



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TRABAJO DE TITULACIÓN

**Previo a la Obtención del Título de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

MODALIDAD

INVESTIGACIÓN DIAGNÓSTICA

TEMA:

**Efecto de la suplementación de aceite esencial de orégano
(*Origanum vulgare*) sobre las vellosidades intestinales del duodeno
en pollos de ceba. Estudio morfométrico.**

AUTORES:

Bazurto Vera Valeria Lisseth
Solórzano Macias Cristina Korin

TUTOR:

Dr. Carlos Anibal Bulnes Goicochea, PhD.

SANTA ANA – MANABÍ – ECUADOR

2020

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a Dios por guiar mi camino y ser el inspirador para culminar esta meta profesional. A mi esposo Félix por el apoyo incondicional que me brindó día a día para alcanzar mis metas personales y profesionales, por su amor y paciencia a lo largo de este trayecto. A mi hijo Sebastian por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día. A mis padres Nelly y Eduardo por mostrarme el camino hacia la superación. A mis hermanos Karol y Damián por su cariño y apoyo durante todo este proceso.

Para ustedes este logro con todo mi amor.

Valeria Lisseth Bazurto Vera

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a Wilfrido Solórzano y Nelly Macías, mis padres, quienes estuvieron presente en todas las etapas de mi formación académica, por el apoyo, dedicación, esfuerzo, sacrificios que realizaron para que lleve a cabo mis estudios y especialmente por todo el amor y paciencia que me brindan día a día, siendo los pilares fundamentales de mi vida. A mi hermana Kelly Solórzano, por su cariño, amistad, ánimo y consejos que me proporcionó a lo largo de este camino.

Los amo con mi vida. ♡

Cristina Korin Solórzano Macias

AGRADECIMIENTO

Este trabajo investigativo marca la culminación de un largo camino que inicié hace varios años, en la Universidad Técnica de Manabí a la que agradezco por haberme acogido y abierto las puertas para poder estudiar mi carrera, este camino estuvo lleno de alegrías, crecimiento personal y profesional, de éxitos y tropiezos que formaron la profesional que soy hoy en día.

Expreso mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Carlos Bulnes Goicochea, principal contribuyente en el desarrollo de esta tesis investigativa por su conocimiento, enseñanza y colaboración. Le agradezco por haber confiado en nosotras para llevar a cabo este estudio. Por su paciencia y afecto demostrado.

Agradezco al Dr. Gustavo Campuzano por permitirnos ser partícipe de su trabajo y la predisposición para ayudarnos en la investigación.

Un sincero agradecimiento al Dr. Víctor Montes por su importante aporte a nuestro estudio, al habernos brindado sus conocimientos y guiarnos de manera gentil y paciente. Como también al Dr. Emir Ponce por su apoyo y participación en nuestro trabajo.

Agradezco a todo el cuerpo de docentes que fueron parte de mi preparación durante toda la carrera con su sabiduría, conocimiento y apoyo, me motivaron a desarrollarme como persona y profesional.

Gracias a mi amiga y compañera de tesis Korin, por ser parte de este trayecto, así como también al grupo de compañeros y amigos que siempre estuvimos apoyándonos en cada momento de estudio.

Valeria Lisseth Bazurto Vera

AGRADECIMIENTO

Durante la realización de este trabajo fueron muchas las personas que han contribuido en el proceso y culminación del mismo. En primer lugar, agradezco a mi alma mater que me ha permitido formarme y en ella encontrar personas que marcaron de forma positiva esta etapa.

Un sincero agradecimiento al Dr. Carlos Bulnes, por haber dirigido esta tesis en calidad de tutor y por compartir sin reserva con nosotras sus vastos conocimientos. Al Dr. Gustavo Campuzano junto a la ESPAM-FML, quienes nos acogieron con entusiasmo para formar parte de su trabajo y brindarnos las áreas necesarias a fin de llevar a cabo el estudio; al Dr. Víctor Montes por orientarnos y enseñarnos con mucha paciencia, al Dr. Emir Ponce quién fue partícipe de la culminación de este trabajo y finalmente, pero no menos importante a mi querida amiga y compañera de estudio Valeria Bazarro, a todos ellos mis más sinceros agradecimientos.

