

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



“Efecto de la cocarboxilasa sobre el comportamiento productivo, histomorfometría intestinal e histopatología hepática en pollos de carne durante la primera semana de edad”

Tesis para optar por el Título Profesional de:

Médico Veterinario Zootecnista

Gualberto Rashid Alamo Mejia

Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Lima – Perú

2021

*Dedico esta tesis a mi Madre Aura Álamo
Figueroa, quien fue la que me brindó su apoyo
en mis buenos y malos momentos, por su
motivación constante que permitieron que hoy
en día cumpliera un objetivo más en mi vida y
formara la persona quien soy; por su cariño,
atención y amor incondicional.*

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the effect of Cocarboxylase (PPT) on the productive parameters, intestinal histomorphometry and liver histopathology in broiler chickens with 7 days of age, fed with a diet with the inclusion of cocarboxylase (10ppm) and compare it against diets which use oils of commercial use (AV = Vegetable Oil, AA = Acidulated Oil) to meet the requirements of Metabolizable Energy (ME). 300 male BB day-old chickens were distributed under a completely randomized design with 5 treatments, 6 repetitions per treatment and 10 birds per repetition. The normality and homoscedasticity of the quantitative variables (Productive Parameters and Intestinal Histomorphometry) were evaluated. The analysis of variance (ANOVA) was made for the productive parameters and the differences between means were carried out by Duncan's test; for the intestinal histomorphometry as well as liver histopathology, the Kruskal-Wallis test was used, considering a statistical difference of $P < 0.05$. A significant difference was found in the productive behavior between the groups, where T3 and T5 were higher ($P < 0.05$) in Total weight gain, with T2 being the treatment that had the lowest performance ($P < 0.05$). In regard to the data obtained for food consumption, it was higher in treatments T1 and T5 ($P < 0.05$). For the Feed Conversion Index, there was no differences between treatments T1, T3, T4 and T2 being the one that obtained the worst feed conversion: 0.87 ($P < 0.05$). The villi height measurement was longest in T1 while in T2 it was the shortest ($P < 0.05$). In crypt depth, T1 and T3 were higher ($P < 0.05$) compared to the other treatments. The ratio in treatment T1 was higher ($P < 0.05$) with respect to the other treatments. Regarding Hepatic Histopathology, different types of lesions were found, T2 was the most affected treatment with the highest ranges for each specific lesion ($P < 0.05$), while T3 and T4 were the least affected ($P < 0.05$). It is concluded that the diets of pre-start chickens by the inclusion of PPT, responded positively in the productive parameters and a benefit on liver function, managing to reduce the Degenerative Processes caused by the addition of oils in the diet (AV and AA).

Key words: Cocarboxylase, oils, lipids, Broiler chickens, weight gain.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la Cocarboxilasa (PPT) sobre los parámetros productivos, histomorfometría intestinal e histopatología hepática a los 7 días de vida de los pollos de carne, alimentados con una dieta con la adición de cocarboxilasa (10 ppm) y compararla con dietas con inclusión de aceites de uso comercial (AV= Aceite Vegetal, AA= Aceite Acidulado) para cubrir los requerimientos de Energía Metabolizable (EM). Se emplearon 300 pollos BB Cobb500 recién nacidos distribuidos bajo un diseño completamente aleatorizado con 5 tratamientos con 6 repeticiones por tratamiento y 10 aves por repetición. Se evaluó la normalidad y homocedasticidad de las variables cuantitativas (parámetros productivos e histomorfometría intestinal). Para los parámetros productivos, se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias entre medias por la prueba de Duncan; en la histomorfometría intestinal tanto como la histopatología hepática se usó la prueba de Kruskal-Wallis. Se encontró diferencia significativa en el comportamiento productivo entre los grupos, donde T3 y T5 fueron superiores ($P<0.05$) en ganancia de peso total, siendo T2 el tratamiento que tuvo la más baja performance ($P<0.05$). Respecto a los datos obtenidos para el consumo de alimento fueron mayores en los tratamientos T1 y T5 ($P<0.05$). Para el índice de conversión de alimento no mostró diferencias entre los tratamientos T1, T3, T4 y siendo T2 el que obtuvo la conversión alimenticia más baja: 0.87 ($P<0.05$). La medición de altura de vellosidades fue más larga en T1 mientras que en T2 fue el más corto ($P<0.05$). En profundidad de cripta, T1 y T3 fueron mayores ($P<0.05$) en comparación a los demás tratamientos. La ratio en el tratamiento T1 fue mayor ($P<0.05$) con respecto a los demás tratamientos. En cuanto a la histopatología hepática se encontraron diferentes tipos de lesiones siendo el T2 el más afectado con los rangos más altos para cada lesión en específico ($P<0.05$), mientras que el T3 y T4 son los menos afectados ($P<0.05$). Se concluye que las dietas de pollos de pre-inicio con la inclusión de PPT, respondieron de forma positiva en los parámetros productivos y un beneficio sobre el funcionamiento hepático, logrando reducir los procesos degenerativos causados por la adición de aceites comerciales en la dieta (AV y AA).

Palabras clave: Cocarboxilasa, aceites, lípidos, pollos Broiler, Ganancia de peso.

INTRODUCCIÓN

La producción de pollos de carne en Perú es una actividad que muestra un crecimiento constante en los últimos años. Las estadísticas del 2019 muestran un crecimiento de un 4.4% con respecto al año anterior, habiendo alcanzado un consumo per cápita nacional de 49.45 kg en el año 2018, incrementándose en el 2019 a 51.14 kg, siendo considerada como la fuente de proteína animal más consumida por los peruanos (MINAGRI, 2019; Rodríguez de la Cruz, 2018). Este elevado consumo per cápita se debe a su bajo costo en comparación con otros tipos de carne, mientras que la media del precio de la carne de pollo se mantuvo en S/.4.05 por cada kg durante el 2019, los precios de otras carnes tuvieron una media de S/.15.39, 13.88, 15.20 y 13.66 para la carne de Cerdo, Vacuno, Pavo y Oveja, respectivamente (MINAGRI SISAP v.2.0, 2019).

El pollo de carne o Broiler presenta la mejor eficiencia alimenticia en comparación con otras especies como pavos, cerdos y vacunos (Tallentire *et al.*, 2016). Esto se debe a la mejora en genética, así como en nutrición, sanidad y manejo de crianza a través de los años, permitiendo que el pollito BB con un peso promedio al nacimiento de 45 gr pueda llegar a pesar más de 200 gr al séptimo día, lo que representa 4.5 veces más su peso al nacimiento (Penz, 2018). Cabe señalar que los primeros siete días de crianza son fundamentales para la adquisición de gramos adicionales al final de la campaña, debido a que por cada gramo extra que se gane en la primera semana de vida se producirá 6 gramos más de peso corporal a los 35 días de edad, siendo un indicador para estimar el comportamiento productivo del lote al final de la campaña (Villa, 2010; Cobb, 2018).

