

# **EVALUACIÓN DE COBRE TRIBÁSICO EN LA ALIMENTACIÓN DE AVES**

Trabajo Final de Grado

Alumno

**RODRIGO CARDACI**

Este trabajo ha sido presentado como requisito para la obtención del título de

**INGENIERO AGRÓNOMO**

Carrera: Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales

Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 14 de setiembre de 2015

# EVALUACIÓN DE COBRE TRIBÁSICO EN LA ALIMENTACIÓN DE AVES

Trabajo Final de Grado

del alumno:

**RODRIGO CARDACI**

Aprobada por el Tribunal Evaluador de Trabajo Final de Grado

.....  
Marcelo J. Schang  
Ing. Agr.

.....  
Jorge O. Azcona  
Ing. Agr.

.....  
Ángel N. Patitucci  
Méd.Vet.

.....  
Dr. Bernardo F. Iglesias  
Director

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

Pergamino, 14 de setiembre de 2015

# Agradecimientos

- *A la Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires y a su personal, por brindarme los conocimientos, formarme profesionalmente y permitir que me pueda desempeñar en el ámbito de la ingeniería agronómica.*
- *A la Sección Avicultura del INTA – EEA Pergamino, por la calidez y por darme la oportunidad de realizar el Trabajo Final de Grado.*
- *A Bernardo, por ayudarme en todo lo referido al Trabajo Final y por el compromiso que tuvo al acompañarme, brindándome sus conocimientos en el área de la avicultura, tanto en lo profesional como en lo personal.*
- *A Graciela y Mario, por estar presente incondicionalmente en todo momento, por brindarme su apoyo en todas las circunstancias que he transitado durante todo este tiempo y que nunca me soltaron la mano, brindándome su cariño y amor.*
- *A Tomás, por acompañarme tanto en los momentos buenos como en los malos y hacerme ver que las cosas son de otra manera.*
- *A Mariana, por estar presente en todo momento, confiando en mi perseverancia para llegar a mis objetivos, y darme todo su amor y cariño.*
- *A Guillermo y Santos, que me miran desde el cielo, éste logro, además de dedicárselo a mi familia, también se lo dedico a ellos.*
- *Y a las personas que me acompañaron de una u otra manera en este proyecto de vida al que le llamo “agronomía”.*

# ÍNDICE

Resumen .....	8
Abstract .....	10
Abreviaturas .....	11
INTRODUCCIÓN .....	12
La avicultura en el contexto nacional .....	12
El uso de antibióticos en la producción de aves.....	13
Alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento .....	14
El cobre .....	16
OBJETIVOS.....	17
Generales.....	17
Específicos .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Instalaciones y aves .....	18
Tratamientos .....	18
Mediciones .....	22
Análisis estadístico .....	23
RESULTADOS.....	24
Datos zootécnicos .....	24
Histopatología e histomorfometría.....	28

DISCUSIÓN .....	30
Consumo .....	30
Peso .....	30
Conversión alimenticia .....	31
Histopatología e histomorfometría de duodeno .....	32
CONCLUSIONES .....	34
Modelo.....	34
Cobre Tribásico .....	34
BIBLIOGRAFÍA .....	35

# Índice de Tablas

Tabla 1.- Tratamientos .....	19
Tabla 2.- Dosis de antibióticos promotores de crecimiento.....	19
Tabla 3.- Composición y aportes nutricionales de las dietas .....	21
Tabla 4.- Consumo (gramos) .....	24
Tabla 5.- Peso (gramos) .....	25
Tabla 6.- Conversión.....	25
Tabla 7.- Peso/Conversión.....	26
Tabla 8.- Edad a 2800 gramos (días) .....	27
Tabla 9.- Histopatología e histomorfometría de duodeno .....	28
Tabla 10.- Degeneración vacuolar en hígado .....	29

# Índice de Figuras

Figura 1.- Resumen de resultados zootécnicos a los 36 días (Control -: 100%).....	27
--	----

## Resumen

La utilización de los Antibióticos Promotores de Crecimiento (APC) ha acompañado el desarrollo de las producciones intensivas, entre ellas la industria avícola. Desde 2006, la Unión Europea decidió prohibir su uso por el riesgo de generar resistencias en cepas de bacterias patógenas, y esta tendencia se extendió a otros países. Debido a esto, surgen en el mercado diferentes alternativas al uso de APC, entre ellos el Cobre Tribásico (CTB). El objetivo de este trabajo fue evaluar al CTB de dos orígenes como alternativa al uso de los APC en dietas para pollos parrilleros. Para ello, la prueba se llevó a cabo bajo modelo de desafío implementado por INTA, comparando cuatro tratamientos, 1.- Control + (con APC); 2.- Control – (sin APC); 3.- Ídem T2 + CTB nacional; 4.- Ídem T2 + CTB importado. Se encontró que, en estas condiciones, los pollos que recibieron la suplementación con CTB presentaron mayor consumo y mejor conversión alimenticia que la dieta sin APC. El uso del CTB nacional a dosis de 125 ppm, sobre una dieta sin APC, logró parámetros zootécnicos similares a los del tratamiento con APC hasta los 29 días de vida, sustentado por una buena longitud de vellosidad intestinal. Luego, las diferencias a favor de la versión nacional se redujeron. El uso de CTB de origen norteamericano a dosis de 125 ppm sobre una dieta sin APC permitió lograr parámetros zootécnicos similares al de tratamiento con APC pero las ventajas se observaron hasta los 22 días de vida. Se puede concluir que: 1.- el modelo de desafío fue suficiente para generar un perjuicio en el desempeño de las aves; 2.- el uso de CTB, tanto de origen nacional como importado, permitió revertir los efectos negativos de la ausencia de APC en edades tempranas de

las aves, todo esto sustentado por mejoras en las condiciones histomorfométricas del intestino. Por lo que ambas fuentes de CTB se podrían usar como una alternativa al uso de los APC, siendo el efecto del CTB nacional más evidente a lo largo de toda la prueba.

