

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE LAS
VELLOSIDADES INTESTINALES Y LA CANTIDAD DE
Clostridium perfringens EN POLLOS DE ENGORDA DE 6
SEMANAS DE EDAD APARENTEMENTE SANOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

GUILLERMO GARCÍA HERNÁNDEZ

Asesores:

Dra. Odette Urquiza Bravo

Dr. Néstor Ledesma Martínez

México, D.F.

2012

DEDICATORIA

A mis padres:

Guillermo García López y Santa Hernández Morales

Quienes me dieron la vida, su cariño y amor.

A mi hermano:

Octavio García Hernández

Quien siempre me ha cuidado como su pequeño hermanito.

A mi esposa:

Anita

Una vida no sería suficiente para agradecerte el amor que me has dado.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por permitirme pertenecer a esta gran institución.

A todos los profesores que durante la carrera compartieron sus conocimientos y su pasión por la investigación.

A mis asesores: La Dra. Odette Urquiza Bravo por haberme dado la oportunidad de trabajar y aprender a su lado, por su confianza, pero sobre todo por su amistad.

Al Dr. Néstor Ledesma por su confianza durante todos estos años, su apoyo en los momentos más difíciles en la elaboración de la tesis, sus consejos, pero sobre todo, por su paciencia y amistad.

A los miembros del jurado, Dr. Roberto Cervantes Olivares, Dr. Raúl Ocadiz Tapia, Dra. Cecilia Rosario Cortés y al Dr. Rubén Merino Guzmán por su compromiso y sus aportaciones a este trabajo.

Al Dr. Félix D. Sánchez Godoy por su apoyo en el estudio histopatológico.

A los Doctores Ernesto Ávila, Ezequiel Sánchez y Benjamín Fuentes por las facilidades otorgadas para trabajar en el CEIEPAV.

A mis amigos Israel, Mary y Jaz Samperio por animarme a continuar.

A la Dra. Ma. de Jesús Tron Fierro y la Lic. Ma. Ángela Cárdenas López por su apoyo al inicio de la carrera.

A la Dra. Rosa Ma. Páramo por su apoyo durante los primeros años de la licenciatura.

A la Mvz. Juana de Dios, al Dr. Sergio Ángeles Campos y la Dra. Hilda Aurora por su confianza.

A los técnicos José González y Alfredo Díaz por su valioso apoyo en los estudios serológico e histopatológico.

A Salvador por su ayuda durante el estudio bacteriológico.

Finalmente a todas las aves que involuntariamente dieron su vida para este experimento

Since our problems have been our own creation
they also can be overcome
when we use the power provided free to everyone
This is love.

George Harrison

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES.....	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25
CUADROS.....	28
FIGURAS.....	31

RESUMEN

GARCÍA HERNÁNDEZ GUILLERMO Determinación de la longitud de las vellosidades intestinales y la cantidad de *Clostridium perfringens* en pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos. (Bajo la dirección de Dra. Odette Urquiza Bravo, Dr. Néstor Ledesma Martínez).

Debido a que no existen estudios que establezcan la relación entre la longitud de las vellosidades intestinales y la cantidad de *Clostridium perfringens*, agente causal de la enteritis necrótica en pollos de engorda, el objetivo del presente estudio fue determinar por medio de estudios bacteriológicos la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de *C. perfringens* y medir la longitud de las vellosidades intestinales en el yeyuno e íleon de pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos, para determinar por medio de la prueba de coeficiente de correlación simple de Pearson si existe relación entre ambas variables. Se utilizaron 40 pollos de engorda Cobb 500 de 6 semanas de edad, divididos en dos grupos de 20 pollos cada uno, el grupo 1 fue sacrificado y procesado en granja y el grupo 2 en el laboratorio. Los resultados obtenidos fueron para el grupo 1 de 0 UFC/g de intestino y para el grupo 2 el promedio fue de 215 UFC/g de intestino. En los resultados del estudio histopatológico, la longitud promedio de las vellosidades del yeyuno e íleon en el grupo 1 fueron 1284.4 μm y 1299.3 μm , respectivamente, mientras que en el grupo 2 la longitud fue de 1478.4 μm y 1384.2 μm en el yeyuno e íleon, respectivamente. De acuerdo con los resultados antes expuestos, no existe relación entre la longitud de las vellosidades intestinales y la cantidad de

(2)

C. perfringens en intestino de pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enteritis necrótica

La enteritis necrótica (EN) es una enfermedad enterotoxémica^{1,2} que afecta principalmente al pollo de engorda,^{3,4} es causada por la infección con *Clostridium perfringens* tipo A y C.⁵ *C. perfringens* afecta a las vellosidades intestinales lo que conlleva a una mala absorción de nutrientes y en consecuencia una mala nutrición de las aves.

La EN en aves domésticas fue descrita por primera vez en Inglaterra por Parish en 1961, quien reprodujo la enfermedad con una cepa de *Clostridium welchii* (*Clostridium perfringens*). Después se presentaron informes en casi todo el mundo.^{2,3} En los Estados Unidos de América (EUA) y la Unión Europea (UE) se ha descrito el aumento en la mortalidad de pollos de engorda debido a la EN.⁶

Clostridium perfringens es un bacilo Gram positivo, formador de esporas subterminales ovaladas, anaerobio (aerofacultativo)^{3,5,6} que mide de 0.2 a 4 μm de ancho por 20 μm de largo, es un organismo mucolítico,⁷ tiene cápsula y es inmóvil.⁵ *C. perfringens* produce toxinas que son responsables de las lesiones y los signos presentados por las aves. Los miembros de la especie *Clostridium perfringens* se pueden clasificar en cinco tipos (A, B, C, D y E) con base en la producción de cuatro toxinas principales alfa (α), beta (β), épsilon (ϵ) y iota (ι)^{5,8} (Cuadro 1) responsables de las lesiones y los signos presentados por las aves. Los tipos involucrados en la EN principalmente son el A y C.^{3,4} La toxina α producida por *C. perfringens* A y C y la toxina β producida por *C. perfringens* C son las responsables de producir la necrosis de la mucosa intestinal.³

(4)

La temperatura de 37°C,^{1,9-11} un pH de 5 a 8 y una actividad de agua del substrato de 0.93 a 0.97⁵ son óptimos para el crecimiento de *C. perfringens*. Puede sobrevivir en condiciones extremas y por varios meses en el suelo¹² gracias a que sus esporas son altamente resistentes al calor, la desecación, los ácidos y muchos desinfectantes químicos.⁵

Forma parte de la microbiota natural en los sacos ciegos y en menor cantidad en el intestino delgado de aves sanas.^{1,4,6,7,12-17} Es saprófito que se encuentra en suelo,^{3,7,13,16} por lo que también se puede aislar a partir de la cama de las casetas, incubadoras, heces, polvo, alimento^{3,6,7,18,19} y agua contaminada.¹⁸

En cultivo las colonias son lisas, redondas, brillantes, rodeadas por una zona interna de hemólisis completa causada por la toxina theta (hemólisis β) y una zona exterior de hemólisis incompleta causada por la toxina alfa (hemólisis α).⁵

Los pollos de engorda de 4 a 8 semanas de edad o mayores son más susceptibles,^{3,4,13,20} aunque la EN también se ha descrito en pavos, patos y aves silvestres.^{3,20} La mortalidad y la morbilidad puede llegar hasta 10% en parvadas sin tratamiento.^{13,20}

La vía de transmisión es horizontal, debido a que *C. perfringens* puede estar en la caseta, suelo, insectos, aves silvestres, roedores y alimento contaminado. Respecto al alimento, fue hasta finales de los años 1990 que cobró importancia como vector para la transmisión de *C. perfringens*.²¹