Desde el punto de vista nutricional, la energía y su relación con los otros nutrientes (aminoácidos, minerales y vitaminas) es de suma importancia ya que esta regula el consumo de alimento y la de otros nutrientes, así como ser el motor para la síntesis y/o desarrollo de tejidos y órganos (muscular, intestinal, inmunitario, etc.) (McDonald y Edwards, 2013). Es debido a ello, que a la hora de formular raciones pre-iniciadoras, la energía es el primer requisito a cubrir; las fuentes proveedoras de energía en el alimento deben ser de calidad y tener un aporte constante, ya que un exceso de energía produce un menor consumo de alimento, lo cual conlleva a una menor ingesta de aminoácidos y otros nutrientes requeridos. Por el contrario, un déficit de energía activa las rutas gluconeogénicas destinando aminoácidos para la síntesis de energía, afectando la síntesis de tejido muscular y la respuesta inmune humoral, así como celular (Leeson y Summer, 2008).

En la alimentación de animales de producción se incluyen granos (maíz, trigo, cebada, etc.) y lípidos (aceite de soya, palma, palmiste, etc.) para poder cubrir las necesidades de energía en el alimento (Church *et al.*, 2013). Si estos insumos no son de buena calidad, pueden producir problemas a nivel del tracto gastrointestinal y glándulas anexas (hígado y páncreas) por presentar metabolitos tóxicos, bacterias, factores antinutricionales, entre otros (Lindblom, 2017). El uso de

lípidos como aceites o grasas con menor aporte de energía al estimado y/o presencia de compuestos tóxicos como peróxidos y aldehídos conlleva a un menor nivel de energía del alimento o dañar la mucosa intestinal y/o al parénquima hepático (Baião, 2005; Bayraktar, 2011). Además, la producción de la enzima lipasa pancreática y la digestibilidad de lípidos es baja en la primera semana de edad (Tancharoenrat et al., 2014).

Los aceites añadidos en la dieta, son de vital importancia en la alimentación de los pollos Broiler puesto que son incapaces de sintetizar todos los que existen, tal como los ácidos grasos esenciales (Ácido Linoleico y α -Linolenico), siendo el Linoleico el que tiene mayor importancia desde el punto de vista nutricional ya que tiene efecto en el crecimiento de vellosidades intestinales. En el mercado existen distintos tipos de Aceites (Maíz, Girasol, Palma, Soja, etc.), los cuales tienen diferentes niveles de ácido Linoleico, siendo el Destilado de Maíz (55,8%) y el Aceite de Soya (53,19%), los que mayor cantidad poseen (Lindblom, 2017). El Aceite Acidulado de Soya es comúnmente utilizado en la industria avícola, el cual es un subproducto derivado de la industria del aceite de soya y origina rancidez oxidativa, formando peróxidos, lo cual afecta al sabor, aroma, color y textura. Estos peróxidos afectan negativamente a la digestibilidad de otros nutrientes, afectando el proceso de transporte y absorción, además de destruir las vitaminas liposolubles A y E. Por último, tienen menor contenido de ácido Linoleico, disminuyendo el valor nutritivo en comparación del Aceite de Soya Refinado (Bayraktar, 2011; Baião, 2005)

El hígado desempeña una función muy importante en el metabolismo de los lípidos: absorción de los lípidos mediante la producción de bilis; sintetiza y oxida ácidos grasos de modo activo, triglicéridos y fosfolípidos; cetogénesis; síntesis y metabolismo de proteínas plasmáticas. Durante la primera semana de vida de los pollos BB las lesiones comúnmente observables en la histología hepática son la Degeneración Grasa (DG) y la Tumefacción Hepática (TH) las cuales son inducidas por una sobrecarga de Ácidos Grasos provenientes de los aceites añadidos en dieta y el estrés oxidativo causado por su calidad dando lugar a la peroxidación lipídica y liberación de peróxidos lipídicos que producen ROS. Estos 2 problemas traerán consigo fallas en la metabolización y un mayor grado de lesión hepática. Cuando el hígado recibe ácidos grasos provenientes de la dieta estos deben ser metabolizados y transformados en lipoproteínas para su transporte extrahepático, pero cuando existe una sobrecarga de ácidos grasos el hígado es incapaz de metabolizarlos y generará vacuolas grasas en los hepatocitos (DG). Esto va a depender de la apoproteína, quien ensambla las lipoproteínas provenientes de los ribosomas del Retículo Endoplasmático Rugoso (Murray R, 2013; Robbins y Cotran 2010). Es por ello, que la industria de alimentos para pollos de carne está en la búsqueda de aditivos que aporten y maximicen el uso de la energía en el alimento, y en este grupo tenemos a las enzimas como carbohidrasas, lipasas, así como productos gluconeogénicos y activadores metabólicos como la cocarboxilasa.

La cocarboxilasa o pirofosfato de tiamina (PPT) es una coenzima originada a partir de la tiamina o vitamina B1 la cual sirve como una coenzima para el complejo piruvato deshidrogenasa (PDH), α -cetoglutarato deshidrogenasa (α -KGDH) y transcetolasa (Lehninger et al., 2014). Cabe señalar que los complejos PDH y α -KGDH están involucrados en la síntesis de energía provenientes de carbohidratos (Olkowski y Classen, 1998). La función más relevante de la PPT es intervenir en la descarboxilación del piruvato por medio del complejo de la PDH y convertirla en acetil Co-A a nivel mitocondrial, y de esta forma pueda ingresar al ciclo de Krebs para continuar con los procesos metabólicos generadores de energía. La ausencia de esta coenzima no permitirá la conversión del piruvato a acetil Co-A, afectando la producción de ATP a nivel mitocondrial. La biosíntesis de la PPT a partir de tiamina requiere de un aporte de energía en forma de ATP, es por esta razón, que esta ruta biosintética está estrictamente regulada para evitar el desperdicio de energía, ya que se necesita un mínimo de cinco fosforilaciones por cada molécula de PPT producida (Hohmann y Meacock, 1998; Lehninger et al., 2014).