## Abstract

The use of Antibiotic Growth Promoters (AGP) has accompanied the development of the intensive production and the poultry industry. Since 2006, the European Union decided to ban their use because they could generate resistance among pathogenic bacteria strains; this trend of prohibition included also the USA. The aim of this study was to evaluate tribasic copper (TBC) from two sources as an alternative to AGP in diets for broiler chickens. The trial was carried out under a challenge protocol, developed by INTA, where the alternative product is compared against a Positive Control (with AGP) and a Negative Control (Without AGP). Under these conditions, broilers fed TBC showed higher feed intake and better feed conversion ratio than Negative Control. The Argentinean TBC at 125 ppm achieved similar performance than the Positive Control up to 29 days of age, supported by a good intestinal villi length. The American TBC at 125 ppm also achieved similar performance than the Positive Control, but only up to 22 days of age. So, we can conclude that: 1.- the challenge model was enough to generate a loss of performance in bird without AGP; 2.- both TBC (Argentinean and American) were able to revert the lack of AGP in young birds (22 days for American TBC and 29 days of age for the Argentinean TBC), supported by improvements in the histomorphometry of the gut.

## Abreviaturas

APC: Antibiótico Promotor de Crecimiento

CTB: Cobre Tribásico

Cu: Cobre

CuSO<sub>4</sub>: Sulfato de Cobre

Dig.: Digestible

EEA: Estación Experimental Agropecuaria

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

Log<sub>10</sub>: Logaritmo en base 10

PC: Proteína Cruda

Tn: Toneladas

UBA: Universidad de Buenos Aires

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

UTI: Unidades de Inhibidor de Tripsina

# INTRODUCCIÓN

## La avicultura en el contexto nacional

La avicultura es hoy una actividad de primer nivel dentro del escenario agropecuario argentino y representa una muy buena alternativa para la generación de valor agregado, dado que transforma granos, demanda cantidades importantes de mano de obra (más de 132.000 personas) y pone al servicio del consumidor productos de primera calidad. En los últimos 10 años la avicultura argentina ha crecido geométricamente en producción y en consumo, con exportaciones a países como China, Alemania, Venezuela, Sudáfrica, Chile, Singapur, Vietnam, Congo, Angola, Gran Bretaña, Polinesia, Perú y Holanda, entre otros. La faena nacional en 2014 se distribuyó en las provincias de Entre Ríos 46,7%; Buenos Aires 39,0%; Santa Fe 5,3%; Córdoba 4,5%; Río Negro 2,9%; Salta 0,8% y Mendoza 0,8%. Este complejo agroindustrial está coronado con un desarrollo y un consumo fuertemente consolidado, superando la barrera de los 232 huevos por habitante por año y 40,4 kilos de carne consumida por persona para 2014 (MAGyP, 2015). Sólo 50 años atrás los consumos eran de 40 huevos y 3 kg por habitante por año (El Sitio Avícola, 2013).

En un análisis se proyecta que para 2020 las exportaciones de carne de ave aumentarán de 290 mil a 630 mil toneladas, o sea un 217%. Conforme a estas cifras, Argentina se ubicaría en el sexto lugar entre los exportadores mundiales de carne de ave (Gutiérrez, 2011).

Por otra parte, en la actualidad los consumidores están interesados en mejorar su salud y abastecerse de productos inocuos, lo cual crea la necesidad de contar con productos que cumplan con estos requerimientos. La Argentina durante años ha sido reconocida a nivel mundial por ser un gran productor de carne vacuna. A lo que se suma el sector avícola, el cual ha realizado un arduo trabajo para posicionarse a nivel nacional e internacional, todo esto gracias a una muy buena organización, generando un producto de gran calidad, con alto valor nutricional y a un precio asequible (Gutiérrez, 2011).

## **El uso de antibióticos en la producción de aves**

Los antibióticos son compuestos diversos que se presentan en forma sintética y también en forma natural. El mecanismo de acción de los antibióticos sobre la salud y la nutrición de los animales es variado y complejo, dependiendo en gran medida de su consumo y de su origen. Existe una serie de antibióticos que, dado el tamaño de sus moléculas, no se absorben y actúan principalmente en el intestino. Se sabe que estos no son efectivos en animales “libres de gérmenes”, ya que su efecto se basa en la interacción con la microbiota intestinal (Dabiri *et al.*, 2009).

Existe amplia información sobre los efectos de los APC en nutrición avícola (Dibner & Richards, 2005; Gustafson & Bowen, 1997; Hughes & Heritage, 2001). El mecanismo de acción de todos los APC es por inhibición del crecimiento bacteriano en el intestino, incluyendo flora benéfica y patógena. No obstante, en condiciones intensivas, donde se genera un desafío constante a nivel intestinal, resulta útil el empleo de estos APC.

La actividad terapéutica de los APC es muy baja o nula, por lo que, poco sirven si se declara en la remesa alguna de las enfermedades infecciosas o parasitarias más clásicas en patología aviar; su acción antimicrobiana se dirige especialmente a las bacterias Gram +, entre ellas *Clostridium spp.*, por esta razón está claro que juegan un papel importante en la prevención de patologías intestinales (Hillman, 2001; Mead, 2004).

A pesar de los efectos benéficos de los APC, la Unión Europea decidió en 2006 prohibir el uso de estos, los motivos que lo han justificado se basan en la posible selección de bacterias resistentes a los antibióticos y en la transmisión a otras de los genes que determinan dichas resistencias. La aparición de bacterias resistentes a los antibióticos es un proceso complejo que comprende distintos mecanismos (Schwarz *et al.*, 2002), y es una consecuencia inevitable de su uso terapéutico o subterapéutico. No obstante, hasta hoy no se ha establecido claramente una relación directa entre el uso de APC y aumento de resistencias bacterianas a los antibióticos (Bywater, 2005; Cepero Briz, 2005).

Los únicos antibióticos permitidos son la monensina y la salinomicina como coccidiostatos (Cepero Briz, 2005).