Cristina Korin Solórzano Macias

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

**Efecto de la suplementación de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*)
sobre las vellosidades intestinales del duodeno en pollos de ceba.
Estudio morfométrico.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Sometida a consideración del Tribunal de revisión y sustentación, legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del Título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR EL TRIBUNAL

Dr. Edis Macías Rodríguez PhD.

DECANO (E) PRESIDENTE

Dr. Carlos A. Bulnes Goicochea PhD.

TUTOR DE TESIS

Dra. Laura de la Cruz Véliz.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Sixto Reyna Gallegos, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Rolando Romero de Armas, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Las ideas, conclusiones y recomendaciones, así como los resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo, son propiedad exclusiva de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial de este trabajo.

Autoras:

.....
Valeria Bazurto Vera

.....
Cristina Solórzano Macías

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR DE TESIS

Medicina Veterinaria

CARLOS BULNES GOICOCHEA PhD.

CERTIFICO:

Que el trabajo de titulación **“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES DEL DUODENO EN POLLOS DE CEBA. ESTUDIO MORFOMÉTRICO”** es trabajo original de las egresadas **Bazurto Vera Valeria Lisseth** y **Solórzano Macías Cristina Korin**, el cual fue realizado bajo mi dirección.

Dr. Carlos Bulnes Goicochea PhD.

TUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN DE LA COMISIÓN DE REVISIÓN Y EVALUACIÓN

Medicina Veterinaria

Dr. Emir Ponce Ross Mg. Sc.

CERTIFICO:

Que el presente proyecto de titulación “**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) SOBRE LAS VELLOSIDADES INTESTINALES DEL DUODENO EN POLLOS DE CEBA. ESTUDIO MORFOMÉTRICO**” elaborado por **Bazurto Vera Valeria Lisseth** y **Solórzano Macías Cristina Korin**, ha sido exhaustivamente revisada en varias secciones de trabajo, se encuentra lista para su presentación y apta para su defensa.

Dr. Emir Ponce Ross Mg. Sc.

REVISOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR

Nosotras, **Bzurto Vera Valeria Lisseth** y **Solórzano Macías Cristina Korin**; declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración de este trabajo investigativo es de sumo derecho propiedad del autor intelectual de este trabajo.

Bzurto Vera Valeria
AUTORA

Solórzano Macías Cristina
AUTORA

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar mediante estudio morfométrico el efecto de la suplementación de Aceite Esencial de Orégano (AEO) sobre las vellosidades intestinales del duodeno en pollos de ceba, se utilizaron 400 pollos de línea genética Cobb 500 y se muestreó 60 aves los cuales recibieron una suplementación de AEO a razón de 100, 200, 300 ppm respectivamente, estos se compararon en dos grupos controles los cuales estaban compuestos por balanceado + AEO comercial y balanceado + bacitracina. 30 animales fueron sacrificados por el método de electrocución y desangrado a los 21 días de edad y los restantes de 42 días de edad de haber consumido los diferentes tratamientos. Para el estudio macroscópico las muestras se clasificaron según el grado de severidad siendo leve, moderada y grave; se tomaron muestras de regiones del duodeno proximal, medial y distal las que fueron fijadas en formol tamponado al 10% y procesadas por la técnica clásica de inclusión, bloques de parafina y coloreadas con hematoxilina y eosina; para la evaluación histopatológica se tomaron en cuenta el número de vellosidades intactas y los cambios morfológicos presentes; se realizó el estudio morfométrico con la ayuda del software AmScope 3.0. Los resultados se procesaron en el paquete estadístico de R commander y se aplicó ANOVA; se obtuvieron diferencias significativas en la variable ancho proximal del tratamiento con 200 ppm a los 21 días y en la variable profundidad proximal del tratamiento con 300 ppm a los 42 días, además, el mismo grupo con niveles de 200 ppm mostró buen porcentaje de vellosidades intactas. Estos resultados sugieren que el uso de Aceite Esencial de Orégano produce cambios estructurales en los indicadores morfométricos y morfológicos de las vellosidades intestinales del duodeno en pollos de ceba sometidos a esta dieta.