Los clostridia, al ser parte de la biota intestinal^{1,7,12,13,16,19} son relativamente inocuos^{14,19} a menos que existan factores predisponentes como la coccidiosis,^{2,4,6,9,13,18,19,22} la impactación parcial del intestino por ingestión de

cama, grano o ambos, la falta de suministro de piedras insolubles (grid), cambios en la dieta,^{9,13} por restricción alimenticia prolongada⁹ y el tamaño de la partícula del alimento menor a 4 mm, que pueden favorecer el crecimiento de *C. perfringens* ya que no hay una apropiada maceración del alimento en la molleja y se aumenta la cantidad de proteína no digerida en intestino grueso.³

Otros factores que aumentan la cantidad de *C. perfringens* intestinal son la formulación alimenticia basada en cereales con alto contenido de polisacáridos no amiláceos solubles como el trigo, centeno o cebada,^{1,3,9} así como la formulación de las dietas con alto contenido de harina de pescado, que era común en el pasado.^{4,6} Las dietas con proteína y altos niveles de energía^{2,3,13} o proteínas de baja digestibilidad favorecen el crecimiento de *C. perfringens* porque la bacteria dispone de mayor substrato utilizable en la parte terminal del tracto digestivo, así como por poseer aminoácidos específicos para su metabolismo o por incrementar el consumo de agua necesaria para catabolizar el exceso de proteína no digerida de la dieta.¹

El uso de monensina reduce la población de *Lactobacillus* spp e incrementa la población de *Clostridium* en el íleon.¹ Los agentes inmunodepresores como las micotoxinas^{1,3} y periodos largos de retiro del coccidiostato, pueden incidir en la aparición de daños causados por *Eimeria máxima* y *Eimeria acervulina*,^{1,5} que ocasionan la salida de nutrientes al lumen intestinal y favorecen el crecimiento de *C. perfringens*.⁵

En una revisión de la literatura se encontró que el tipo de grasa de la dieta también puede influir indirectamente en la microbiota, ya sea a través de modificaciones de la viscosidad del alimento, de la velocidad de tránsito o de la digestión en el intestino delgado.¹ Se ha observado incremento de

C. perfringens en animales alimentados con 10 % de una mezcla de sebo y manteca en comparación con 10 % de aceite de soya, a partir de los 14 días de vida.²³ Los factores anteriores provocan alteración de la homeostasis del ambiente intestinal (disbiosis intestinal) lo que favorece el incremento de la población de *Clostridium perfringens* y por lo tanto, la producción de sus toxinas.^{5,19}

Las plagas como el escarabajo *Alphitobius diaperinus* pueden ser un vehículo transmisor de *Clostridium perfringens* y propiciar que se desarrolle la enfermedad.^{24,25}

1.2 Patogénesis

Aunque todos los tipos de *C. perfringens* poseen los genes codificadores para la toxina α , existen grandes variaciones en la cantidad producida e incluso cepas que no la producen.

La mayoría de las toxinas de *C. perfringens* actúan sobre la membrana de las células de las vellosidades intestinales. La toxina α posee propiedades de fosfolipasa C, causa hidrólisis de los fosfolípidos presentes en la membrana, provoca lisis^{1,5,26} además, es hemolítica y dermonecrótica y es considerada la más letal de las toxinas producidas por *C. perfringens*.⁵

Por otro lado, la toxina β forma poros en las membranas de células sensibles¹⁵ y provoca necrosis hemorrágica de la mucosa además, se han observado signos nerviosos en animales domésticos.¹ Lo anterior es importante debido a que la sitio blanco de las toxinas α y β es la capa epitelial de la mucosa de las vellosidades intestinales. Cuando hay lisis de las vellosidades intestinales se verán afectados los procesos fisiológicos de absorción de nutrientes.⁵

C. perfringens produce también diversas enzimas hidrolíticas que actúan como factores de virulencia adicionales que favorecen la degradación de sustratos extracelulares y lisan células, lo que proporciona la salida al lumen intestinal de nutrientes para su crecimiento,²⁶ además, *C. perfringens* accede a la circulación portal y a los conductos biliares, lo que resulta en colangiohepatitis.⁶

La EN tiene 2 presentaciones, la subclínica, en la que las aves mueren sin haber mostrado ningún signo y la presentación clínica, en la cual las aves se reúnen en grupos, muestran el plumaje erizado, deshidratación,^{5,6} depresión, se encuentran en decúbito esternal,⁴ con pérdida de peso¹ disminución en la velocidad de crecimiento, aumento de la conversión alimenticia^{3,9,13} y anorexia^{3,6,13,17,18} lo que provoca la muerte.¹ En algunos brotes se puede observar diarrea,^{1,4,6,22} fiebre, heces oscuras, ocasionalmente con sangre.¹ El tiempo de incubación varía entre 7 y 10 días.¹³

En la mayoría de los casos las lesiones intestinales son la única lesión evidente,^{3,13} aunque se ha informado hepatomegalia.^{6,19}

Las lesiones macroscópicas en intestino se observan en la mucosa la cual presenta necrosis coagulativa,³ que da una apariencia aterciopelada conocida como toalla turca²⁰ y puede estar completamente reemplazada por membranas diftéricas o pseudomembranas^{4,18} de color gris-café o amarillo-verde¹⁸ y restos celulares,⁷ también puede observarse la presencia de coágulos de sangre y hemorragias, aunque estas últimas no son un hallazgo frecuente.^{1,6,13} El intestino puede encontrarse friable y distendido con gas.^{1,2,4,6,13,18} Las lesiones intestinales pueden estar confinadas al yeyuno e íleon, pero también se pueden encontrar en el duodeno^{2,4,7} y el ciego.³

En el hígado, se presentan focos necróticos de 2 a 3 mm en la superficie,¹ con aumento de tamaño y palidez.¹ La superficie es suave al tacto y con bordes redondeados. El parénquima subcapsular se encuentra firme,³ la vesícula biliar aumentada de tamaño, delgada y con contenido claro y viscoso³ incluso puede romperse y causar peritonitis.¹³ Las canales o hígados afectados por EN son retirados de la línea en la planta procesadora.

Las lesiones microscópicas en el intestino se inician en el ápice de la vellosidad intestinal y se caracterizan por pérdida del epitelio, edema, necrosis coagulativa y colonización bacteriana de la lamina propia expuesta, infiltrado heterofílico y de células mononucleares, progresión de las lesiones hacia las criptas, capa submucosa y muscular del intestino.^{2,6} La mucosa intestinal presenta abundante fibrina mezclada con restos celulares adheridos a la mucosa necrótica^{1,3} dentro de este material se pueden observar bacterias Gram positivas.^{4,6,7}

En el hígado puede observarse 2 tipos de lesiones: 1) inflamación del árbol biliar, que causa colangiohepatitis (es la más común) y, 2) hepatitis multifocal, caracterizada histológicamente por necrosis fibrinoide con o sin respuesta inflamatoria.²⁷

1.3 Importancia económica

Hasta finales de los años noventa del siglo pasado, la EN se tenía controlada en la Unión Europea con el uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC)¹ como bacitracina, virginiamicina, avoparcina, lincomicina y tilosina en el alimento, pero su uso quedó totalmente prohibido desde enero del año 2006, lo que ha provocado una mayor frecuencia de casos de EN.^{1,6-9,14,18,19,28} Por otro lado y a pesar de que en Estados Unidos de América y

Latinoamérica todavía se permiten los APC, la incidencia de EN ha aumentado en los últimos cinco años, aunque la causa de este aumento no ha sido determinada.²¹ En la actualidad, se estima que del 35% al 40% de los pollos de engorda en EUA y la UE padecen de infecciones por *Clostridium perfringens*.²⁰

La EN ocasiona pérdidas anuales a la industria avícola mundial por 2 billones de dólares,⁶ debido a que incrementa el porcentaje de decomiso de las canales por el menor tamaño corporal, las lesiones hepáticas (hasta 12%) e intestinales (hasta 4%).³ Estas últimas afectan de forma significativa el desempeño productivo de los pollos de engorda, debido a que al perder la integridad de las vellosidades intestinales disminuye la absorción de nutrientes y se pierde la función de barrera protectora contra las infecciones microbianas y virales.