## **Alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento**

Debido a la prohibición de los APC, tanto en Europa como en el resto del mundo, han aparecido en el mercado una serie de productos de origen natural que podrían sustituir sus efectos, minimizando el riesgo de la presencia de residuos tanto en la carne, como en huevos.

Las alternativas son:

**Ácidos orgánicos:** Son constituyentes naturales de los tejidos de plantas y animales producidos por la fermentación microbiana de los carbohidratos. Su acción consiste en limitar el crecimiento de microorganismos patógenos, tanto en el alimento como en el tracto gastrointestinal. Adicionalmente son utilizados en el metabolismo intermedio como fuente de energía (Piva *et al.*, 2002).

**Extractos vegetales o agentes fitogénicos:** en este grupo se encuentran polifenoles (tales como taninos, ligninas y flavonoides) y aceites esenciales, que tienen propiedades anti-fúngicas y antioxidantes, otorgándole una gran capacidad de conservación de los alimentos.

**Enzimas alimenticias:** de origen fúngico y bacteriano que pueden clasificarse en: Carbohidrasas, mejoran la digestibilidad de los almidones y de los polisacáridos no amiláceos de los cereales; Proteasas, favorecen la digestibilidad de las proteínas; Fitasas, que liberan el fósforo fítico presente en los ingredientes; Lipasas, que ayudan a la digestión de los lípidos.

**Prebióticos:** fragmentos pequeños de carbohidratos no digeribles, que son producidos por bacterias intestinales. Actúan como suplementos alimenticios no digeribles que benefician al animal por estimulación selectiva del crecimiento de bacterias benéficas del tracto digestivo.

**Probióticos:** son microorganismos vivos, no patógenos, seleccionados a partir de la microflora normal de las aves, que suministrados en cantidades

adecuadas, producen efectos benéficos para el huésped. Entre los más usados en se encuentran: bacilos y levaduras.

También existen sustancias con actividad antibiótica que no entran en esta clasificación, como son los minerales, tales como el óxido de zinc y el cobre en sus variantes citrato, sulfato y tribásico.

## El cobre

El Cobre Tribásico,  $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ , es una fuente inorgánica e insoluble en agua que aporta 58% de ion Cu. Posee una baja interacción con otros minerales y vitaminas por lo que resulta ser menos agresivo. Es más biodisponible y, en consecuencia, más amigables con el medio ambiente (Miles *et al.*, 1998). Al no absorber agua atmosférica no varía su contenido de Cu por hidratación y no se agruma. Además de emplearse como fuente de Cu, existen antecedentes de su uso como promotor de crecimiento en nutrición animal (Hill *et al.*, 2000; Skrivan *et al.*, 2000) dado que al usarlo en altas dosis en el alimento disminuye la actividad de las bacterias patógenas (Højberg *et al.*, 2005).

Los cationes bivalentes de ion zinc ( $\text{Zn}^{++}$ ) y cobre ( $\text{Cu}^{++}$ ) parecen tener afinidad con los lugares vinculantes a *E. coli* como la glicoproteína y el glipolípido de la pared intestinal, quienes presentan cargas negativas. De esta manera *E. coli* no puede encontrarse con ningún tipo de unión para adherirse, penetrar y generar toxicidad en el tejido en cuestión (Højberg *et al.*, 2005)

# OBJETIVOS

## Generales

Evaluar el efecto de la inclusión de Cobre Tribásico de dos orígenes en la dieta de pollos parrilleros.

## Específicos

- Evaluar el efecto de la inclusión de un CTB de origen nacional y otro de origen importado (EEUU) sobre el desempeño zootécnico de las aves.
- Evaluar el efecto de la inclusión de un CTB de origen nacional y otro de origen norteamericano sobre los parámetros histopatológicos e histomorfométricos.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Instalaciones y aves

La prueba se llevó a cabo en las instalaciones del Sector Avicultura del INTA – EEA Pergamino, que cuenta con galpones abiertos con control ambiental automático.

Se utilizaron 756 pollos machos de la línea Cobb-500, provenientes de un plantel de reproductores de la empresa “Granja Tres Arroyos”, los que fueron alojados a piso sobre cama de viruta, en corrales de 1 m x 1,5 m, con una densidad de 14 aves /m<sup>2</sup>.

Al ingreso, las aves fueron pesadas individualmente y organizadas en categorías de un gramo en un gramo para luego distribuirlas en los lotes respetando la distribución de pesos de la población original.

## Tratamientos

Se evaluaron 4 tratamientos (En este tipo de estudios es necesario generar condiciones de desafío que afecten, en alguna medida, el desempeño de las aves para poder poner en evidencia el efecto benéfico del producto evaluado. Como parte del modelo, a una misma dieta basal se adiciona un APC (Control positivo) y como Control negativo se utiliza la misma dieta sin ningún agregado. Es condición necesaria que se encuentren diferencias en el desempeño de las ave a favor del Control positivo para luego poder validar la eficacia o no del aditivo evaluado como alternativa a los APC.

) con 9 repeticiones de 21 aves cada una, distribuidos en un diseño en bloques completos aleatorizados, el lote fue considerado la unidad experimental.

**Tabla 1.- Tratamientos**

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>
<b>1.- Control +</b>	Basal, con APC; dosis según Tabla 2
<b>2.- Control -</b>	Basal sin APC
<b>3.- CTB Nac.</b>	Basal con CTB nacional, 125 ppm*
<b>4.- CTB Imp.</b>	Basal con CTB importado, 125 ppm*

\* Equivalente a 215,5 ppm de producto comercial.

En este tipo de estudios es necesario generar condiciones de desafío que afecten, en alguna medida, el desempeño de las aves para poder poner en evidencia el efecto benéfico del producto evaluado. Como parte del modelo, a una misma dieta basal se adiciona un APC (Control positivo) y como Control negativo se utiliza la misma dieta sin ningún agregado. Es condición necesaria que se encuentren diferencias en el desempeño de las ave a favor del Control positivo para luego poder validar la eficacia o no del aditivo evaluado como alternativa a los APC.