Palabras claves: Antibióticos promotores de crecimiento, aceite esencial de orégano, morfometría, criptas de Lieberkühn, vellosidades, duodeno.

SUMMARY

In order to evaluate the effect of the supplementation of Oregano Essential Oil on the intestinal villi of the duodenum in broiler chickens by morphometric study, 400 chickens of Cobb 500 genetic line were used and 60 birds were sampled which received a AEO supplementation at a rate of 100, 200, 300 ppm respectively, these were compared in two control groups which were composed of balanced + commercial AEO and balanced + bacitracin. 30 animals were sacrificed by the electrocution and bleeding method at 21 days of age and the remaining 42 days of having consumed the different treatments. For the macroscopic study, the samples were classified according to the degree of severity being mild, moderate and severe; Samples were taken from regions of the proximal, medial and distal duodenum which were fixed in 10% buffered formalin and processed by the classical inclusion technique, paraffin blocks and colored with hematoxylin and eosin; for the histopathological evaluation, the number of intact villi and the morphopathological changes present were taken into account; The morphometric study was performed with the help of AmScope 3.0 software. The results were processed in the R commander statistical package and ANOVA was applied; Significant differences were obtained in the proximal width variable of the treatment with 200 ppm at 21 days and in the proximal depth variable of the treatment with 300 ppm at 42 days, in addition, the same group with 200 ppm levels showed a good percentage of intact hairs. These results suggest that the use of Oregano Essential Oil produces structural changes in the morphometric and morphopathological indicators of the intestinal villi of the duodenum in broiler chickens undergoing this diet.

Key Words: Growth promoting antibiotics, oregano essential oil, morphometry, crypts of Lieberkühn, villi, duodenum.

ÍNDICE

I.	TEMA	
II.	INTRODUCCIÓN.....	1
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
IV.	HIPÓTESIS.....	4
V.	ANTECEDENTES.....	5
VI.	JUSTIFICACIÓN.....	6
VII.	OBJETIVOS.....	7
VIII.	MARCO REFERENCIAL.....	8
8.1.	ANATOMÍA - SISTEMA DIGESTIVO DE LAS AVES.....	8
8.2.	DESARROLLO DEL TGI.....	9
8.3.	HISTOLOGÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO.....	9
8.4.	FISIOLOGÍA DEL INTESTINO DELGADO.....	13
8.5.	FISIOPATOLOGÍA.....	16
8.6.	ALTERACIONES MORFOPATOLÓGICAS.....	18
8.7.	USO DE LOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO.....	20
8.9.	ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (<i>Origanum vulgare</i>).....	23
8.10.	MORFOMETRÍA.....	25
IX.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
9.1.	LOCALIZACIÓN.....	26
9.2.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	27
9.3.	MATERIALES.....	28
9.4.	PROCEDIMIENTO.....	30
9.5.	TRABAJO DE CAMPO.....	30

