidis en aves semipesadas bajo dos sistemas de producción. *Veterinaria México*, abril-junio, 205-215.
- ² Panorama agroalimentario, avicultura carne 2015. Dirección de investigación y evaluación económica y sectorial, FIRA.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61946/Panorama_Agroalimentario_Avicultura_Carne_2015.pdf
- ³ Del Bosque G. (2015) Panorama de la industria avícola mexicana, SAGARPA, Puebla.
- ⁴ Escenario base 2009-2018, Proyecciones para el sector agropecuario México, SAGARPA.
<http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/EBespa%F1ol300909.pdf>
- ⁵ Retes C. (2014) Tesis. Evaluación de parámetros productivos en pollos de engorda de la línea Arbor Acres x Ross con restricciones de 5 y 10% en la alimentación desde el día 11 al 28. Honduras
- ⁶ Bailey A.R, (2013). Salud intestinal en aves domésticas. El mundo interno, AVIGENBRIEF, EUA Octubre.
- ⁷ Gómez V.G, et al; (2010). El sistema inmune digestivo de las aves, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Enero-Abril.
- ⁸ Climent F, (2008). Integridad intestinal: Factores asociados a su mantenimiento, Selecciones avícolas, Elanco Valquímica S.A., Junio.
- ⁹ Jaramillo B.A., (2011). Evaluación de la mezcla de un prebiótico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos de pollos de engorde, Universidad Nacional de Colombia, Ibagué.
- ¹⁰ Bailey A. (2015) Salud intestinal en aves domésticas. Patología, selecciones avícolas, agosto, 18-22.
- ¹¹ Maldonado B. et al; (2010). El sistema inmune digestivo en las aves. *Investigación y Ciencia*, Enero-Abril, 9-16.
- ¹² García A. (2012) Rendimiento productivo y de canal en 2 estirpes de pollo de engorda alimentados con dieta sorgo-soya con diferentes porcentajes de proteína. Tesis maestría. México.
- ¹³ Guía de manejo del pollo de engorda (2009). Arbor acres
http://es.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Spanish_TechDocs/smA-Acres-Guia-de-Manejo-del-Pollo-Engorde-2009.pdf
- ¹⁴ Macías A., (2010) Efecto de la levadura de cerveza líquida (*Saccharomyces cerevisiae*) como probiótico en el rendimiento del pollo de engorda. Tesis. Saltillo, Coahuila México.
- ¹⁵ Tovar R., (2012). Prácticas de manejo en la cría de pollos de engorda en una granja comercial ubicada en la localidad de Morón, Santa Bárbara. Tesis, Venezuela, junio.

-
- ¹⁶ Rosas J., (2014) Comparación del rendimiento productivo de pollos de engorda suplementados con tylosina fosfato como promotor de crecimiento en dosis mínima y máxima. Tesis. Lima, Perú.
- ¹⁷ Rondón A. et al. (2008) Aislamiento identificación y caracterización parcial de las propiedades probióticas de cepas de *Lactobacillus* sp procedentes del tracto gastrointestinal de pollos de ceba. *Ciencia y tecnología alimentaria* 6(1) pág. 56-63. Matanzas, Cuba
- ¹⁸ Houriet J. (2007). Guía práctica de enfermedades más comunes en aves de corral. *Miscelánea* N° 58. Argentina.
- ¹⁹ Carrillo M., (2013). Utilización de lectinas en la inhibición de la adhesión de *Pasteurella multocida*. *Revista Medicina Veterinaria*. Enero-Julio. 93-107.
- ²⁰ Figueroa I. et al. (2005). Mecanismos moleculares de *Salmonella* sp. *Revista latinoamericana de microbiología*. Volumen 47. Enero-Marzo.
- ²¹ Ledesma N; et al. (2012). Determinación, por PCR, de *Salmonella enteritidis* FT 13a y *Salmonella* Issatschenko en muestras de pollitos infectados experimentalmente. *Veterinaria México*, Octubre-Diciembre, 257-271.
- ²² Herrera B. et al. (2015). Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenicidad muy particular. *Revista electrónica veterinaria*. Vol. 16 N° 1.
- ²³ Gutiérrez A; et al. (2008). Salmonelosis y Campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Revista veterinaria México*. Vol. 39 N°1. Enero-Marzo.
- ²⁴ Ruiz F. et al; (2008) Patogenicidad de salmonella enteritidis FT 13^a *Salmonella* Issatschenko en pollos de engorda. *Revista veterinaria México* vol. 39 número 2, México
- ²⁵ Juárez A. et al; (2010). Enhancement of competitive exclusion by a defined probiotic on *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization during rearing of Leghorn chicks. *Veterinaria México*, Enero-Marzo, 25-43.