Los productos alternativos a los APC empleados fueron CTB nacional y CTB importado, con un contenido de Cu elemento del 58%.

El plan de alimentación fue: Iniciador (1 - 8 días), Crecimiento (9 - 22 días), y Terminador (23 - 36 días). La dosis de los APC varió según la fase de alimentación, no así la dosis de CTB que se fijó en 125 ppm en todas las fases.

**Tabla 2.- Dosis de antibióticos promotores de crecimiento**

Etapa	Bacitracina Zn 15%	Colistina
	g/tn	g/tn
<b>1 a 8 días</b>	750	40
<b>9 a 22 días</b>	600	30
<b>23 a 36 días</b>	500	25

Las dietas Control fueron formuladas en base a las recomendaciones Cobb (2008), utilizando el software N-utrition<sup>®</sup> 2.0 (DAPP, 2003), con la salvedad que no se incluyó lisina ni treonina sintéticas y se redujo el agregado de metionina hasta alcanzar el 80% del valor recomendado de metionina+cistina (Tabla 3). Al reducir los aportes de aminoácidos se estaría en una zona de mayor respuesta ante cualquier cambio en la absorción de nutrientes (ley de rendimientos decrecientes). Las dietas fueron elaboradas en INTA, y suministradas a las aves en forma de harina. Para incrementar el desafío se utilizó poroto de soja extrusado con un nivel de inhibidores de tripsina de 10 UTI/mg, valor superior al encontrado en harinas de soja (3 a 4 UTI/mg, Azcona *et al.*, 2007). De este modo se generaría mayor presencia de alimento sin digerir en el último tramo del tracto digestivo, dejando sustrato disponible para el crecimiento de las bacterias.

**Tabla 3.- Composición y aportes nutricionales de las dietas**

Ingredientes (%)	Edad (días)		
	1-8	9-22	23-36
<b>Maíz</b>	62,05	67,18	68,11
<b>Soja extrusada</b>	4,00	6,30	13,91
<b>Soja harina (45% PC)</b>	26,51	19,33	11,27
<b>Conchilla</b>	0,43	0,43	0,41
<b>Carne Harina (40-45% PC)</b>	6,34	6,15	5,73
<b>Premix*</b>	0,20	0,20	0,15
<b>Sal</b>	0,38	0,31	0,32
<b>DL-Metionina</b>	0,04	0,05	0,06
<b>Colina HCl 60%</b>	0,05	0,05	0,03
<b>Nutrientes (%)</b>			
<b>Proteína</b>	20,84	18,33	17,83
<b>Lípidos</b>	4,32	4,76	5,76
<b>Ca</b>	1,00	0,96	0,90
<b>Fósforo total</b>	0,73	0,70	0,67
<b>Fósforo disponible</b>	0,50	0,48	0,45
<b>EMA (kcal/kg)</b>	3015	3079	3161
<b>EMV Aves (kcal/kg)</b>	3259	3330	3423
<b>Lisina</b>	1,099	0,967	0,927
<b>Met +Cis</b>	0,704	0,657	0,643
<b>Triptófano</b>	0,234	0,204	0,190
<b>Treonina</b>	0,791	0,711	0,680
<b>Arginina</b>	1,405	1,252	1,200
<b>Metionina dig.</b>	0,362	0,346	0,347
<b>Arginina dig.</b>	1,331	1,185	1,142
<b>Lisina dig.</b>			
<b>Recomendada</b>	1,080	0,990	0,950
<b>Calculada</b>	1,010	0,889	0,853
<b>Diferencia (%)</b>	<b>-6,5</b>	<b>-10,2</b>	<b>-10,2</b>
<b>Met +Cis dig.</b>			
<b>Recomendada</b>	0,800	0,750	0,740
<b>Calculada</b>	0,640	0,600	0,592
<b>Diferencia (%)</b>	<b>-20</b>	<b>-20</b>	<b>-20</b>
<b>Treonina dig.</b>			
<b>Recomendada</b>	0,696	0,653	0,633
<b>Calculada</b>	0,696	0,623	0,592
<b>Diferencia (%)</b>	<b>=</b>	<b>-4,6</b>	<b>-6,5</b>

Al tercer día las aves fueron infectadas con 250.000 ooquistes por ave de cada especie de coccidia (*Eimeria acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella*) en el

agua de bebida (bebedero invertido) para luego comenzar a utilizar la línea de bebederos de tipo nipple.

A su vez, no se incluyó coccidiostato en el alimento para que se manifieste el desafío con coccidias.

Se reutilizó cama de crías anteriores y, para favorecer el desarrollo de bacterias, se roció la cama con 500 ml de agua por corral día por medio, mientras las campanas permanecieron encendidas.

Desde los 7 hasta los 28 días de vida se incorporó al alimento 0,1% de una solución de *E. coli* con  $10^9$  UFC/ml.

## Mediciones

**Consumo de alimento:** Por lote y semanal, considerando ave-día para corregir la mortalidad.

**Peso corporal:** Individual (promedio de lote) y semanal.

**Conversión:** Por lote en base semanal y en forma acumulada.

**Peso/conversión:** como una simplificación del factor de eficiencia productiva europeo.

**Mortalidad:** Diaria.

**Histopatología e histomorfometría intestinal:** A los 15 días de vida se realizó la histopatología e histomorfometría de duodeno en la facultad de Veterinaria de la UBA. Estos análisis se llevaron a cabo en 6 aves por

tratamiento sobre una porción del intestino de aproximadamente 5 mm ubicada a 1 cm posterior a flexura duodenal. Las muestras fueron fijadas en formol al 10% y teñidas con hematoxilina y eosina. El estudio histopatológico de duodeno consistió en analizar cualitativamente (escala 0 a 3) la pérdida de integridad de la mucosa, presencia de folículos linfoides, presencia de edema o inflamación, exfoliación, anomalías musculares, anomalías de la serosa, células caliciformes y presencias de coccidios. El estudio histomorfométrico consistió de medir la profundidad de las criptas (líneas rojas), la longitud de las vellosidades (líneas negras) y la relación entre ambos parámetros.