En un análisis económico del impacto de la EN se calculó el costo del alimento necesario para que las parvadas que sufrían EN subclínica alcanzaran el peso vivo a la edad de mercado similar, al de las parvadas sanas, el cual se incrementó de \$ 370.49 a \$ 739.38 dólares americanos por parvada.²⁹

En México existen proyectos para normar el uso de antibióticos para la promoción del crecimiento y para metafilaxis (administración masiva) en animales.³⁰

Para el diagnóstico es mejor el envío de aves vivas para su sacrificio en el laboratorio; aunque se pueden enviar aves recién sacrificadas. Cuando se complica el envío de aves debido a restricciones sanitarias se puede enviar contenido intestinal o frotis de las paredes intestinales.³

Para obtener un diagnóstico acertado de EN es necesario tomar en cuenta las lesiones macroscópicas y microscópicas en el intestino y si llegasen

a presentarse en el hígado, las cuales por si solas ayudan a obtener el diagnóstico presuntivo.

En el estudio histopatológico se puede observar gran número de bacilos Gram positivos tanto en las lesiones del intestino como en las del hígado.

Para el diagnóstico definitivo se debe aislar el agente causal. Estos resultados de laboratorio más la historia clínica completa que incluya los parámetros productivos, el calendario de vacunación, el coccidiostato y la dieta proporcionados a la aves y las lesiones macroscópicas y microscópicas confirman el diagnóstico de EN.

Otros métodos de utilidad para el diagnóstico de EN son el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) el cual detecta las toxinas de *C. perfringens* y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)^{3,5} para los genes que codifican las toxinas de *C. perfringens*.

1.4 Salud pública

La enteritis necrótica no es una enfermedad zoonótica sin embargo, *Clostridium perfringens* tipos A y C producen enterotoxinas durante la esporulación, las cuales ocasionan enfermedades gastrointestinales en humanos.^{5,8} *C. perfringens* tipo A produce diarrea y el tipo C produce enteritis necrótica,^{3,5,8} debido a la contaminación cruzada de la canal originada en el proceso de eviscerado en la planta de procesamiento.^{3,31}

Aunque la cantidad de *C. perfringens* detectada en el intestino de pollos de engorda es variable, no existen estudios en México que indiquen cual es la cantidad promedio así como la relación que guarda con la longitud de las vellosidades intestinales.

1.5 Hipótesis

Debido a que *Clostridium perfringens* es parte de la biota intestinal, no existe una relación entre el tamaño de las vellosidades intestinales con el número de *Clostridium perfringens* en el intestino de pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos.

1.6 Objetivo general

Determinar la relación entre la longitud de las vellosidades intestinales del yeyuno e íleon, así como la cantidad de *Clostridium perfringens* en pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos alimentados con una dieta comercial.

1.7 Objetivos particulares

Realizar el conteo del número de colonias de *Clostridium perfringens* en yeyuno e íleon de pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos alimentados con una dieta comercial.

Medir la longitud de las vellosidades intestinales del yeyuno e íleon de pollos de engorda de 6 semanas de edad aparentemente sanos alimentados con una dieta comercial.

Determinar la relación entre la longitud de las vellosidades intestinales del yeyuno e íleon, así como la cantidad de *Clostridium perfringens*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Animales de experimentación

Se utilizaron 45 pollos de engorda (PE) hembras de la estirpe Cobb 500 de 1 día de edad provenientes de una incubadora comercial; de los cuales cinco pollitos de 1 día de edad se emplearon para descartar alguna infección mediante examen bacteriológico general y estudios serológicos (aglutinación en placa para *Salmonella* sp, *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*).

Los 40 pollitos restantes fueron alojados en una caseta de ambiente natural en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) desde el primer día hasta el final del estudio.

Los PE fueron alimentados desde el día de edad y hasta el final del experimento con una dieta basal sorgo (65 %) soya (25 %) y bacitracina (0.030%) como antibiótico promotor del crecimiento. El alimento y el agua se proporcionaron *ad libitum*. Los PE fueron vacunados contra enfermedad de Newcastle (ENC)/Influenza aviar vía subcutánea con vacuna emulsionada y ENC por vía ocular a los 10 días de edad conforme al programa establecido en el CEIEPAv.

Al cumplir las 6 semanas de edad los PE fueron divididos de forma aleatoria en dos grupos (1 y 2) conformado por 20 pollos cada uno y fueron sacrificados en 2 lugares distintos, el grupo 1 fue sacrificado con toma de muestras y procesamiento de las mismas directamente en la granja y el grupo 2 fue sacrificado y las muestras fueron tomadas y procesadas en el laboratorio

de diagnóstico e investigación en enfermedades de las aves del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la FMVZ de la UNAM para comprar si había diferencia debida al tiempo de incubación de las muestras, ya que las muestras del grupo 1 permanecieron a temperatura ambiente por varias horas en lugar de ser introducidas a 37°C inmediatamente como fue en el grupo 2.

2.2 Análisis serológico

De los 40 pollos de engorda, a las 6 semanas se seleccionaron al azar 5 aves de las cuales se tomaron muestras de suero para realizar exámenes serológicos (inhibición de la hemoaglutinación para ENC, aglutinación en placa para *Salmonella* sp, *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma. synoviae*).

Los estudios serológicos se realizaron para descartar que estos agentes estuvieran afectando la salud de las aves y por lo tanto influir en los resultados obtenidos.

2.3 Aislamiento de *Clostridium perfringens*

El alimento se retiró 8 horas previas al sacrificio para permitir el adecuado vaciado del intestino³² y por lo tanto facilitar la toma de muestras para el aislamiento de *C. perfringens* y la fijación de yeyuno e íleon para el estudio histopatológico.⁵

Para la obtención de la muestra se amarraron 5 cm de la última porción del yeyuno junto con 5 cm de íleon de los pollos de ambos grupos por separado en condiciones asépticas y se procesaron de la siguiente manera.

Un gramo de cada muestra se maceró por separado y se depositó en 9ml de Solución Amortiguadora de Fosfatos (PBS) estéril, se realizaron diluciones décuples de 10^{-1} hasta 10^{-6} . Posteriormente se sembraron 3 gotas de 20 µl de cada dilución en agar gelosa sangre^{10,11} y se incubaron durante 24

a 48 hrs a 37°C^{1,9,10,11} en condiciones de anaerobiosis con el sistema gaspack.^{10,11,*} Al término de la incubación se realizó el conteo de las colonias por observación macroscópica con la ayuda de una lupa a partir de la caja en cuya dilución fue factible realizar el conteo. De cada dilución se tomó una muestra de las colonias obtenidas que fueran sospechosas a *C. perfringens* (con hemólisis doble)³ para realizar frotis y tinción de Gram, a las colonias que presentaron morfología bacilar Gram positiva se les realizó la prueba de catalasa.¹⁰ Una vez obtenidas estas colonias se llevó a cabo la identificación por medio de las pruebas bioquímicas^{3,15} glucosa^a, maltosa,^a lactosa^a, sucrosa^a, indol^a, así como evaluación de la motilidad^{a,3,10,15} y leche tornasolada.^{**} Los resultados se reportaron como número de colonias por gramo de muestra.

Para estimar el número de bacterias las colonias con morfología similar, se clasificaron y una vez identificadas se tomó una colonia (representativa por grupo) y se realizó la identificación, una vez obtenida la especie bacteriana se realizó una primera cuenta de las UFC presentes en las cajas, después de obtener el total de UFC por caja se realizó la estimación en base a la dilución correspondiente³³ resultando en el total que se reporta en el capítulo de resultados del presente estudio.