La inclusión de PPT ha sido evaluada en diversos estudios, como Saez *et al.* (2011), evaluó el efecto de la inclusión de la PTT a razón de 0, 0.6, 0.12 y 0.18% en el alimento sobre los parámetros productivos: peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento, conversión de alimento y mortalidad; peso de intestino, hígado y pechuga, así como nivel de glucosa sanguínea en pollos de carne de 1 a 21 días de edad. El autor no encontró diferencia estadística de los niveles de PTT sobre las variables evaluadas como ganancia de peso, conversión de alimento, peso de órganos y nivel de glucosa sanguínea; pero si para la variable consumo de alimento. Por otro lado, Rivera et al. (2016), encontraron mejoras significativas con el uso de PPT sobre el peso final y ganancia de peso en pollos de carne alimentados de 1 a 42 días de edad, con reducción del nivel de aceite en el alimento. En ambos estudios se evaluó la adición de la PPT en el alimento con una matriz energética o aporte de energía estimado entre 80 a 120 mil Kcal de energía metabolizable por cada kg de PPT sobre el rendimiento productivo en pollos de carne a 21 y 42 días de edad. Sin embargo, a pesar de evaluarse el peso de órganos como intestino e hígado, no se analizaron los cambios histológicos en dichos órganos (Saez *et al.*, 2011).

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto de la PPT sobre el comportamiento productivo, histomorfometría intestinal e histopatología hepática en pollos de carne BB durante la primera semana de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y duración del estudio

El presente estudio se realizó en el Centro Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (FAVEZ – UPCH), ubicado en el distrito de Lurín. Tuvo una duración de ocho días y fue desarrollado entre el 25 de febrero y 4 de marzo del año 2020. El beneficio de los animales para la toma de muestras se realizó en el mismo centro experimental, así como el procesamiento histológico se realizó en el laboratorio de histopatología de FAVEZ – UPCH, mientras que la evaluación microscópica y microfotografía de las láminas se realizó en VetSupport – Laboratorio Veterinario.

Animales experimentales

Se emplearon 300 pollos BB machos Cobb 500 de un día de edad con un peso promedio de 46 g, provenientes de una misma planta de incubación y vacunados contra las enfermedades de Marek, Gumboro, Hepatitis a Cuerpo de Inclusión y Newcastle.

Alojamiento de las aves

Las aves fueron alojadas en baterías de experimentación de cinco pisos, constituidas con jaulas metálicas de malla galvanizada, equipadas con comederos tipo tolva y bebederos niple con copa instalados en el interior de cada corral. La temperatura se manejó por medio de campanas calefactoras, se midió por un termohigrómetro digital ambiental y se mantuvo entre los rangos de (32°C – 29°C) siendo la temperatura mayor a la recepción y se le fue bajando conforme a la edad biológica del animal. Así mismo, la ventilación se controló con el uso de cortinas, teniendo como base las recomendaciones de crianza de la línea genética Cobb 500 (Cobb, 2018).

Manejo de las aves

Al inicio del experimento, se contó con la información que el galpón cumplió con el descanso sanitario correspondiente, se realizó una limpieza y desinfección a base de detergente y desinfectantes (glutaraldehído + amoniocuaternario) de las baterías de crianza, comederos, niples y cortinas, luego se procedió al armado del galpón, una vez armado el galpón, se desinfectó por mochila de dispersión con VANODINE®, se dejó 2 días de descanso, para luego desinfectar con MAX25® 24 horas antes de la llegada de los pollos bebe. Se realizó un manejo de residuos de forma correcta.

Las aves recibieron el mismo manejo sanitario (programa de vacunación), de crianza (horario de alimentación y limpieza) y medioambiente (manejo de temperatura, ventilación e iluminación) durante los siete días que duró la crianza. Las aves fueron recepcionadas con una temperatura de 32 °C y un programa de luz de 23 horas el primer día como se detalla en el Cuadro 1.

Por otro lado, cabe mencionar que no se presentó ningún cuadro o signo que indique enfermedad durante el desarrollo de la crianza, tampoco se presentó mortandad alguna durante el estudio.

Cuadro 1: Temperatura, Humedad y Horas Luz

Días	Temperatura	Humedad	Horas Luz
Día 0	T _{min} = 31.5°C T _{max} = 33.8°C	H _{min} = 50% H _{max} = 60%	24 horas
Día 1	T _{min} = 29.9°C T _{max} = 33.2°C	H _{min} = 50% H _{max} = 70%	23 horas
Día 2	T _{min} = 30.3°C T _{max} = 33.7°C	H _{min} = 50% H _{max} = 60%	22 horas
Día 3	T _{min} = 30.8°C T _{max} = 33.4°C	H _{min} = 50% H _{max} = 60%	21 horas
Día 4	T _{min} = 29.8°C T _{max} = 32.1°C	H _{min} = 50% H _{max} = 60%	20 horas
Día 5	T _{min} = 30.1°C T _{max} = 33.4°C	H _{min} = 55% H _{max} = 60%	18 horas
Día 6	T _{min} = 30.3°C T _{max} = 33.9°C	H _{min} = 51% H _{max} = 60%	16 horas
Día 7	T _{min} = 29.4°C T _{max} = 33.6°C	H _{min} = 50% H _{max} = 60%	16 horas

Programa de alimentación

Las dietas experimentales fueron formuladas siguiendo las recomendaciones de la línea genética Cobb500 (Cobb, 2018) y se tomó como base el aporte de nutrientes de los insumos siguiendo las Tablas Brasileñas para Aves y Cerdos de Rostagno (2017). Se formuló una dieta control a base de aceite vegetal de uso humano (T1=Aceite Vegetal de soya) con un nivel de 2975 Kcal de energía metabolizable aparente (EMa), 22% de proteína cruda, 0.9% de calcio y 0.45% de fósforo disponible. Se repartió el alimento 2 veces al día (7am y 4pm). La cantidad a repartir fue con base a lo recomendado por la línea genética más un 10% de comida (Anexo 1 y 2).

El agua de bebida fue clorada al inicio (2 ppm de cloro libre) y se administró de forma *ad libitum*.

Cocarboxilasa o PPT

El producto que se empleó en el estudio fue GENERGY AV de CORPORATION AV PRODUCTS S.A.C., el cual es clasificado como un suplemento nutricional, también llamado Pirofosfato de Tiamina o Difosfato de Tiamina (PPT) el cual se produce naturalmente de la descarboxilación de la vitamina B1. La apariencia física del producto es polvo de color crema para la administración vía oral, el cual posee 67,2 g de PPT por cada Kg de producto (SENASA 2019).

Tratamientos experimentales

Se emplearon cinco dietas experimentales (tratamientos) con seis repeticiones cada una (Anexo 1 y 2). Cada repetición estuvo conformada por un grupo de 10 aves. La distribución de las aves en los tratamientos y repeticiones fue al azar.