**Histopatología hepática:** De los mismos animales sacrificados para histomorfometría intestinal se retiró el hígado para estudios histopatológicos. Los mismos fueron fijados en formol al 10% y teñidos con hematoxilina y eosina. Los parámetros cualitativos (escala 0 a 3) que se evaluaron fueron degeneración vacuolar, necrosis, inflamación, proliferación biliar, megalocitosis, hemorragia, esteatosis y fibrosis.

## **Análisis estadístico**

Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza de dos vías para datos zootécnicos y de una vía para los datos histomorfométricos. Cuando la probabilidad fue igual o menor a 0,05 se procedió a la separación de medias utilizando la prueba de rangos múltiples de Duncan (Di Renzo *et al.*, 2012).

# RESULTADOS

## Datos zootécnicos

En las Tablas 4 a la 8 se presentan los resultados zootécnicos.

**Tabla 4.- Consumo (gramos)**

Tratamientos	Edad (días)				
	8	15	22	29	36
1.- Control +	136	482 <sup>a</sup>	1134 <sup>a</sup>	2069 <sup>a</sup>	3294
2.- Control -	130	456 <sup>c</sup>	1079 <sup>b</sup>	1994 <sup>b</sup>	3200
3.- CTB Nac.	135	467 <sup>b</sup>	1110 <sup>a</sup>	2034 <sup>ab</sup>	3253
4.- CTB Imp.	134	466 <sup>b</sup>	1111 <sup>a</sup>	2039 <sup>ab</sup>	3257
Probabilidad	0,16	<0,01	<0,01	0,03	0,08
CV (%)	2,0	1,8	2,2	2,5	2,2

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Las aves del Control negativo consumieron menos alimento que aquellas de Control positivo, con diferencias significativas entre los 15 y 29 días de vida ( $p < 0,05$ ), y con la misma tendencia a los 36 ( $p < 0,10$ ).

Los tratamientos con Cobre Tribásico, tanto CTB nacional como importado presentaron consumos intermedios; difiriendo significativamente de ambos controles a los 15 días y solo del control negativo a los 22 días, para el caso del CTB nacional ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 5.-** Peso (gramos)

Tratamientos	Edad (días)				
	8	15	22	29	36
1.- Control +	152 <sup>a</sup>	371 <sup>a</sup>	764 <sup>a</sup>	1261 <sup>a</sup>	1845 <sup>a</sup>
2.- Control -	144 <sup>c</sup>	342 <sup>c</sup>	710 <sup>b</sup>	1204 <sup>b</sup>	1766 <sup>b</sup>
3.- CTB Nac.	148 <sup>b</sup>	362 <sup>b</sup>	752 <sup>a</sup>	1250 <sup>a</sup>	1807 <sup>ab</sup>
4.- CTB Imp.	147 <sup>b</sup>	357 <sup>b</sup>	750 <sup>a</sup>	1236 <sup>ab</sup>	1787 <sup>b</sup>
Probabilidad	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
CV (%)	1,1	1,9	2,9	2,9	2,5

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Las aves del Control negativo pesaron menos que aquellas de Control positivo, con diferencias significativas a lo largo de toda la experiencia ( $p < 0,05$ ).

Los tratamientos con CTB, tanto nacional como importado presentaron pesos intermedios; difiriendo de ambos controles a los 8 y 15 días de vida y solo del control negativo a los 22 días ( $p < 0,05$ ). A los 29 días, el CTB nacional se diferenció del Control negativo ( $p < 0,05$ ) y se pareció al positivo, mientras que el CTB importado no se diferenció de ningún Control. En tanto que a los 36 días el CTB importado presentó peso similar al Control negativo y el CTB nacional no se logró diferenciar de ninguno de los dos Controles.

**Tabla 6.-** Conversión

Tratamientos	Edad (días)				
	8	15	22	29	36
1.- Control +	0,895	1,300 <sup>b</sup>	1,485 <sup>b</sup>	1,641	1,785 <sup>b</sup>
2.- Control -	0,906	1,331 <sup>a</sup>	1,521 <sup>a</sup>	1,657	1,813 <sup>a</sup>
3.- CTB Nac.	0,912	1,288 <sup>b</sup>	1,477 <sup>b</sup>	1,628	1,801 <sup>ab</sup>
4.- CTB Imp.	0,914	1,305 <sup>b</sup>	1,483 <sup>b</sup>	1,650	1,823 <sup>a</sup>
Probabilidad	0,58	<0,01	<0,01	0,15	<0,01
CV (%)	1,9	1,9	1,5	1,6	1,2

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

El Control negativo presentó peor conversión que el positivo a lo largo de toda la experiencia, con diferencias significativas a los 15, 22 y 36 días de vida ( $p < 0,05$ ).

Ambos CTB presentaron mejor conversión que el Control negativo a los 15 y 22 días ( $p < 0,05$ ), con valores semejantes a los del Control positivo. A los 36 días de vida, el CTB importado no presentó diferencias del Control negativo, mientras que el CTB nacional, presentó valores intermedios.

**Tabla 7.-** Peso/Conversión

Tratamientos	Edad (días)				
	8	15	22	29	36
1.- Control +	170 <sup>a</sup>	285 <sup>a</sup>	515 <sup>a</sup>	769 <sup>a</sup>	1034 <sup>a</sup>
2.- Control -	159 <sup>b</sup>	257 <sup>b</sup>	467 <sup>b</sup>	727 <sup>b</sup>	974 <sup>b</sup>
3.- CTB Nac.	162 <sup>ab</sup>	281 <sup>ab</sup>	509 <sup>a</sup>	768 <sup>a</sup>	1004 <sup>ab</sup>
4.- CTB Imp.	161 <sup>b</sup>	274 <sup>b</sup>	506 <sup>a</sup>	750 <sup>ab</sup>	981 <sup>b</sup>
Probabilidad	0,05	<0,01	<0,01	0,02	<0,01
CV (%)	2,4	3,2	4	3,9	3,3

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a Peso/Conversión, el Control negativo siempre resultó ser inferior que el Control positivo con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) a lo largo de toda la prueba ( $p < 0,05$ ).