2.4 Estudio histológico

De los mismos pollos utilizados en el estudio bacteriológico se tomaron 20 muestras de yeyuno y 20 muestras de íleon con una longitud de 1 cm. Las muestras se obtuvieron de la parte caudal del yeyuno y la parte craneal del íleon, a partir de las muestras tomadas para bacteriología.

* BD Gas pack™ USA. 21152

^a BD Difco™ USA. 07417

^{**} BD BBL™ Litmus Milk USA. 07417

Cada muestra fue cortada longitudinalmente por la luz del órgano para exponer la mucosa. Una vez realizado el corte los órganos se engraparon en tarjetas de cartón por los extremos, con la túnica serosa del intestino en contacto con la tarjeta y, por lo tanto, la túnica mucosa libre para mayor superficie de contacto con el formol, mejor fijación del órgano y preservar la integridad de las vellosidades intestinales. Posterior al montaje, la tarjeta se introdujo en frascos con formalina amortiguada al 10% para su fijación, procesamiento y corte.³⁴

Se realizó un corte transversal de los segmentos de intestino obtenidos. Las muestras se procesaron según el método convencional de inclusión en parafina³⁴ posteriormente estos cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina.³⁴ Una vez obtenidas las laminillas se midieron 30 vellosidades intestinales de cada muestra en forma aleatoria, con el único criterio de que estuvieran integra.³⁵

Las vellosidades se midieron a partir de la cripta hasta el ápice de la vellosidad con un microscopio óptico con el objetivo 4x, adicionalmente se utilizó una cámara para la proyección de imágenes de microscopía en directo de alta resolución[†] y un programa de computadora especializado.^{††}

2.5 Análisis bacteriológico adicional

En forma adicional de los 40 pollos sacrificados para aislamiento de *Clostridium perfringens* e histopatología, fueron seleccionados al azar 5 aves y se tomaron muestras de hígado, bazo, corazón, pulmón y duodeno, para realizar un estudio bacteriológico general. Este estudio se realizó para

[†] Motic. Moticam 2500TM China. 70-305

^{††} Motic Images Plus 2.0TM China. 70-305

descartar que algún agente extraño pudiera estar presente y por lo tanto influir en los resultados obtenidos.

2.6 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de Coeficiente de correlación simple de Pearson,³⁶ para determinar si existe relación entre el número de bacterias presentes en el yeyuno e íleon y la longitud de las vellosidades intestinales.

Se contaron 30 vellosidades intestinales de yeyuno e íleon, la cantidad de vellosidades intestinales medidas está sustentado en el teorema del límite central, el cual asegura que si se toman 30 muestras, la distribución de la media es una distribución normal con media y varianza confiables.³⁵

3. RESULTADOS

3.1 Estudio serológico

Los análisis serológicos realizados a los 5 pollitos de 1 día de edad fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra a *Salmonella* sp, *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma. synoviae* y resultaron positivos a enfermedad de Newcastle, con media geométrica de 10.55, que corresponden a anticuerpos maternos.

Por otro lado los análisis serológicos realizados a los 5 pollos de 6 semanas de edad fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra a *Salmonella* sp, *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* y resultaron positivos a enfermedad de Newcastle, con medias geométricas de 588.1 para el grupo 1 y 294 para el grupo 2, que corresponden a anticuerpos vacunales.

3.2 Aislamiento de *Clostridium perfringens*

El grupo 1 fue negativo a la presencia de *Clostridium perfringens* en todas las aves, únicamente fueron encontradas otras bacterias de biota intestinal como *Staphylococcus aureus* y *Actinomyces* sp (Cuadro 2).

En el grupo 2 se aisló *C. perfringens* a partir de 6 muestras de intestino en la región del yeyuno e íleon. El promedio de *C. perfringens* fue 215 UFC/g. Asimismo, fueron aisladas otras bacterias de biota intestinal como *Acinetobacter calcoaceticus*, *Staphylococcus aureus* entre otras (Cuadro 3).

3.3 Estudio histopatológico

La longitud promedio de las vellosidades en el yeyuno del grupo 1 fue 1284.4 μm con un rango entre 905.73 μm y 1488.1 μm . La desviación estándar fue 38.418 (Figura 1). La longitud promedio de las vellosidades del íleon grupo 1 fue 1299.3 μm con un rango entre 805.9 μm y 1563.8 μm . La

desviación estándar fue 1299.3 (Figura 1). Las figuras 2, 3, 4 y 5 muestran el aspecto de las vellosidades del grupo 1.

En el grupo 2, la longitud promedio de las vellosidades del yeyuno fue 1478.4 μm con un rango entre 1311.3 μm y 1631.4 μm . La desviación estándar fue 103.1 (Figura 6). La longitud promedio de las vellosidades del íleon fue 1384.2 μm con un rango entre 1190 μm y 1486.3 μm . La desviación estándar fue 111.9 (Figura 6). Las figuras 7, 8, 9 y 10 muestran el aspecto de las vellosidades del grupo 2. En ninguna de las muestras analizadas fueron encontradas lesiones aparentes.

3.4 Estudio bacteriológico adicional

El análisis bacteriológico general realizado a los 5 pollitos de 1 día de edad así como a los 5 pollos de 6 semanas de edad a partir de muestras de hígado, bazo, corazón, pulmón y duodeno fueron negativas al crecimiento bacteriano en todos los órganos.

3.5 Estudio estadístico

No se encontró relación estadísticamente significativa entre la longitud de las vellosidad intestinales y la cantidad de *Clostridium perfringens* en ambos grupos, los coeficientes de muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4 Coeficiente de correlación entre aislamiento de *C. perfringens* y la longitud de vellosidades intestinales en pollos de engorda aparentemente sanos de 6 semanas de edad

Porción intestinal	Grupo 1	Porción intestinal	Grupo 2
Yeyuno	r= 0 NS	Yeyuno	r= -0.0277 NS
Íleon	r= 0 NS	Íleon	r= -0.1205 NS

r= coeficiente de correlación
NS= no significativo

4. DISCUSIÓN

Con la propuesta de regulación del uso de antibióticos promotores del crecimiento (APC) en México,³⁰ y el crecimiento en la demanda del consumidor por adquirir productos libres de APC, es probable que se incremente la frecuencia de EN en las parvadas comerciales; por ello es importante para los Médicos Veterinarios especialistas en aves conocer la incidencia de *C. perfringens*, la cantidad de UFC que pueda considerarse normal, así como el tamaño de las vellosidades intestinales en PE sanos en México.

El grupo 1 del presente estudio fue negativo al aislamiento de *C. perfringens*, lo anterior no concuerda con lo encontrado por Svobodová *et al.*, (2007)³⁷ en un estudio en el cual publicaron la incidencia de *C. perfringens* en pollos de engorda sanos Cobb 500, alimentados con *pellet* comercial con coccidiostato. En ese estudio fueron obtenidas 609 muestras de 23 granjas avícolas de producción intensiva. El número total de muestras negativas fue de 497 (81.61%) y obtuvo 112 muestras positivas (18.39%) con un promedio 10^5 UFC/g. Por otra parte, difiere con el grupo 2 de este estudio en el cual se obtuvo 30 % de muestras positivas con únicamente 215 UFC/g de muestra.