Tratamientos:

- Tratamiento 1 (T1): Dieta control a base de aceite de soya de uso humano, con una densidad energética estimada de 2975 Kcal de EMa.
- Tratamiento 2 (T2): Dieta control con reemplazo del aceite de soya de uso humano por aceite acidulado de soya, con una densidad energética estimada de 2975 Kcal de EMa.
- Tratamiento 3 (T3): T1 menos 90 Kcal de EM + 0.1 % de Cocarboxilasa o PPT, con una densidad energética estimada de 2975 Kcal de EMa.
- Tratamiento 4 (T4): T2 menos 90 Kcal de EM + 0.1 % de Cocarboxilasa o PPT, con una densidad energética estimada de 2975 Kcal de EMa.
- Tratamiento 5 (T5): T1 menos 90 Kcal de EM sin adición de Cocarboxilasa o PPT, con una densidad energética estimada de 2885 Kcal de EMa.

Mediciones realizadas

Parámetros Productivos

Ganancia de peso total (GPT), g:

Se pesaron todas las aves que conformaron una unidad experimental (promedio) al inicio del estudio (Peso Inicial, PI) así como al octavo día (Peso Final, PF). La ganancia de peso total se determinó mediante la siguiente fórmula aritmética y fue expresada en gramos.

$$GPT (g) = PF - PI$$

Consumo de alimento diario (CAD) y total (CAT), g:

Para determinar el consumo de alimento diario se pesó el alimento suministrado y el alimento residual al siguiente día (7:00 am). El consumo de alimento total, será la suma total del alimento consumido por cada repetición en los ocho días que duró el experimento, expresada en gramos.

$$CAD (g) = \text{Alimento suministrado} - \text{Alimento residual al siguiente día}$$

$$CAT (g) = \text{Sumatoria del CAD en los ocho días que duró el estudio}$$

Índice de conversión de alimento (ICA):

Con los datos de ganancia de peso total y consumo de alimento total, se obtuvo el índice de conversión de alimento.

$$ICA = CAT / GPT$$

Toma de muestra

El beneficio de las aves se realizó al 9no día, a razón de tres aves por repetición seleccionadas al azar. Primero se buscó lograr la inconsciencia de las aves por medio de la aplicación de pentobarbital sódico vía intraperitoneal a dosis única de 130 mg/ave (tres veces la dosis como anestésico). Luego se empleó el método físico de dislocación cervical para lograr la eutanasia de las aves (AVMA 2020). Posterior a ello, se procedió a la apertura e ingreso a la cavidad abdominal para poder retirar el hígado e intestino de cada ave.

- **Histomorfometría intestinal:** Primero se ubicó el yeyuno en el punto medio entre el ápice del páncreas y el divertículo de Meckel. Posterior a ello, se procedió a retirar 5 cm de yeyuno, para luego introducir 3 ml de formol al 10% con la ayuda de una jeringa con la finalidad de lograr fijar la mucosa yeyunal.
- **Histopatología hepática:** Una vez retirado el hígado, se cortó 1 cm² de este órgano a nivel del lóbulo derecho, para luego ser colocado en un frasco con formol al 10%.

Histopatología

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de Histología y Patología de FAVEZ – UPCH de las cuales se tomaron 3 muestras de hígado e intestino para cada lámina de 6 repeticiones y 5 tratamientos; fueron procesados con cera de parafina para luego ser teñidas con la técnica convencional hematoxilina y eosina (H.E). Luego de su secado se usó un medio de montaje para cubreobjetos basado en parafina líquida con bálsamo de Canadá o Permount, Las láminas fueron leídas con un microscopio de campo claro marca Leica DM500® el cual tiene adaptado una cámara de microfotografía Leica ICC50W® de 2 megapíxeles de resolución, mediante las cuales se tomaron fotografías con el software LAS EZ versión 3.4.0.

1. Para el caso de las muestras de intestino (yeyuno) se realizaron 120 mediciones tanto para la altura como profundidad de cripta para cada tratamiento, las mediciones siguieron la metodología utilizada por Nassiri con una unidad de medida en (μm) (2012):
 - ✓ Altura de vellosidad: área comprendida desde la base hasta la zona apical de la vellosidad (μm).
 - ✓ Profundidad de cripta: el área correspondiente a las criptas de Lieberkühn en (μm) (comprende de la base de la vellosidad hasta la membrana basal antes de la capa muscularis mucosae).
 - ✓ Ratio altura de vellosidad/profundidad de cripta: Con los datos obtenidos de la altura de vellosidad y profundidad de cripta.
2. En el caso de las muestras hepáticas se realizó el Análisis Descriptivo de 18 láminas por cada tratamiento, estas fueron evaluadas bajo una tabla con 9 de las lesiones más comunes en el hígado de las aves (Anexo 3), en un campo claro con un objetivo panorámico de 4x, después se dividió en 8 partes para analizarlos en cuadrantes de 10x, para posteriormente evaluar cada cuadrante en un campo de 40x.

Análisis Estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con cinco tratamientos, seis repeticiones y 10 aves por repetición. Los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico STATA versión 15.0. Se analizó la normalidad y homogeneidad de las varianzas de las variables cuantitativas (Parámetros Productivos = ganancia de peso, consumo de alimento, conversión de alimento; Histomorfometría Intestinal = altura de vellosidad, profundidad de cripta y ratio altura de vellosidad/profundidad de cripta). Para los parámetros productivos luego de cumplir con los supuestos (Kolmogorov – Smirnov), se procedió a realizar el análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias entre medias por la prueba de Duncan; en la histomorfometría intestinal tanto como la histopatología hepática se usó la prueba de Kruskal-Wallis, considerando una diferencia estadística de un $p < 0.05$.

Consideraciones éticas

La investigación fue aprobada por el Comité Institucional de Ética (CIE) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH); considerando el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio y la confidencialidad de los datos, dejando la respectiva constancia con el código 201613 de inscripción.

RESULTADOS

Parámetros Productivos

Los resultados de Ganancia de Peso Total, Consumo de Alimento y Conversión Alimenticia en este estudio se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Parámetros Productivos en pollos a los siete días de edad alimentados con diferentes fuentes de Aceites y adición de Cocarboxilasa¹.

Tratamientos*	N	Peso Inicial (g/ave)	Peso Final (g/ave)	Ganancia de Peso Total (g)	Consumo de Alimento Total (g)	Conversión Alimenticia (g)
T1	60	46,38	203,98	157,60 ^b	1339,26 ^{ac}	0,65 ^b
T2	60	46,38	139,37	92,99 ^c	1220,45 ^a	0,87 ^a
T3	60	46,38	207,19	160,81 ^a	1261,20 ^{ab}	0,60 ^b
T4	60	46,38	204,61	158,23 ^b	1248,26 ^{ab}	0,61 ^b
T5	60	46,38	208,48	162,10 ^a	1382,11 ^c	0,66 ^b
Significancia		-		0,000	0,004	0,000

*T1= Dieta Control 1 (AS); T2 = Dieta Control 2 (AAS); T3 = T1 - 90Kcal + 0.1%PPT; T4 = T2 - 90Kcal + 0.1%PPT; T5 = T1 - 90Kcal.