- ²⁶ Gutiérrez A. (2006) Detección de salmonella enteritidis, *Campilobacter jejuni* y *Campilobacter coli* en aves de engorda con exposición natural. Tesis de doctorado. UNAM. México D.F.
- ²⁷ Quiroga J. (2009). Fagoterapia preventiva como control de *Salmonella enteritidis* en gallinas de postura experimentalmente infectadas. Tesis. Santiago, Chile.
- ²⁸ Laurencio M. (2008). Utilización de las mezclas de exclusión competitiva en la avicultura moderna. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Sin mes, 3-11.
- ²⁹ Silva G. (2012). Genes involucrados en la patogénesis, persistencia y excreción de *Salmonella* en modelos animales. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. Vol. 25 N°1.
- ³⁰ Alfaro J. et al. (1999) Inmunoprofilaxis contra la infección por *Salmonella enteritidis* en pollos de engorda mediante el uso de linfocinas. UNAM México.
- ³¹ Martínez L.; (2011). Regulación en cascada de los genes de las islas de patogenicidad 1 y 2 de *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* a través de los sistemas globales BarA/SirA, Csr y el regulador HlID. Tesis. Cuernavaca Morelos
- ³² Carrillo L, et al. (2013) Utilización de lectinas en la inhibición de la adhesión de *Pasteurella multocida*. *Rev. Med. Vet.* n.25, pp.93-107

-
- ³³ Micucci H, et al. (1987). Lectinas: obtención, estructura química, propiedades y aplicaciones diagnósticas, y farmacológica, universidad nacional de la plata, acta farmacológica. Argentina.
- ³⁴ Soriano G. et al (2003) Prevención de la translocación bacteriana mediante prebióticos y probióticos, revista gastroenterología y hepatología, Barcelona.
- ³⁵ Mena V. et al (1996). Translocación bacteriana: un problema para reflexionar. Revista Cubana de pediatría, vol. 68 n 1, Habana, Cuba.
- ³⁶ Milián, G. et al; (2008). Empleo de probióticos basado en *Bacillus* sp y de sus endosporas en la producción avícola. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Sin mes, 117-122.
- ³⁷ Medina R et al. (2015). Morfología intestinal en pollos de engorde con o sin suministro de biomasa de levaduras de la producción de etanol combustible. *Zootecnia Tropical*, 33(2), 107-116. Recuperado en 13 de marzo de 2017.
- ³⁸ Carro M. et al. (2002) Los aditivos antibióticos promotores de crecimiento de los animales: situación actual y posibles alternativas. Sitio argentino de producción animal. España. Mayo. http://www.produccion_animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/01aditivos_antibioticos_promotores.pdf
- ³⁹ Revisión del desarrollo avícola. Disponibilidad de piensos y nutrición de aves de corral en países en desarrollo. FAO. <http://www.fao.org/3/a-al704s.pdf>
- ⁴⁰ Velasco S. et al (2010). El prebiótico tipo inulina en alimentación aviar: características y efectos a nivel intestinal. *Revista complutense de ciencias veterinaria*. 87-104, Madrid-España.
- ⁴¹ Rondon A. et al. (2008). Aditivos alimentarios sustituyentes de los antibióticos en la avicultura moderna. Uso de las bacterias ácido lácticas como probióticos. CD de monografías. Matanzas, Cuba.
- ⁴² López A, et al (2005). Probióticos: una alternativa para mejorar el comportamiento animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Sin mes, 129-140.
- ⁴³ Rodríguez M. et al; (2008). Componentes de la pared de las levaduras: actividad probiótica. Matanzas Cuba.
- ⁴⁴ Peralta M. et al; (2008). Levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) en la alimentación de pollos de engorda. *Revista electrónica veterinaria*. Vol. 9 N°10. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008/101009.pdf>
- ⁴⁵ Rodríguez S. et al. (2015) Evaluación del efecto de *Lactobacillus* sp. En el desarrollo del intestino delgado en pollos de engorda. *Revista ciencia y agricultura*. Vol. 3 n 1, Colombia. pollo de engorda sobre los parámetros productivos. *Técnica Pecuaria en México*, mayo-agosto, 155-162.
- ⁴⁷ Arce J.; (2008). Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes de *Saccharomyces cerevisiae*. *Veterinaria México*. Michoacán México.
- ⁴⁸ Jaramillo A. (2011) Evaluación de la mezcla de un prebiótico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos en el pollos de engorda. Tesis, universidad nacional de Colombia, Ibagué-Colombia.