En el estudio de Batalle *et al.*, (2009)³⁸ que se realizó en pollos de engorda de 7 a 49 días de edad, se evaluó la cuenta de *C. perfringens* por gramo de 390 muestras de intestino de 78 granjas, encontraron que sólo los PE con valores por arriba de 10^7 UFC/g presentaban lesiones en intestino delgado, y en el 82% de las muestras la cuenta de *C. perfringens* fue menor o igual a 10^6 UFC/g; además no hubo relación significativa entre la edad de las aves y el contenido intestinal de *C. perfringens*.³⁸ Estos resultados son compatibles con lo descrito en el presente estudio, ya que los pollos positivos a

C. perfringens cuyo promedio fue mucho menor a 10^7 UFC, no tuvieron lesiones en intestino delgado.

En el estudio realizado por Lu *et al.*, (2003)³⁹ con PE Ross, se describió la microbiota intestinal a diferentes edades (3, 7, 14, 21, 28 y 49 días) mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los PE fueron alimentados con una dieta base de maíz-soya y solo se encontró *C. perfringens* en el Íleon en el día 3 de edad, mientras que la detección fue negativa para los muestreos de 7, 14, 21, 28 y 49 días. Debido a que no fue encontrado *C. perfringens* en el lapso del muestreo entre los 7 a 49 días, lo más probable es que no estuvo presente en el día 42. Lo anterior es compatible con los resultados obtenidos únicamente en el grupo 1 del presente estudio que se realizó a los 42 días de edad. Por otra parte, difieren con los resultados del grupo 2 en donde los pollos 1, 7, 8, 11, 17 y 18 fueron positivos al crecimiento de *C. perfringens*. (Cuadro 5).

Shakouri *et al.*, (2009)⁴⁰ realizaron un experimento con un total de 288 pollos de engorda Cobb y fueron distribuidos en grupos de seis aves por jaula con pesos iguales en cada grupo. Los pollos fueron asignados a uno de ocho dietas experimentales que se basaron en cebada, maíz, sorgo y trigo, con o sin suplemento. Al final de las 4 semanas se tomaron muestras de 1 gramo de molleja, íleon y ciegos de cada ave. Para el aislamiento de *C. perfringens* se utilizó agar de yema de huevo, los cultivos se incubaron en condiciones anaeróbicas a 39° C durante 24 horas. Los resultados que obtuvieron del conteo de *C. perfringens* en íleon fueron para la dieta de sorgo sin suplemento de 42.8 UFC/g y con suplemento de 35.5 UFC/g. Estos resultados son menores a lo encontrado en promedio en el grupo 2 del presente estudio, la diferencia

entre ambos experimentos fue que en Shakouri *et al.*, utilizaron una dieta 100% basada en el sorgo mientras que en el presente estudio se utilizó una dieta sorgo (65 %) soya (25 %), sin embargo los resultados del grupo 1 son menores a lo reportado por Shakouri *et al.*

En este estudio se utilizó el sorgo para la alimentación de las aves, porque es el principal grano utilizado como fuente de energía en la alimentación animal en México⁴¹. Esta dieta pudo ser un factor que influyera en la cantidad de *C. perfringens*, debido a que se ha documentado que las dietas formuladas con trigo, centeno y cebada favorecen el crecimiento de *C. perfringens*.^{1,3,9} Por lo anterior y debido a que es poco probable que cambien los granos utilizados en la dieta de las aves, es posible que la EN no sea frecuente en México; sin embargo, si los APC utilizados en la dieta de aves fueran suspendidos los casos podrían aumentar como ha sucedido en la Unión Europea.

Los aislamientos de *Staphylococcus aureus* y *Alcaligenes faecalis* obtenidos de las muestras de duodeno-yeyuno de las aves del presente estudio son compatibles con lo descrito por Lu *et al.*, (2003) quienes describieron que dichas bacterias son parte de la biota intestinal, mientras que *Acinetobacter calcoaceticus* es un microorganismo que forma parte de la biota nativa de la piel.⁴²

En relación con la longitud de las vellosidades intestinales, Shakouri *et al.*, (2009) midieron la cantidad de *C. perfringens* y la morfometría de las vellosidades del yeyuno en pollos de engorda Cobb de 4 semanas, los pollos fueron alimentados con 8 dietas. Las muestras fueron fijadas en formol y procesadas e incluidas en parafina. Las secciones se cortaron con un espesor

de 5 μm y se tiñeron con hematoxilina y eosina. La medición de las vellosidades se obtuvieron mediante un programa de computadora especializado (SPOT 3.1; Diagnostic Instruments, Sterling Heights, MI, USA), determinaron la altura de las vellosidades desde el ápice de las vellosidades a la unión de vellosidad-cripta, el ancho de las vellosidades y la profundidad de las criptas. La altura de las vellosidades del yeyuno fueron para sorgo sin suplemento 963.6 μm y con suplemento 1037.6 μm , lo cual difiere con los resultados promedio obtenidos para yeyuno en el grupo 1 y 2 del presente estudio que fueron 1284.4 μm . y 1478.4 μm respectivamente, que es mayor a lo reportado por Shakouri *et al.*, (2009) en dietas de pollos Cobb alimentados con sorgo.

En otro estudio realizado por Leone *et al.*, (2003)⁴³ evaluaron el efecto de diferentes probióticos en la estructura de la mucosa intestinal y en su ultra estructura en pollos de engorda Cobb, de 42 días de edad alimentados con una dieta base maíz-soya. Se tomaron muestras de yeyuno, duodeno e íleon para medirse altura, perímetro y profundidad mediante un analizador de imágenes Kontron Elektronik (Video Plan), conectado a un microscopio binocular. La altura de las vellosidades se midió desde la región basal de las vellosidades hasta el ápice en forma similar en que se midieron en el presente estudio. Los resultados que obtuvieron con una dieta basada en maíz y soya de yeyuno fue de 928.20 μm y en íleon 616.95 μm . Estos resultados se encuentran dentro del rango menor obtenidos para el grupo 1 en el presente estudio en el cual los valores menores encontrados en las vellosidades de yeyuno fue de 905.7 μm a 997.3 μm .

Este trabajo es considerado un primer estudio sobre la longitud de las vellosidades intestinales en México, en pollo de engorda sanos de 6 semanas de edad alimentados con una dieta comercial y bacitracina como antibiótico promotor de crecimiento, no existe información que relacione la longitud de las vellosidades intestinales y la presencia de *C. perfringens* bajo las condiciones anteriormente citadas. Se sugiere realizar más trabajos por todo el país, con diferentes dietas, edades y estirpes de aves, para poder obtener un panorama más amplio y entonces determinar cual es la longitud esperada de las vellosidades intestinales en pollos de engorda en México.

En otros estudios no se indica la porción precisa de intestino seccionada, por lo cual es posible que al no tomar en cuenta que las muestras no correspondan al mismo segmento y el procesamiento es distinto, puedan mostrar longitud de la vellosidad diferente a las de este trabajo.

5. CONCLUSIONES

No existió relación entre el tamaño de las vellosidades intestinales y la cantidad de *Clostridium perfringens* en pollos de engorda sanos de 6 semanas de edad bajo las condiciones del presente estudio.

Se sugiere realizar más trabajos para conocer la cantidad de UFC/g de *C. perfringens* en pollos de engorda aparentemente sanos de distintas estirpes, edades y dietas.