¹ Valores las cuales son promedios de 6 repeticiones de 10 aves cada una (60 aves por tratamiento), n = 300.

^{a,b,c}Valores con letras iguales no difieren significativamente ($p < 0.05$).

^{ab,ac}Valores con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

La ganancia de peso en los tratamientos T3 y T5 fueron superiores ($P < 0.05$) a los otros tratamientos, siendo estos de 160.81 y 162.10 g, respectivamente. El tratamiento de más baja performance ($P < 0.05$) fue el T2 con 92.99 g. Con respecto al Consumo de Alimento Total, fueron mayores en los tratamientos T1 y T5 ($P < 0.05$) 1339. 26 y 1382.11 g/ave, respectivamente en comparación de los otros tratamientos. El Índice de Conversión De Alimento no mostró diferencias entre los tratamientos T1, T3, T4 y T5 (0.65; 0.60; 061 y 0.66, respectivamente,) siendo T2 el que obtuvo la peor conversión alimenticia: 0.87 ($P < 0.05$).

Histomorfometría Intestinal

Los resultados de 120 mediciones Histomorfometría Intestinal por tratamiento (Altura, Profundidad y Ratio en μm), se pueden observar en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Efecto de la suplementación de Cocarboxilasa (PPT) sobre la morfología intestinal del yeyuno en pollos de carne a los 7 días de edad¹

Tratamientos	N	Altura (μm)	Profundidad (μm)	Ratio
T1	120	978,02 ^a	155,85 ^a	6,25 ^a
T2	120	516,85 ^c	127,93 ^c	4,02 ^d
T3	120	707,21 ^b	158,17 ^a	4,45 ^c
T4	120	725,91 ^b	147,84 ^b	4,91 ^b
T5	120	733,23 ^b	147,10 ^b	5,01 ^b
Significancia		0,001	0,006	0,000

¹ Valores las cuales son promedios de 20 mediciones por repetición (1 Tratamiento con 6 Repeticiones), n = 600.

^{a,b,c}Valores con letras iguales no difieren significativamente ($p < 0.05$).

La medición de altura de vellosidades para el tratamiento T1 fue más largo (978,02 μm) mientras que el T2 fue más corto (516.85 μm) ($P < 0.05$). En profundidad, T1 y T3 fueron mayores ($P < 0.05$) 155.85 μm y 158,17 μm , respectivamente en comparación con los otros tratamientos. La ratio en el tratamiento T1 fue mayor ($P < 0.05$) 6.25 con respecto a los tratamientos.

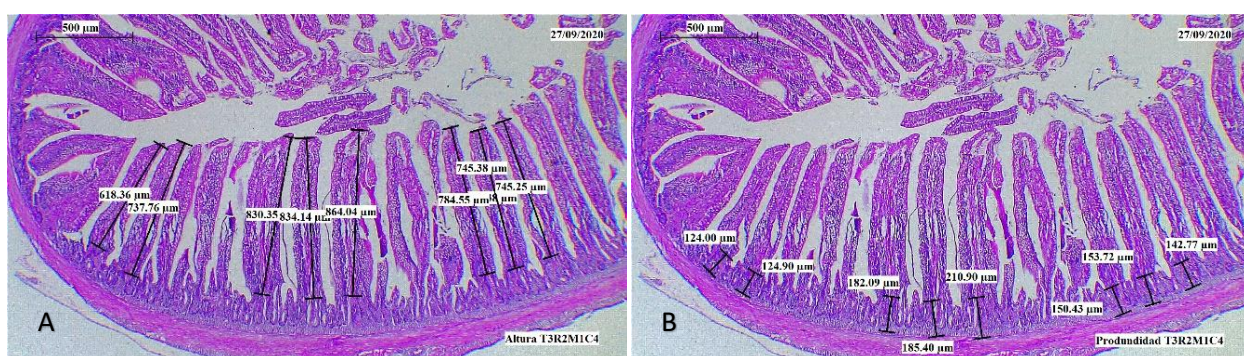


Figura 1: Microfotografías intestinales (μm). (A): Microfotografía de Altura de vellosidad (μm – 4x); (B): Microfotografía de Profundidad de cripta (μm – 4x)

Histopatología Hepática

Los resultados de los promedios de las calificaciones de las 18 muestras hepáticas por cada tratamiento se pueden observar en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Distribución del grado de lesión (promedio de rango de lesiones) en muestra de hígados en los diferentes grupos de estudio¹.

Tratamientos	N	Congestión Hepática Activa	Hiperplasia de células de Kupffer	Degeneración Grasa	Tumefacción Hepática	Hiperplasia de folículos linfoides
T1	18	43,67 ^b	58,92 ^a	55,89 ^b	58,03 ^b	48,00 ^a
T2	18	59,94 ^a	57,00 ^a	75,61 ^a	70,33 ^a	48,00 ^a
T3	18	40,06 ^c	28,25 ^c	26,33 ^c	21,00 ^c	40,50 ^a
T4	18	35,58 ^c	33,83 ^c	35,61 ^c	22,83 ^c	45,50 ^a
T5	18	48,25 ^b	45,50 ^b	34,06 ^c	55,31 ^b	45,50 ^a
Significancia		0,015	0,000	0,000	0,000	0,753

¹ Valores las cuales son promedios de 18 análisis descriptivos para cada repetición (1 Tratamiento con 6 Repeticiones), n = 90.

^{a,b,c} Letras diferentes indican que los grados de lesión entre los tratamientos son diferentes (a mayor rango promedio mayor grado de lesión) ($p < 0.05$).

Se encontraron diferentes tipos de lesiones siendo el T2 el más afectado con los rangos más altos para cada lesión en específico ($P < 0.05$), mientras que el T3 y T4 son los menos afectados ($P < 0.05$). En el caso de la hiperplasia de folículos linfoides, la cantidad de lesiones que fueron observables son iguales para cada tratamiento, la cual no posee relevancia alguna ($P > 0.05$).