Los tratamientos con CTB se diferenciaron del control negativo a los 22 días de vida ( $p < 0,05$ ), en el caso del CTB nacional, también se halló diferencia significativa a los 29 días ( $p < 0,05$ ). A los 36 días el CTB nacional presentó un valor intermedio, no logrando diferenciarse de ninguno de los Controles,

mientras que el CTB importado presentó un valor semejante al Control negativo.

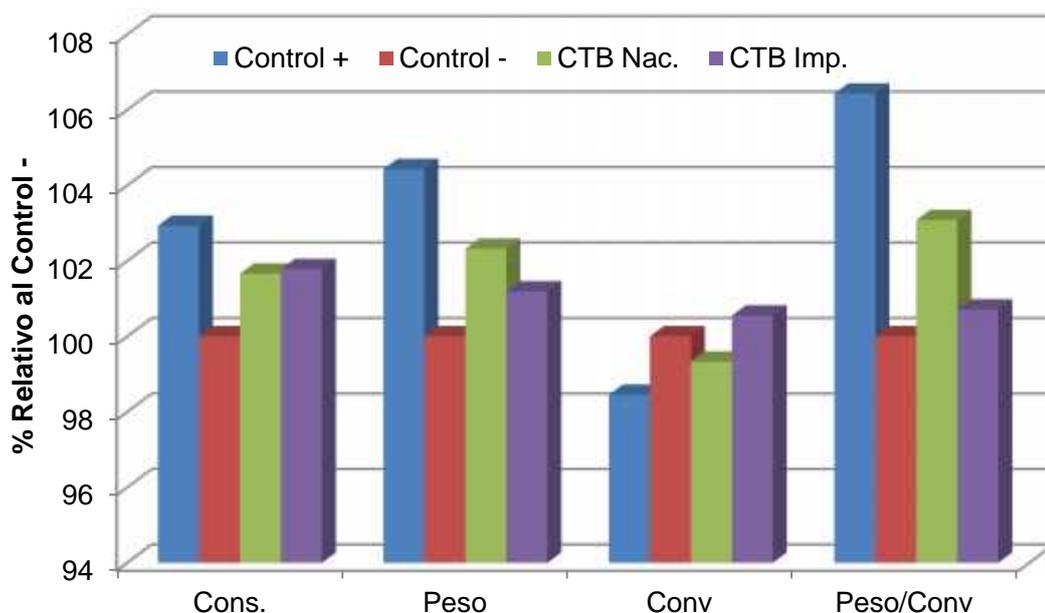
**Tabla 8.-** Edad a 2800 gramos (días)

Tratamientos	Edad
1.- Control +	46,55
2.- Control -	47,13
3.- CTB Nac.	47,05
4.- CTB Imp.	47,17
Probabilidad	0,39
CV (%)	1,8

No se encontraron diferencias entre tratamientos en la edad para alcanzar los 2,8 kg de peso vivo.

En la Figura 1, se muestra un resumen de los parámetros zootécnicos a los 36 días de ensayo considerando al Control negativo como 100%.

**Figura 1.-** Resumen de resultados zootécnicos a los 36 días (Control -: 100%)



## Histopatología e histomorfometría

En la Tabla 9 se detalla las frecuencias de las observaciones de edema y resultados del análisis histomorfométrico de duodeno.

**Tabla 9.-** Histopatología e histomorfometría de duodeno

Tratamientos	Edema	Vellosidad	Cripta	Vellos./Cripta
		$\mu\text{m}$		
1.- Control +	0,11	3155 <sup>bc</sup>	172,1 <sup>b</sup>	18,53 <sup>a</sup>
2.- Control -	0,00	3473 <sup>ab</sup>	286,3 <sup>a</sup>	12,27 <sup>b</sup>
3.- CTB Nac.	0,42	3682 <sup>a</sup>	256,2 <sup>a</sup>	14,85 <sup>b</sup>
4.- CTB Imp.	0,14	2784 <sup>c</sup>	195,6 <sup>b</sup>	14,72 <sup>b</sup>
Probabilidad	ND	<0,01	<0,01	<0,01
CV (%)	ND	12,5	20,6	18,8

Medias en una misma columna con distinta letra difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

En la histopatología se observó leve edema en el tratamiento con CTB nacional.

En la histomorfometría, el Control negativo presentó mayor profundidad de cripta que el Control positivo, con una relación vellosidad/cripta más baja ( $p < 0,05$ ).

El tratamiento con CTB nacional presentó vellosidades más largas que el Control positivo y el CTB importado, pero también presentó gran profundidad de criptas, por lo que la relación vellosidad/cripta fue similar a la del Control negativo. Por su parte, el tratamiento con CTB importado presentó las vellosidades más cortas (Tabla 9).

En el estudio histopatológico de hígado (Tabla 10) solo se observó degeneración vacuolar de leve a moderada en algunas aves.

**Tabla 10.-** Degeneración vacuolar en hígado

<b>Tratamientos</b>	<b>Deg. Vacuolar</b>
<b>1.- Control +</b>	0,33
<b>2.- Control -</b>	0,00
<b>3.- CTB Nac.</b>	0,20
<b>4.- CTB Imp.</b>	0,33
Probabilidad	ND
CV (%)	ND

El Control negativo presentó ausencia de lesión seguido por el tratamiento con CTB nacional. En los tratamientos Control positivo y CTB importado se encontraron lesiones de degeneración vacuolar con características semejantes. En todos los casos se observó degeneración vacuolar de los hepatocitos.

# DISCUSIÓN

## Consumo

El Consumo del Control negativo fue menor que el del Control positivo, lo que valida el modelo experimental de desafío utilizado.