Bibliografía

1. Francesch M. Disbiosis intestinal. Memorias del XLIV Symposium científico de AECA; 2007 octubre 24-26; Valencia España: Asociación Española de Ciencia Avícola. 2007: Memorias en CD-R.
2. Long JR. Necrotic enteritis in broiler chickens I. A review of the literature and the prevalence of the disease in Ontario. Can. J. com. Med. 1973;37:302-308.
3. Opengart Kenneth. Necrotic enteritis. In: Disease of poultry 12th ed. Saif YM, editor. U.S.A: Blackwell publishing, 2008:872-877.
4. Porter ER. Bacterial enteritides of poultry. Poult. Sci. 1998;77:1159-1165.
5. Johansson A. *Clostridium perfringens* the causal agent of necrotic enteritis in poultry (Doctoral thesis) (Uppsala) Swedish. Swedish University of Agricultural Sciences 2006.
6. Kerry K, Cooper J, Glenn S. Necrotic enteritis in chickens: A paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. Anaerobic. 2009;15:55-60.
7. Dibner JJ, Quiroz MA, Knight DC. Estrategias de manejo del intestino para minimizar brotes de enteritis necrótica en aves. Industria Avícola. 2008;55:14-17.
8. Petit L, Gibert M, Popoff M. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. Trends Microbiol. 1999;7:104-110.
9. Vicente SJL. Alternativas prácticas en el control de la enteritis necrótica de los pollos. Los Avicultores y su entorno. 2007;54:98-102.
10. Yamamoto R, Walter WS, Adler EH, Stewart GF. Characterization of *Clostridium perfringens* (*welchii*) isolated from market poultry. Appl. Environ. Microbiol. 1961;9:337-342.
11. Kaldhusdal M, Hofshagen M, Lovland A, Langstrand H, Redhead K. Necrotic enteritis challenge models with broiler chickens raised on litter: evaluation of preconditions, *Clostridium perfringens* strains and outcome variables. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999;24:337-343.
12. Quinn JP, Carter ME, Markey BK, Carter GR, Leonard FC, editors. *Clostridium* species. In: Veterinary microbiology and microbial disease. U.S.A.: Blackwell Science. 2002:101-113.
13. Jordan FTW. Clostridia. In: Poultry diseases, 5th ed. Jordan FTW, Pattison M, editors. England: WB Saunders, 2002:158-160.
14. Teirlynck EA, Gholamiandehkordi V, Eeckhaunt R, Ducatelle F, Pasmans F, et al. Una aproximación cuantitativa para la evaluación de la salud intestinal en aves. Memorias del XXIV Curso de Especialización FEDNA; 2008 octubre 23-24; Madrid España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. 2008:21-27.
15. Morris WE, Fernández MME. Toxinas de *Clostridium perfringens*. Rev. Argent. Microbiol. 2009;41:251-260.
16. Biberstein EL. The clostridia. In: Review of veterinary microbiology. Biberstein EL, Chung ZY, editors. U.S.A: Blackwell Scientific 1990:337-341.
17. Sterne M, Batty I, editors. Pathogenic clostridia. England: Butterworth, 1978: 9-28.
18. Van Immerseel F, De Buck J, Pasmans F, Huyghebaert G, Ducatelle H, Haesebrouck F et al. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. Avian Pathol. 2004;33:537-549.
19. Dudley CB. Understanding NE is key to its prevention. Feedstuffs. 2006;78:1-2.

20. Ross Breeders Limited. Boletines Ross Tech: La enteritis necrótica y otras condiciones asociadas a ella en los pollos de engorde 98/36. Newbride, U.K. 1999.
21. Richardson K. Clostridia en el pienso: impacto en el rendimiento animal y control. Memorias del XXI Congreso Latinoamericano de Avicultura; 2009; La Habana, Cuba. Asociación Latinoamericana de Avicultura. 2009: Memorias en CD-R.
22. Songer JG. Enteric Clostridia. In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3rd ed. Gyles LC, Prescott FJ, Songer JG, Thoen OC, editors. U.S.A: Blackwell publishing. 2004:131-136.
23. Knarreborg A, Simon MA, Engberg RM, Jensen BB, Tannock GW. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. Appl Environ Microbiol. 2002;12:5918-5924.
24. Gil S RJ, Rochedo CF, Gil TC. Avian necrotic enteritis. Cienc. Rural. 2008;7:2076-2082.
25. Vittori J, Schocken IRP, Prochnon TK, Martins R CA, Barbosa GG, Souza ML, Pigatto PC. *Alphitobius diaperinus* as a vector of *Clostridium perfringens* in broiler houses in the state of São Paulo - Brazil Cienc. Rural 2007;37:894-896.
26. Ducatelle R, Timbermont L, Lanckriet A, Immerseel F. Subclinical necrotic enteritis: identification, prevention and treatment. March 25 2010. Watt online poultry nutrition & health forum.
27. Kaldhusdal M. Clostridial necrotic enteritis and cholangiohepatitis. The Elanco global enteritis symposium July 9-1 2002. CD-R.
28. Cervantes H. El uso de antibióticos y su futuro en la producción animal. Memorias de la XXXIV Convención Anual ANECA; 2009 agosto 12-15; Acapulco (Guerrero) México. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México. A.C. 2009: Memorias en CD-R.
29. Skinner TJ, Bauer S, Young V, Pauling G, Wilson J. An economic Analysis of the impact of subclinical (mild) Necrotic Enteritis in broiler chickens Avian Diseases. 2010;54:1237-1240.
30. Instituto Nacional de Salud Pública. Regulación y promoción para el uso adecuado de antibióticos en México. Propuesta de lineamientos para la acción. México 2010.
31. Craven SE, Cox NA, Bailey JS, Cosby DE. Incidence and tracking of *Clostridium perfringens* Through an Integrated Broiler Chicken Operation. Avian Diseases. 2003;47:707-711.
32. Castañeda SMP. Procesamiento, comercialización e industrialización del pollo productor de carne. En: Zootecnia avícola. Hernández VX, Quintana LJA, López CC, editores. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 2009: 265-280.
33. Miles AA, Misra SS, Irwin JO The estimation of the bactericidal power blood J Hyg 1938;38:732-749.
34. Prophet E, Mills B, Arrington J, Sobón L. Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas armadas de los Estados Unidos de América, Washington DC, Registro de Patología de los Estados Unidos de América (ARP) e Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP), 1995:55-57.

35. Wayne WD, editor. Algunas distribuciones de muestreo importantes En: Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. 4 ed. Mexico: Limusa. 2002:124-149.
36. Wayne WD, editor. Regresión y correlación lineal simple En: Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. 4 ed. Mexico: Limusa. 2002:430-446.
37. Svobodová I, Steinhauserová I, Nebola M. Incidence of *Clostridium perfringens* in broiler chickens in the Czech Republic. Acta. Vet. Brno. 2007;76:25-30.
38. Batalle M, Cejas M, Paoletta M, De Franceschi M. Estudio epidemiológico descriptivo de los *Clostridium* en pollos parrilleros en Argentina. Memorias del XXI Congreso latinoamericano de avicultura; 2009 octubre 6-9; la Habana, Cuba. Memorias en CD-R.
39. Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ, Lee MD. Diversity and Succession of the Intestinal Bacterial Community of the Maturing Broiler Chicken. ppl. Environ. Microbiol. 2003;69: 6816-6824.
40. Shakouri MD, Lji PA, Mikkelsen LL, Cowieson JJ. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. J Anim Physiol Anim Nutr. 2009; 93:647-658.
41. Avila GE. Fuentes de energía, proteína y aditivos En: Alimentación de las aves. 2Ed. México: Trillas. 1990:43-60.
42. Wani SA, Samanta I, Bandey MT, Hat MA. Isolation of *Acinetobacter iwoffii* from broiler from broiler chicken with septicaemia in kashmir valley. Indian J. Anim. Res. 2006;40:61-63.
43. Leone PER, Alves SP, Borba ASH, Obab A, Norkusc EA, Kodawarac LM, Azevedo LTM. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. RPCV 2003;98:125-134.

Cuadro 1. Clasificación de <i>Clostridium perfringens</i> con base en la producción de sus toxinas^{2,24}				
Tipo/Toxina	Alfa (α)	Beta (β)	Épsilon (ϵ)	Iota (ι) ²⁴
A	++	-	-	-
B	+	+	+	-
C	+	+	-	-
D	+	-	+	-
E	+	-	-	+

Cuadro 2. Estimación de la cantidad de especies bacterianas aisladas del estudio bacteriológico en el grupo 1 pollos con toma de muestra en granja					
Ave	Bacteria aislada	UFC/g	Ave	Bacteria aislada	UFC/g
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	160	10	<i>Staphylococcus aureus</i>	160
	<i>Actinomyces sp</i>	5830		<i>Actinomyces sp</i>	4160
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	330	11	<i>Staphylococcus aureus</i>	160
	<i>Actinomyces sp</i>	6270		<i>Actinomyces sp</i>	5380
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	1280	12	<i>Staphylococcus aureus</i>	160
	<i>Actinomyces sp</i>	5610		<i>Actinomyces sp</i>	2550
4	<i>Actinomyces sp</i>	4550	14	<i>Staphylococcus aureus</i>	110
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	500		<i>Actinomyces sp</i>	2440
	<i>Actinomyces sp</i>	4610	15	<i>Staphylococcus aureus</i>	550
6	<i>Actinomyces sp</i>	2940		<i>Actinomyces sp</i>	1270
7	<i>Staphylococcus aureus</i>	50	17	<i>Staphylococcus aureus</i>	160
	<i>Actinomyces sp</i>	2160		<i>Actinomyces sp</i>	1050
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	160			
	<i>Actinomyces sp</i>	5610			

*Las claves 8,13,16,18-20 no tuvieron crecimiento.