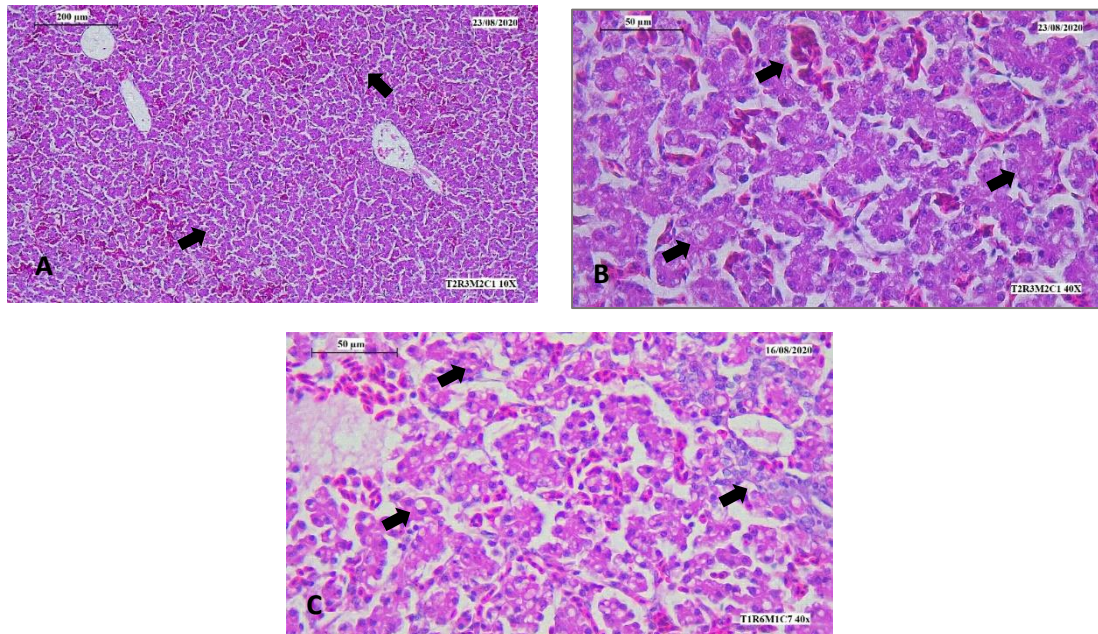


Figura 2: Microfotografías Hepáticas con tinción H.E. (A): Flechas indican zonas de Congestión Hepática Activa; (B): Flechas indican CHA, Degeneración Grasa (DG) y Tumefacción Hepática (TH); (C): Flechas indican macro y microvacuolas grasas de DG e Hiperplasia de células de Kupffer (HCK).

DISCUSIÓN

En este estudio se utilizó Pirofosfato de Tiamina (PPT) como reemplazo parcial para el Aceite Vegetal de Soya (AV) y Aceite Acidulado de Soya (AA).

Parámetros Productivos:

Los pesos finales en los tratamientos T3 y T5 son significativamente superiores a los demás tratamientos del estudio, T1 fue el control de los tratamientos T3 (AV – 90Kcal + 10ppm PPT) y T5 (AV – 90Kcal), en T5 los pollos compensaron la falta de energía con un aumento del consumo del alimento para poder llegar al peso estimado, lo cual influyó en su conversión alimenticia final, estos resultados coinciden con los de Rivera de la Torre (2016) concluyendo que el reemplazo parcial de PPT por aceite de soya durante 42 días, resultó en un bajo consumo de alimento y una mejor conversión alimenticia, siendo una potencial fuente de reemplazo de energía.. Del mismo modo, el Peso Final, Consumo de Alimento Total y Conversión Alimenticia fue superior en T3 (AV + PPT) a comparación de T1 (AV).

Por otro lado, es necesario señalar que los niveles de reducción en la ganancia de peso y conversión alimenticia para el T2 se pueden explicar debido a que el uso de AA es de baja calidad por tener un alto contenido de peróxidos que causan una mala digestibilidad y mala absorción de nutrientes (Baião 2005). La adición de PPT influyó positivamente sobre la ganancia de peso, consumo de alimento total y conversión alimenticia en T4 (AA + PPT) que en T2 (AA), siendo el T4 superior en los parámetros evaluados. Esto es debido a que la PPT funciona a nivel de los complejos PDH y α -KGDH, por lo cual a pesar que se usó un aceite de baja calidad con una gran cantidad de peróxidos, este fue mejor absorbido y metabolizado en T4 que T2 (Olkowski, 1998). Se presume que T3 (AV + PPT) fue superior a T4 (AA+ PPT), por el efecto que posee el tipo de aceite utilizado para estos tratamientos sobre de la adición de PPT.

Histomorfometría Intestinal:

El intestino delgado utiliza una gran cantidad de energía para llevar a cabo la absorción, el transporte de nutrientes y el mantenimiento de las vellosidades, y al mismo tiempo necesitan un gran suministro de oxígeno del cuerpo. Zehava *et al.* (1998), reporta que el tamaño normal de las vellosidades se obtiene entre el día 7 al día 9. La presencia del saco vitelino y sus ácidos grasos, no influyen al crecimiento de las vellosidades, ya que el crecimiento de estas se ve reflejado por la pronta ingesta de comida después del encasamiento, por esta razón la calidad de los aceites añadidos en dieta es esencial para el desarrollo de las vellosidades intestinales, concluyendo que el retraso en su desarrollo resulta en un pobre crecimiento corporal de los pollos.

Baião (2005) y Lindblom (2017), concluyen que a mejor calidad de aceite aplicado en el alimento influirá directamente en el crecimiento de las vellosidades intestinales, siendo el porcentaje de Ácido Graso Linoleico que posean los aceites suministrados en dieta el cual permita que crezcan las vellosidades en óptimas condiciones, en este estudio la calidad del aceite suministrado fue mejor en T1 (AV) que en T2 (AA), por esta razón la altura de vellosidad fue mayor en T1 (978,02µm) que en T2 (516,85µm), en comparación a los demás tratamientos.

Con respecto a la profundidad de la cripta en los tratamientos T3 (158,17µm) y T1 (155,17µm) se logro una buena profundidad de cripta con respecto a los demás tratamientos, por lo cual se presume que aumentará la altura de vellosidad y la capacidad de absorción intestinal, sin embargo en T2 la profundidad de cripta fue la menor (127,93µm), causando problemas de digestibilidad y retraso en el crecimiento de vellosidades, estos resultados concuerdan con los de Nassiri (2012) quien explica que la medición de la profundidad es sumamente importante ya que comprende el área donde las células madre se dividen para permitir la renovación de las células epiteliales enterocíticas y caliciformes de las vellosidades, la cual es considerada como la fábrica de las mismas, una gran profundidad indica una rápida renovación e intercambio de tejidos y por ende una mayor demanda de tejido nuevo.

El ratio nos sirve para evaluar que tan proporcional es la altura con respecto a su profundidad (Nassiri, 2012), siendo T1 el que obtuvo mayor ratio (6,25), esto debido al uso de aceite de soya rico en ácidos grasos esenciales y de buena calidad que ayudan a la proliferación celular, mientras que T2 obtuvo el menor ratio (4,02), esto concuerda con lo mencionado por Baião (2005) quien expreso que el uso de aceite acidulado de soya afecta directamente proporcional tanto a la altura como profundidad de cripta por la acumulación de toxinas como peróxidos y radicales libres causando un síndrome de mala absorción y digestión.