Los tratamientos con CTB, tanto nacional como importado presentaron consumos intermedios numéricamente, pero iguales estadísticamente al Control positivo (Tabla 4). Dichos resultados fueron similares a los hallados por diversos autores al comparar el CTB con APCs (Arias & Koutsos, 2006; Hosamani *et al.*, 2004; Miles *et al.*, 2006; Pesti & Bakalli, 1996; Zea & Vilches, 2014). La magnitud del efecto de CTB depende del desafío microbiano que hayan sufrido las aves (Arias & Koutsos, 2006) y la mejora podría explicarse por la limitación en el crecimiento de microorganismos, dado que el Cu disminuye en pH del tracto digestivo limitando el desarrollo de los agentes patógenos. (Piva *et al.*, 2002).

## Peso

Al igual que el consumo, el peso del Control negativo fue menor que el del Control positivo, validando el modelo experimental.

Los tratamientos con CTB, tanto nacional como importado presentaron pesos intermedios (Tabla 5). Este resultado concuerda con otros experimentos realizados (Arias & Koutsos, 2006; Hosamani *et al.*, 2004; Miles *et al.*, 2006; Skrivan *et al.*, 2000; Teo & Tan, 2006), mientras que otros autores no

encontraron diferencias al usar CTB (Guo *et al.*, 2001; Zea & Vilches, 2014). Aquellos que encontraron mejoras en el peso, las atribuyen a una reducción en la carga bacteriana intestinal, adelgazamiento de la mucosa y una mayor superficie para la absorción de nutrientes (Shivakumar, 2001); al limitar el desarrollo bacteriano se reduce la utilización de aminoácidos por parte de estos, dejando así más aminoácidos disponibles para el crecimiento del ave. A su vez, bacterias que fermentan aminoácidos, producen sustancias como amonio, aminas, fenoles e índoles que limitan la renovación celular intestinal y el crecimiento del animal (Gaskins *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 1998; Markovic *et al.*, 2009).

## Conversión alimenticia

La Conversión del Control negativo fue mayor que la del Control positivo, lo que valida el modelo experimental propuesto.

En general, ambos CTB presentaron mejor conversión que el Control negativo y valores semejantes a los del Control positivo (Tabla 6). Estos datos concuerdan con los de otros autores (Hosamani *et al.*, 2004; Miles *et al.*, 2006; Pesti & Bakalli, 1996; Zea & Vilches, 2014), mientras que en otra experiencia (Miles *et al.*, 1998), no se encontraron mejoras en conversión. La mejora en conversión se puede explicar por la disminución en la competencia por los nutrientes entre la microbiota nativa y patógena, así como por la disminución de metabolitos microbianos que afectan el crecimiento (Gaskins *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 1998; Markovic *et al.*, 2009; Shivakumar, 2001). Otro efecto beneficioso del control del crecimiento microbiano se ve en la digestión de las grasas, dado

que muchas bacterias degradan las sales biliares necesarias para su emulsión en la luz intestinal (Gaskins *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 1998; Markovic *et al.*, 2009).

## **Relación peso/conversión**

La relación peso/conversión del Control negativo siempre resultó ser inferior que el Control positivo.

Los tratamientos con CTB se diferenciaron del Control negativo hasta los 22 días de vida con el CTB importado, mientras esta ventaja se observó hasta los 29 días con el CTB nacional. Esto podría explicarse por un mejor uso de los nutrientes, reducción en la población de bacterias perjudiciales del epitelio intestinal y mejor salud intestinal, favoreciendo el correcto funcionamiento del intestino y minimizando los efectos negativos de bacterias potencialmente patógenas (Granados-Principal *et al.*, 2010).

## **Histopatología e histomorfometría de duodeno**

En la histopatología se observó leve edema en el tratamiento con CTB nacional (Tabla 9).

En la histomorfometría (Tabla 9), el Control negativo presentó mayor profundidad de cripta que el Control positivo, con una relación vellosidad/cripta más baja. El tratamiento con CTB nacional presentó vellosidades más largas que el Control positivo y el CTB importado al igual que Zea & Vilches (2014), lo cual explicaría una mayor absorción de nutrientes; no obstante, también presentó gran profundidad de criptas, por lo que la relación vellosidad/cripta fue similar a la del Control negativo, afectando la conversión del ave a edades

mayores (36 días de vida) por el incremento en las necesidades metabólicas del intestino (Miles *et al.*, 2006; Choct, 2009). Por su parte, el tratamiento con CTB importado presentó las vellosidades más cortas, razón por la cual, la absorción de nutrientes pudo haberse afectado negativamente, sin embargo esto no se reflejó en los parámetros zootécnicos, por lo menos hasta los 29 días de vida.

En el estudio histopatológico de hígado solo se observó degeneración vacuolar de leve a moderada en algunas aves de todos los tratamientos, excepto en el Control negativo (Tabla 10). En todos los casos la degeneración vacuolar de los hepatocitos.

# CONCLUSIONES

## Modelo

El modelo experimental de desafío permitió encontrar diferencias entre el Control positivo y el Control negativo en parámetros zootécnicos e histopatológicos de intestino.

## Cobre Tribásico

En función de los resultados zootécnicos obtenidos, ambas fuentes de CTB (a 125 ppm de Cu elemento) se podrían usar como una alternativa al uso de los APC, siendo el efecto del CTB nacional más evidente a lo largo de toda la prueba.