Cuadro 3.					
Estimación de la cantidad de especies bacterianas aisladas del estudio bacteriológico en el grupo 2 pollos con toma de muestra en laboratorio					
Pollo	Bacteria aislada	UFC/g	Pollo	Bacteria aislada	UFC/g
1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1890	9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	550
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6670		<i>Staphylococcus aureus</i>	1830
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	1440	10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	220
	<i>Clostridium perfringens</i>	270		<i>Staphylococcus aureus</i>	5330
2	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3330	11	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	50
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16770		<i>Staphylococcus aureus</i>	104
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	1440		<i>Clostridium perfringens</i>	100
	<i>Actinomyces sp</i>	50	12	<i>Staphylococcus aureus</i>	890
3	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2220	13	<i>Staphylococcus aureus</i>	500
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4940	14	<i>Staphylococcus aureus</i>	2330
4	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	880	15	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	50
	<i>Staphylococcus aureus</i>	400		<i>Staphylococcus aureus</i>	8610
5	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1170	16	<i>Staphylococcus aureus</i>	1170
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4170	17	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	500
	<i>Actinomyces sp</i>	50		<i>Staphylococcus aureus</i>	4000
6	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	720		<i>Clostridium perfringens</i>	100
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8000	18	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	440
	<i>Actinomyces sp</i>	50		<i>Staphylococcus aureus</i>	5610
7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	440		<i>Clostridium perfringens</i>	500
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1890	19	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	50
	<i>Actinomyces sp</i>	220		<i>Staphylococcus aureus</i>	1670
	<i>Clostridium perfringens</i>	220	20	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	610
8	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	220		<i>Staphylococcus aureus</i>	3670
	<i>Staphylococcus aureus</i>	9000			
	<i>Clostridium perfringens</i>	500			

Cuadro 5.				
Cuadro comparativo de la cantidad de UFC de <i>Clostridium perfringens</i> encontradas en íleon de pollos de engorda con diferente alimentación				
Dieta				
Sorgo-Soya		Soya	Sorgo c/suplemento	Sorgo s/suplemento
Presente estudio		Lu <i>et al.</i> , 2003	Shakouri <i>et al.</i> , 2009	
6 semana	6 semana	1-7 semanas	4 semanas	4 semana
grupo 1	grupo 2			
0 UFC	215 UFC	0 UFC	35.5 UFC	42.8 UFC

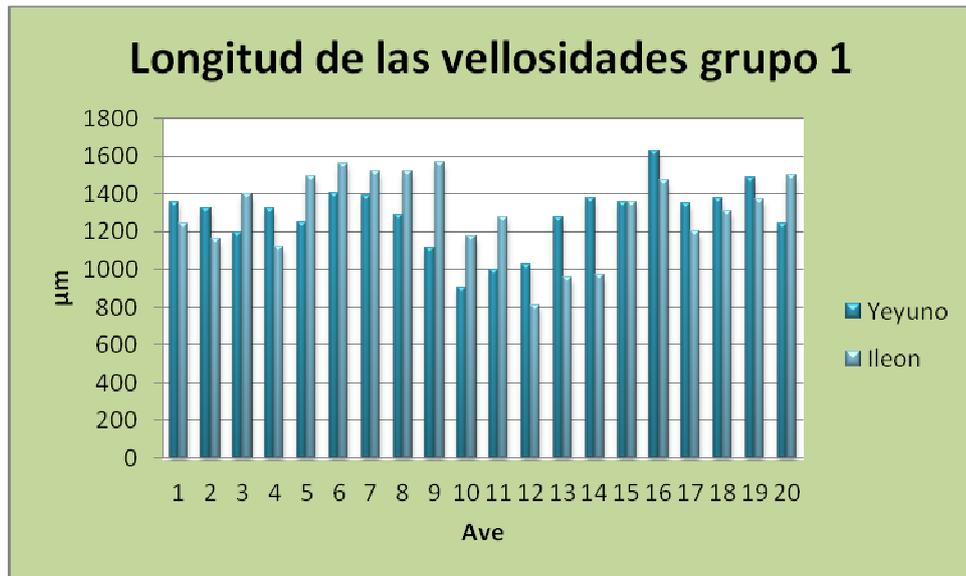
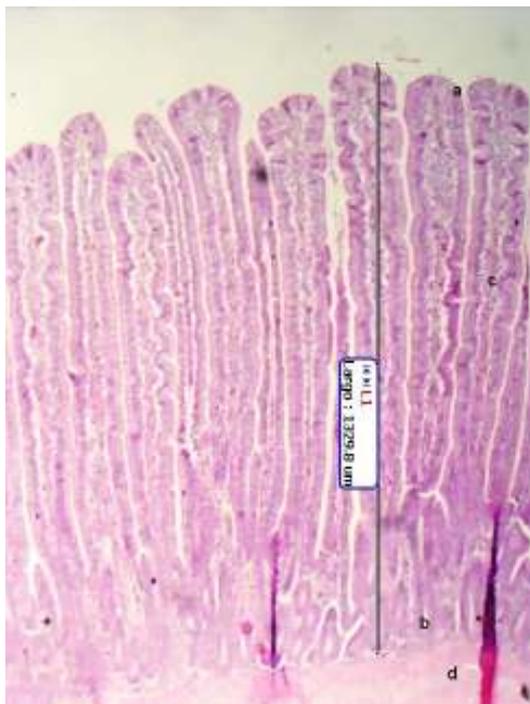


Figura 1.
Resultados del estudio histológico en el grupo 1 pollos con toma de muestra en granja



(2)

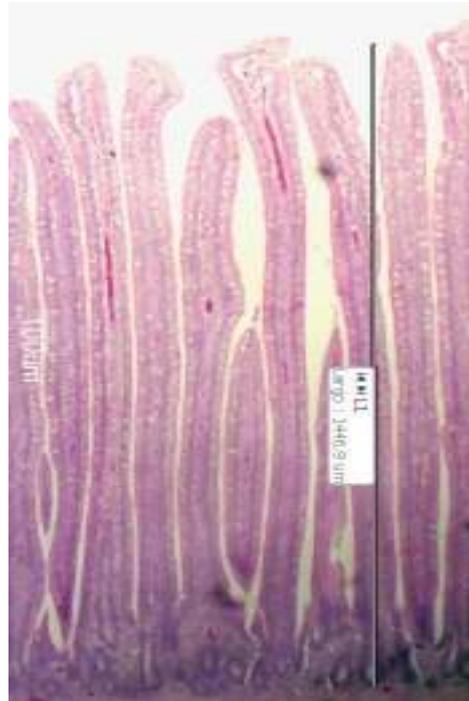


(3)

Figuras 2 y 3.
Foto micrografía del yeyuno (mucosa) del grupo 1 donde se observa a) tejido epitelial cilíndrico simple b) cripta de la mucosa intestinal c) tejido conectivo en el centro de la vellosidad d) muscular de la mucosa. Hematoxilina y eosina. 4x



(4)



(5)

Figuras 4 y 5.