Los datos que se obtuvieron del efecto de la PPT sobre la morfología intestinal en este estudio, las alturas de vellosidades (516,85 µm – 978,02 µm) y profundidades de criptas (127,93 µm – 155,85µm) fueron mejores con respecto al experimento realizado por Nassiri (2012), quien obtuvo resultados de 407,17 µm y 115,58 µm sobre la altura de vellosidad y profundidad de cripta respectivamente.

Histopatología Hepática:

Dentro de los hallazgos histopatológicos tenemos que demostrar el tipo de lesión según el agente causal si este es reversible o irreversible, la Tumefacción Hepática (TH) es un indicativo de punto de inflexión en el cual depende la cantidad de hepatocitos afectados o si existen signos de necrosis para poder clasificarlo (Murray R, 2013; Robbins y Cotran 2010), siendo el T2 (AA) el más afectado ya que este aceite posee muchos peróxidos que son capaces de aumentar el estrés oxidativo hepático por ende un aumento de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), por lo tanto

obtuvo mayor lesión de Degeneración Grasa (DG) y TH, este tratamiento posee tanto macro como microvacuolas grasas difusas y TH multifocal en los campos observables; mientras que T1 poseía macro y microvacuolas grasas multifocales y TH focalizado, aunque se usó aceite de buena calidad este supero la capacidad de metabolización hepática, en los demás tratamientos (T3,T4 y T5) se redujo la cantidad de aceite, disminuyendo por si la cantidad de DG y TH observables en los campos, estos resultados tienen similitud con lo demostrado por Valenzuela (2011) en el cual explica la interrelación de la sobrenutrición y la aparición de estrés oxidativo en el hígado debido a una mayor disponibilidad y oxidación de ácidos grasos saturados con la consiguiente producción de ROS y agotamiento de los antioxidantes que conducen a la DG y TH.

En los tratamientos T3 y T4 a diferencia de T5 en los que se observaron microvacuolas focalizadas y hepatocitos sin lesión por TH, se sugiere que la adición de PPT en la dieta, que no solo cubre el requerimiento energético, también ayuda a la reducción de la producción de ROS y metabolización de los ácidos grasos; ya que la PPT no necesita que pase por diversos procesos para que cumpla su función metabólica (Olkowski, 1998; Lonsdale D, 2006).

Un hallazgo importante y clave fue la existencia de una Congestión Hepática Activa (CHA) en todos los tratamientos. La peculiaridad de la CHA es que no se observó congestión en la región centrolobulillar, sin embargo, había zonas con congestión focal, multifocal y difusas. La CHA se caracteriza por una congestión activa de los lechos vasculares con una salida de sangre normal o disminuida, ocurre debido a un mayor requerimiento de la actividad metabólica en el tejido el cual tiene concentraciones aumentadas localizadas de CO₂, ácido y otros metabolitos, provocando un estímulo local de vasodilatación y aumento del flujo, logrando el aumento de O₂ arteriolar para suplir las carencias que puede tener el hígado por la DG y TH (Robbins y Cotran 2010). Los tratamientos que tenían una considerable cantidad de DG y TH (T1, T2, T5) se observaban zonas focales y multifocales de CHA, siendo el T2 el que se vio más afectado lográndose ver zonas difusas de congestión. (Zachary J. y McGavin D. 2012)

Por otro lado, la Hiperplasia de células de Kupffer (HcK) nos indica el mecanismo de defensa que posee el hígado para poder recuperarse y salir del Proceso Degenerativo, los tratamientos que tenían mayor DG, TH y CHA (T1, T2, T5) fueron los que tenían mayor presencia de HcK a diferencia de los tratamientos T3 y T4 que poseen la adición de PPT en los que se observaron microvacuolas focalizadas de DG y hepatocitos sin lesión por TH, la aparición de HcK eran focales o no existentes, lo cual nos indica que no existe un proceso degenerativo en estos tratamientos; esto guarda relación con lo que expresó Valenzuela (2011) en el que explica que la infiltración de células de Kupffer es debido a la reparación causada por la liberación de interleucinas proinflamatorias de la disfunción mitocondrial existente.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales y los resultados obtenidos durante el desarrollo del presente trabajo de investigación, se establecen las siguientes conclusiones:

1. El reemplazo parcial de aceites comerciales por la inclusión de PPT (Cocarboxilasa) a razón de 10 ppm en dietas de pollos de pre-inicio, mejoró la Ganancia de Peso, con respecto al Consumo de Alimento fue más eficiente su uso para formar musculo y esto se vio reflejado en la Conversión Alimenticia con respecto a sus controles.
2. El uso de PPT no tiene influencia sobre la morfología e integridad de las vellosidades intestinales, sin embargo, redujo cualquier tipo de proceso degenerativo a nivel hepático causado por el uso de aceites comerciales.

LITERATURA CITADA

- American Veterinary Medical Association. 2020. Guidelines for the eutanasia of animals. AVMA, pp. 79 – 81.
- Baião, N., Lara, L. 2005. Oil and Fat in Broiler Nutrition. *Brazilian Journal Of Poultry Science*. 7(3):129-141.
- Bayraktar, H., Altan, O., Tanriverdi S., Kırkpınar F. and Altun Z., 2011. The effects of moderately oxidized dietary oil with or without vitamin E supplementation on performance, nutrient digestibility, some blood traits, lipid peroxidation and antioxidant defence of male broilers. *Society of Chemical Industry*. Izmir – Turkey.
- Bottje, W., Pumford, N. and Ojano-Dirain, C., 2006. Feed Efficiency and Mitochondrial Function. *Poultry Science Association* 85:8-14.
- Church, D., Pond, W., Pond, K. 2013. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Segunda edición. EEUU. Traducido al español por Editorial LIMUSA. España.
- Cobb-Vantress, Inc. 2018. COBB Guía de manejo de pollo de engorde. *Cobb-Vantress*. EEUU.
- Cobb-Vantress, Inc. 2018. COBB 500 Suplemento informativo sobre rendimiento y nutrición en pollos de engorde. *Cobb-Vantress*. EEUU.
- Hohmann S., Meacock P. 1998. Review Thiamin metabolism and thiamin diphosphate-dependent enzymes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: genetic regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1385:201-219.
- Iqbal M., Pumford R., Tang X., Lassiter K., 2005. Compromised Liver Mitochondrial Function and Complex Activity in Low Feed Efficient Broilers Are Associated with Higher Oxidative Stress and Differential Protein Expression. *Poultry Science Association*. 84:933–941.
- Lehninger, A., Nelson, D., and Cox, M. 2014. Principios de bioquímica. 6ta ed. *Worth Publishers*, New York - EEUU.