-
- ⁴⁹ boletín técnico. Generalidades de los oligosacáridos. Grupo biotecap, [http://www.biotecap.com.mx/aves/Generalidades%20de%20los%20Oligosacaridos%20\(Mananos%20y%20B-glucanos\).pdf](http://www.biotecap.com.mx/aves/Generalidades%20de%20los%20Oligosacaridos%20(Mananos%20y%20B-glucanos).pdf)
- ⁵⁰ Pizarro S, et al (2014) β -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud. *Rev. chil. nutr*, vol.41, n.4, pp.439-446
- ⁵¹ Guida N, et al (2015) Evaluación sobre el efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *E. coli* sobre la cría de pollos. *Revista electrónica veterinaria*. Vol. 14 n 5,
- ⁵² Arce M. Características morfológicas del intestino en el pollo de engorda con el uso de Safmannan. Boletín informativo N°10. Michoacán México. <http://www.lfa-america.com/safnews/pdfs/aves10.pdf>
- ⁵³ Ficha técnica (2014) producto Safmannan innovación agrícola y veterinaria. CHEMIE <http://www.chemiesa.com/wp-content/uploads/2015/04/Ficha-Tecnica-Safmannan.pdf>
- ⁵⁴ Cétola V. (2000) proteínas totales, método colorimétrico para la determinación de proteínas totales en el suero. Wiener lab <http://www.wienerlab.com.ar>
- ⁵⁵ Velázquez R (2009) Manual de prácticas bioquímica clínica. UNAM Facultad de química, México DF.
- ⁵⁶ Cétola V. (2000) albumina, método colorimétrico para la determinación de albumina en el suero. Wiener lab <http://www.wienerlab.com.ar>
- ⁵⁷ Moreno B. Manual de técnicas de necropsia patología general. UNAM FESC.
- ⁵⁸ Cétola V. (2000) GPT (ALT), método UV optimizado (IFCC) para la determinación de alanina aminotransferasa (GPT/ALT) en suero o plasma. Wiener lab <http://www.wienerlab.com.ar>
- ⁵⁹ Cétola V. (2000) g-G-test, método (Szasz modificado) para la determinación de gamma-glutamyl-transferasa en suero o plasma, sustrato recomendado por la IFCC. <http://www.wienerlab.com.ar>
- ⁶⁰ Santin E. et al (2001) Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Poultry science* 10: 236-244. Jaboticabal, Brazil.
- ⁶¹ Zhang A. et al (2005) Effects of yeast *Saccharomyces cerevisiae* cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chickens. *Poultry science* 84: 1015-1021. Korea
- ⁶² Hernández RJO. (2015) Paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* (Pcl) como aditivo en aflatoxicosis y asistente de prevención cuando *Salmonella enteritidis* está presente en pollos de engorde en la tercera semana. Toluca de Lerdo, Edo. de Méx. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Memoria. Año 1. Núm.1. Vol. 1.
- ⁶³ Coello L. et al. (2005). Efecto de paredes celulares (*Saccharomyces cerevisiae*) en el alimento de pollo de engorda sobre los parámetros productivos. *Técnica Pecuaria en México*, mayo-agosto, 155-162.
- ⁶⁴ Urdaneta S. (1998) Detección de anemia y anticuerpos séricos a anemia infecciosa aviar en pollos de engorda en los municipios de Mara y la Cañada de Urdaneta del estado Zulia. *Revista científica FCV-LUZ*, Vol. 8:3 265-272.

-
- ⁶⁵ Perozo F, et al. (2003) Valores hematológicos en pollos de engorde expuestos de forma continua a bajas dosis de aflatoxina b1 en el estado zulía, Venezuela. Revista Científica, Vol. XIII, N° 1, 59-64.
- ⁶⁶ Hurtado L et al. (2014) Efecto de la torta de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en el perfil bioquímico sanguíneo e histopatología del hígado de aves de postura. Revista ciencia amazónica 4:1, 60-66
- ⁶⁷ Sandoval G. et al (1999) respuesta al estrés físico y la hepatoprotección continua en pollos. Arch. Zootec. 48: 395-404
- ⁶⁸ Zapata W. et al. Manual de química sanguínea veterinaria. Laboratorio microclin S.R.L. Perú. www.microclin.com
- ⁶⁹ Yong-Tao L. (2016) effects of Salmonella infection on hepatic damage following acute liver injury in rats. Hepatobiliary pancreat Dis Int, vol 15:4
- ⁷⁰ Fernández E. et al. (2008) aproximación de las enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. Medicina & Laboratorio, vol. 14 11:12
- ⁷¹ Moreno A. et al. (2007) utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. Anales de medicina interna, vol. 24 1:38-46
- ⁷² Brufau, M. (2015). Dietary β -galactomannans have beneficial effects on the intestinal morphology of chickens challenged with Salmonella enterica serovar Enteritidis1. J. Anim. Sci. 93:238-246.
- ⁷³ García G (2012) Longitud de las vellosidades intestinales y cantidad de *Clostridium perfringens* en pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos, XXXVII Conversión Nacional ANECA 2012.
- ⁷⁴ Spring P. et al (2000) The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameter and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella- challenged broilers chicks. Poultry science 79: 205-211.