# BIBLIOGRAFÍA

- Arias VJ & Koutsos EA. 2006. Effects of copper source and level on intestinal physiology and growth of broiler chickens. *Poultry Science*, 85: 999-1007.
- Azcona JO, Iglesias BF, Morao LR, Schang MJ. 2007. Composición de ingredientes argentinos: maíz y soja. I Congreso Argentino de Nutrición Animal. Cámara Argentina de Empresas de Nutrición Animal. Parque Norte - Buenos Aires: CAENA.
- Bywater RJ. 2005. Identification and surveillance of antimicrobial resistance dissemination in animal production. *Poultry Science*, 84: 644-648.
- Cepero Briz R. 2005. Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la Unión Europea: Causas y consecuencias. On line: [http://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/24\\_01\\_30\\_MEXICO05-RCB.pdf](http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/24_01_30_MEXICO05-RCB.pdf). Acceso: 11 de febrero de 2015.
- Choct M. 2009. Managing gut health through nutrition. *British Poultry Science*, 50(1): 9-15.
- Cobb. 2008. Suplemento informativo de rendimiento y nutrición del pollo de engorde. Cobb-500. On line: <http://www.cobb-vantress.com>. Acceso: 20-dic-2013.
- Dabiri N, Ashayeizadeh A, Ashayeizadeh O, Mizadeh KH, Roshanfekar H, Bojapour M, Ghorbani MR. 2009 .Comparison effects of several growth promotants stimulating additives on performance responses and microbial

population in crop and ileum of broiler chickens on their 21th day of life. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8: 1509-1515.

DAPP. 2003. [software de formulación]. N-utrition 2.0. Colón, Entre Ríos, Argentina.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2012. [software estadístico]. InfoStat. Córdoba, Argentina.

Dibner JJ & Richards JD. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poultry Science*, 84: 634-643.

El Sitio Avícola. 2013. Situación mundial y comercio avícola en 2013. On line: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2393/situacion-mundial-de-produccion-y-comercio-avicola-en-2013/>. Acceso: 17-ene-2015.

Gaskins HR, Collier CT, Anderson DB. 2002. Antibiotics as growth promotants: Mode of action. *Animal Biotechnology*, 13: 29-42.

Granados-Principal S, Quiles JL, Ramírez-Tortosa CL, Sánchez-Rovira P, Ramírez-Tortosa MC. 2010. Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition Reviews*, 68(4): 191-206.

Guo R, Henry PR, Holwenda RA, Cao J, Little RC, Miles RD, Ammerman CB. 2001. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic copper sources for poultry. *Journal of Animal Science*, 79: 1132-1141.

Gustafson RH & Bowen RE. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 531-541.

- Gutiérrez MA. 2011. Impactante crecimiento exportador de la industria avícola argentina para el 2020. Online: [http://www.wattagnet.com/Prev%C3%A9n\\_impactante\\_crecimiento\\_exportador\\_de\\_la\\_industria\\_av%C3%ADcola\\_argentina\\_para\\_el\\_2020.html](http://www.wattagnet.com/Prev%C3%A9n_impactante_crecimiento_exportador_de_la_industria_av%C3%ADcola_argentina_para_el_2020.html). Acceso: 12-feb-2015.
- Hill GM, Cromwell GL, Crenshaw TD, Dove CR, Ewan RC, Knabe DA, Lewis AJ, Libal GW, Mahan DC, Shurson GC, Southern LL, Veum TL. 2000. Growth promotion effects and plasma changes from feeding high dietary concentrations of zinc and copper to weanling pigs (regional study). *Journal of Animal Science*, 78: 1010-1016.
- Hillman K. 2001. Bacteriological aspects of the use of antibiotics and their alternatives in the feed of non-ruminant animals. En: Recent advances in animal nutrition, Gainswothy PC & Wiseman J (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 107-134.
- Højberg O, Canibe N, Poulsen HD, Hedemann MS, Jensen BB. 2005. Influence of dietary zinc oxide and copper sulfate on the gastrointestinal ecosystem in newly weaned piglets. *Applied and environmental microbiology*, 71(5): 2267-2277.
- Hosamani SV, Shivakumar MC, Kulkarni VS, Patil NA. 2004. Influence of feed additives on performance of broilers. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 17(4): 791-793.

- Hughes P & Heritage J. 2001. Antibiotic growth-promoters in food animals. On line: [http://www.fao.org/docrep/article/agrippa/555\\_en.htm](http://www.fao.org/docrep/article/agrippa/555_en.htm). Acceso: 1-jul-2015.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. 1998. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing lactobacillus cultures. *Poultry Science*, 77: 1259-1265.
- MAGyP, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. 2015 *Boletín Avícola: Anuario 2014*, n°74. 26 pp.
- Markovic R, Sefer D, Krstic M, Petrujkic B. 2009. Effects of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41: 163-169.
- Mead GC. 2004. Manipulación de la biota intestinal para evitar patógenos alimentarios en productos avícolas. Proc.: XLI Simp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA. Barcelona, España. Pp. 41-52.
- Miles RD, Butcher GD, Henry PR, Litell RC. 2006. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. *Poultry Science*, 85: 746-485.
- Miles RD, O'Keefe SF, Henry PR, Ammerman CB, Luo XG. 1998. The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance, relative copper bioavailability, and dietary prooxidant activity. *Poultry Science*, 77: 416-425.

- Pesti GM & Bakalli RI. 1996. Studies on the feeding of cupric sulfate pentahydrate and cupric citrate to broiler chickens. *Poultry Science*, 75: 1086-1091.
- Piva A, Casadei G, Biagi G. 2002. An organic acid blend can modulate swine intestinal fermentation and reduce microbial proteolysis. *Canadian Journal of Animal Science*, 82: 527-532.
- Schwarz S, Kehrenberg C, Chaslus-Dancla E. 2002. Antimicrobial resistance in bacteria from poultry: Resistance genes and their ways of spreading. Proc.: 11th European Poultry Conference. Bremen, Alemania.
- Shivakumar MC, Umakantha B, Devegouda G. 2001. Effect of Virginiamycin on performance of broilers fed different levels of protein and energy. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 14(3): 749-753.
- Skrivan M, Skrivanova V, Marounek M, Tumova E, Wolf J. 2000. Influence of dietary fat source and copper supplementation on broiler performance, fatty acid profile of meat and depot fat, and on cholesterol content in meat. *British Poultry Science*, 41: 608-614.
- Teo AYL & Tan HM. 2006. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 15(2): 229-235.
- Zea MO & Vilchez PC. 2014. Efecto de la suplementación con fuentes de cobre sobre el comportamiento productivo, morfometría intestinal y nivel de

cobre hepático en pollos de carne. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25: 16-28.