- Leeson, S., Summers, J. 2008. Commercial Poultry Nutrition. Third Edition. *Department of animal and Poultry Science*. University of Guelph. Canada. University Books.
- Lindblom, S., Dozier, W., Shurson G., Keress, B. 2017. Digestibility of energy and lipids and oxidative stress in nursery pigs fed commercially available lipids. *American Society of Animal Science*. 95:239-247.
- Lonsdale, D. 2006. A review of the biochemistry, metabolism and clinical benefits of thiamine and its derivatives. *Oxford University Press* 3(1): 49-59.
- Nasrin, M., Siddiqi, M., Massum M. 2012. Gross and histological studies of digestive tract of broilers during postnatal growth and development. *Bangladesh Agricultural University*. 10(1) 69-77.
- Nassiri, H., Salari S. Arshami, J., Golian, A., Maleki, M. 2012. Evaluation of the nutritional value of sunflower meal and its effects on performance, digestive enzyme activity, organ weight, and histological alterations of the intestinal villi of broilers chickens. *Poultry Science Association – Irán*. 21:293-304.
- McDonald, P., Edwards, R. 2013. Nutrición Animal. Séptima edición. EEUU. *Traducido al español por Editorial ACRIBIA*. España.
- Ministerio de Agricultura y Riego. 2019. Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícolas. *Sistema integrado de estadística agraria*, pp. 1-23.
- Ministerio de Agricultura y Riego. 2019. Sistema de información de abastecimiento y precios (SISAP V.2.0). Lima, Perú.
- Murray R., Bender D., Botham K., Kennelly P., Rodwell V., Weil P. 2013. Bioquímica de Harper Ilustrada. 29ª Edición. México.
- Olkowski, A., Classen, H. 1998. The effects of Maternal Thiamine Nutrition on Thiamine Status of the Offspring in Broilers Chickens. *Departments of Animal and Poultry Science – University of Saskatchewan*. Canada. 69 (1): 32-40.

- Penz, M. 2018. Nutrición del pollo durante la primera y última semana. *Avinews avicultura*, pp. 73-85.
- Rivera de la Torre, H., Lázaro de la Torre, C., Vílchez Perales, C. 2016. Parámetros productivos y sanguíneos en pollos de carne suplementados con cocarboxilasa. *Revista brasileira de medicina veterinaria*, 3-4, pp. 200-205.
- Robbins y Cotran. 2010. Patología estructural y funcional. 8va Edición. Barcelona – España.
- Rodríguez de la Cruz, K. 2018. Las principales determinantes del sector avícola y su relación con la producción de carne de pollo. (Trabajo de investigación de Bachiller). *Universidad San Ignacio de Loyola*, Lima, Perú.
- Rostagno, S. 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos, Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. 4ta edición. *Universidad Federal de Viçosa*. Brasil.
- Saez, A. 2011. Efecto de la inclusión de cocarboxilasa en dietas de inicio de pollos de carne. (Trabajo de investigación de Bachiller). *Universidad Nacional Agraria La Molina*, Lima, Perú.
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú 2019. Certificado de registro a la empresa CORPORATION AV PRODUCTS S.A.C., para el uso de GENERGY AV. *Dirección de Insumos Agropecuarios e Inocuidad Agroalimentaria. Sub-Dirección de Insumos Pecuarios*. Reg. SENASA A.36.01.N.0366.
- Tallentire, C., Leinonen, I., Kyriazakis, I. 2016. Breeding for efficiency in the broiler chicken: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 66, pp. 1-16.
- Tancharoenrat, Piyamas, Zaefarian, Faegheh, Ravindram, Velmurugu y Ravindram, Gane. 2014. Digestion of fat and fatty acids along the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Poultry Science*, 93(2), pp. 371-379.
- Valenzuela R., Videla L. 2011. The importance of the long-chain polyunsaturate fatty acid n-6/n-3 ratio in development of non-alcoholic fatty liver associated with obesity. *The Royal Society of Chemistry. Food Function*, pp 644-648.

Villa, A. 2010. La primera semana de vida del pollo. *Selecciones Avícolas*, pp. 7-12.

Zachary J. y McGavin D. 2012. Patologic Basis of Veterinary Disease. Fifth Edition. *El Sevier*.
Missouri - EEUU.

Zehava, U., Sahar, G., David, S. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science* – Israel. 77:75-82.

ANEXO

Anexo 1. Composición de las dietas experimentales en porcentaje (%).

INSUMO	TRATAMIENTO				
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Maíz nacional molido 7% PC	50.25	50.25	52.185	52.185	52.39
Torta de soya 46% PC	32.79	32.79	32.505	32.505	32.475
Soya integral 35% PC	10	10	10	10	10
Aceite Vegetal de uso humano	2.34	0	0.585	0	0.515
Aceite Acidulado de soya	0	2.34	0	0.585	0
Montafos 21%	1.57	1.57	1.565	1.565	1.565
Carbonato de calcio 38%	1.38	1.38	1.38	1.38	1.385
DL- Metionina 99%	0.315	0.315	0.315	0.315	0.315
Sal	0.255	0.255	0.25	0.25	0.25
Bicarbonato de sodio	0.225	0.225	0.23	0.23	0.23
Secuestrante micotoxinas	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cloruro de Colina 60%	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
HCl – Lisina 78%	0.105	0.105	0.11	0.11	0.11
Fungiban (Fungicida)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Premezcla pre inicio pollo	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Cocarboxilasa	0	0	0.1	0.1	0
L-Treonina 98%	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Maxiban (Coccidiostato)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
BMD 11% (Zoetis)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
TOTAL	100	100	100	100	100

Anexo 2. Valor nutricional calculado de los tratamientos

VALOR NUTRICIONAL	TRATAMIENTO				
	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Energía Metabolizable (Kcal/Kg)	2975	2975	2895	2895	2885
Proteína Cruda %	22	22	22	22	22
Lisina digestible	1.22	1.22	1.22	1.22	1.22
Metionina digestible	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
Met + Cys digestible	0.91	0.91	0.91	0.91	0.91
Treonina	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
Calcio %	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
Fósforo %	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45

Anexo 3. Análisis descriptivo de lesiones hepáticas.

Se calificó Sin lesión con 0, Focal con 1, Multifocal con 2, Difusa con 3.

1. Congestión hepática

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

2. Hiperplasia de células de Kupffer

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

3. Hinchazón de hepatocitos por degeneración grasa

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

4. Hinchazón de hepatocitos por tumefacción turbia

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

5. Hiperplasia de folículos linfoides hepáticos

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

6. Hiperplasia de conductos biliares hepáticos

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal

7. Necrosis hepática

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa

8. Fibroplasia hepática

- a. Sin lesión
- b. Focal

- c. Multifocal
- d. Difusa

9. Apoptosis

- a. Sin lesión
- b. Focal
- c. Multifocal
- d. Difusa