Foto micrografía del íleon (mucosa) del grupo 1 donde se observa a) tejido epitelial cilíndrico simple b) cripta de la mucosa intestinal c) tejido conectivo en el centro de la vellosidad d) muscular de la mucosa. Hematoxilina y eosina. 4x

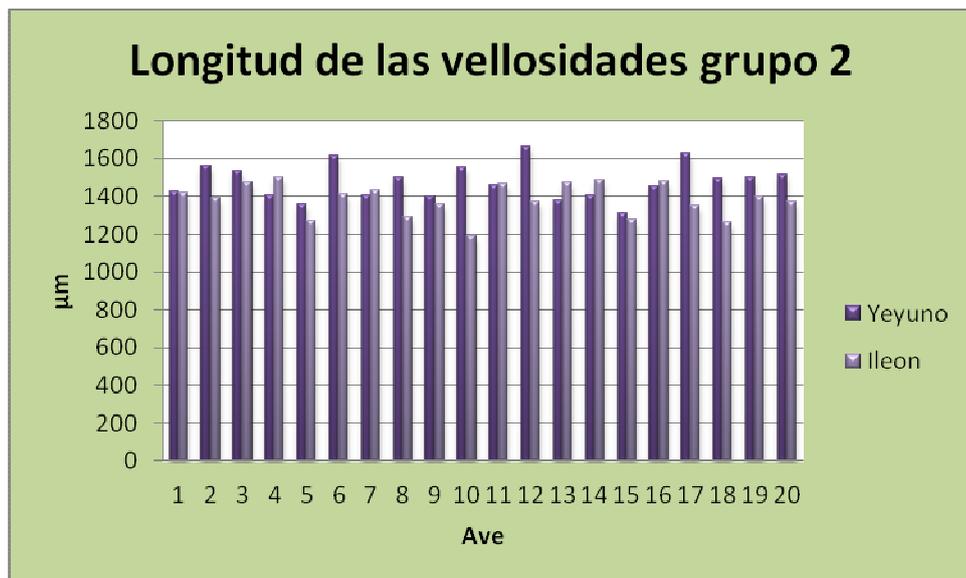
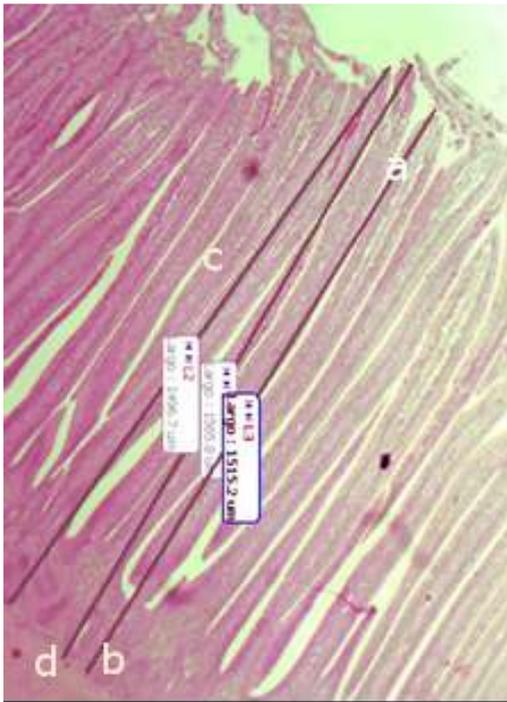
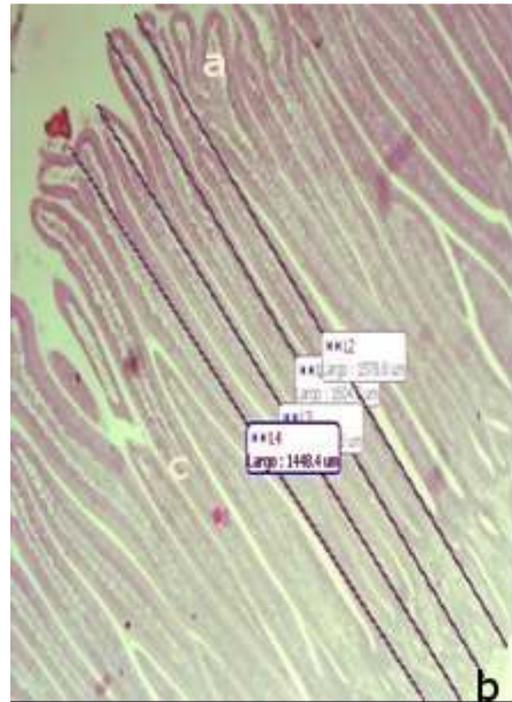


Figura 6.

Resultados del estudio histológico grupo 2 pollos con toma de muestra en laboratorio



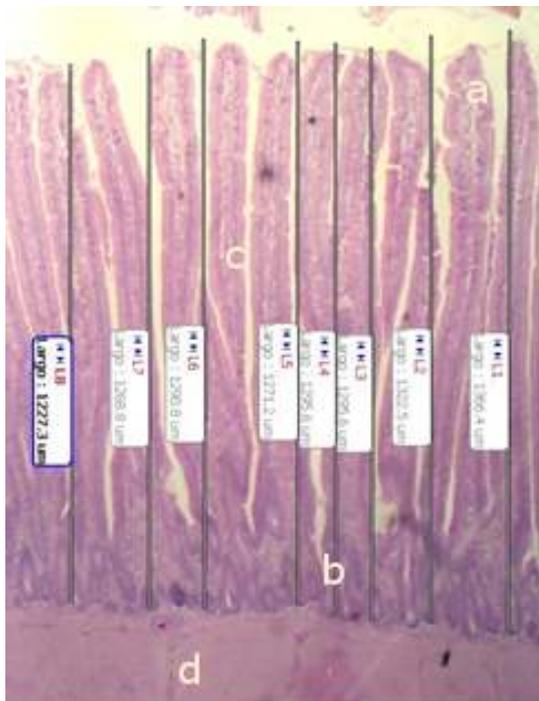
(7)



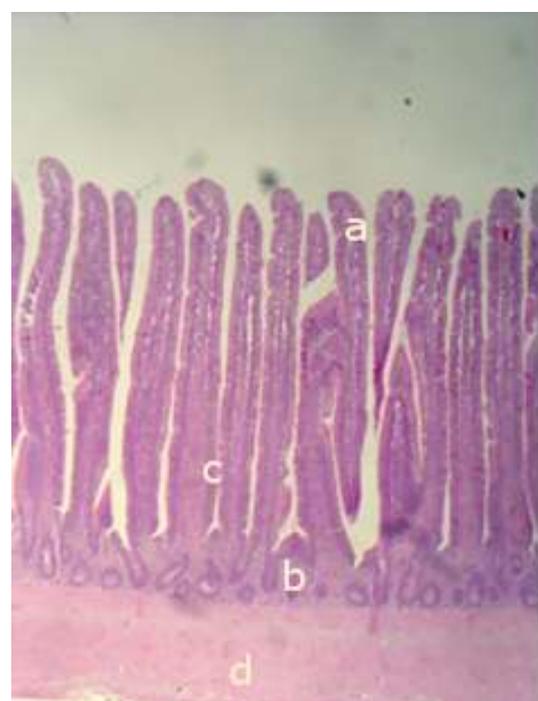
(8)

Figuras 7 y 8.

Foto micrografía del yeyuno (mucosa) del grupo 2 donde se observa a) tejido epitelial cilíndrico simple b) cripta de la mucosa intestinal c) tejido conectivo en el centro de la vellosidad d) muscular de la mucosa. Hematoxilina y eosina. 4x



(9)



(10)

Figuras 9 y 10.

Foto micrografía del íleon (mucosa) del grupo 2 donde se observa a) tejido epitelial cilíndrico simple b) cripta de la mucosa intestinal c) tejido conectivo en el centro de la vellosidad d) muscular de la mucosa. Hematoxilina y eosina. 4x