9.7. TRABAJO DE LABORATORIO.....	34
9.8. ESTUDIO MORFOMÉTRICO	34
X. RESULTADOS	37
10.1. RESULTADOS DEL ESTUDIO MORFOMÉTRICO.....	37
10.2. RESULTADOS MORFOPATOLÓGICOS.....	41
XI. DISCUSIÓN.....	46
XII. CONCLUSIONES	49
XIII. RECOMENDACIONES	50
XIV. CRONOGRAMA	51
XV. PRESUPUESTO.....	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de las enzimas secretadas por el intestino delgado	14
Tabla 2. Composición química del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>	24
Tabla 3. Número de aves muestreadas por tratamiento.....	31
Tabla 4. Número de muestras de la porción duodenal por ave.	32
Tabla 5. Resumen de los promedios morfométricos a los 21 días.	39
Tabla 6. Tabla prueba de comparaciones múltiples Dunnett a los 21 días.....	39
Tabla 7. Tabla resumen de los promedios morfométricos a los 42 días.....	40
Tabla 8. Tabla prueba de comparaciones múltiples Dunnett a los 42 días.....	41
Tabla 9. Tratamiento con mayor incidencia de lesiones macroscópicas 21 días.....	41
Tabla 10. Tratamiento con mayor incidencia de lesiones macroscópicas 42 días.....	41
Tabla 11. Porcentaje de vellosidades intactas en la mucosa de pollos de 21 días.....	44
Tabla 12. Porcentaje de vellosidades intactas en la mucosa de pollos de 42 días.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de las vellosidades intestinales.....	35
Figura 2. Medición de las variables.	36
Figura 3. Corte histológico de duodeno de pollos a los 21 días.	37
Figura 4. Corte histológico de duodeno de pollos a los 42 días.	39
Figura 5. Imágenes de alteraciones morfológicas macroscópicas.	42
Figura 6. Imágenes de alteraciones morfológicas microscópicas..	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Aves de 21 días en fase de alimentación.	64
Anexo 2. Aves de 42 días en fase de alimentación.	64
Anexo 3. Proceso de eutanasia de las aves mediante electrocución.	65
Anexo 4. Desangrado posterior a la electrocución.	65
Anexo 5. Exposición del TGI.	66
Anexo 6. Disección del duodeno.	66
Anexo 7. Evaluación macroscópica del duodeno.	67
Anexo 8. Selección de las regiones del duodeno.	67
Anexo 9. Muestra de 1 cm de la porción medial.	68
Anexo 10. Muestras de 21 días en sus respectivos frascos colectores.	68
Anexo 11. Muestras de 42 días en sus respectivos frascos colectores.	69
Anexo 12. Tallado de las muestras.	69
Anexo 13. Observación y toma de fotos de las placas histológicas.	70
Anexo 14. Software AmScope 3.0 empleado para la morfometría.	70
Anexo 15. Tabla de Ingredientes del balanceado.	71
Anexo 16. Tabla de nutrientes del balanceado.	71
Anexo 18. Códigos usados para la rotulación de muestras.	72

GLOSARIO

Antibiótico: medicamentos potentes que combaten las infecciones bacterianas.

Antimicrobiano: Sustancia que elimina o inhibe el crecimiento de microorganismos, tales como bacterias, hongos o parásitos.

Ácidos Orgánicos: Sustancias oleosas encontradas en diferentes plantas.

AEO: Aceite esencial de orégano.

APC: Antibiótico promotor de crecimiento.

Criptas de Lieberkühn: Glándulas tubulares simples que se encuentran entre el intestino delgado y las vellosidades de la pared intestinal.

Enteritis: Cualquier inflamación, aguda o crónica, del intestino delgado. Puede ser de origen isquémico, por radiación (enteritis rádica) o más frecuentemente infecciosa (bacteriana, viral o parasitaria).

Enzima: Proteína soluble producida por las células del organismo, que favorece y regula las reacciones químicas en los seres vivos.

Epitelio: Tejido constituido por células íntimamente unidas, planas o prismáticas, que recubre la superficie externa del cuerpo y de ciertos órganos interiores.

Fisiopatología: Parte de la biología que estudia el funcionamiento de un organismo o de un tejido durante el curso de una enfermedad.

Fitobióticos: sustancias extraídas de los vegetales que se añaden a la alimentación con el fin de mejorar los parámetros productivos en los animales.

Hiperplasia: Aumento anormal de tamaño que sufre un órgano o un tejido orgánico debido al incremento del número de células normales que lo forma.

Hipertrofia: Crecimiento excesivo y anormal de un órgano o de una parte de él debido a un aumento del tamaño de sus células.

Intestino: Porción tubular del aparato digestivo que se extiende desde el estómago hasta el ano y en la cual se completa la digestión de los alimentos y se verifica la absorción de los productos útiles resultantes; en los animales superiores se halla plegado en varias vueltas, dentro de la cavidad abdominal.

Microbiota: conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios de los cuerpos de los seres vivos pluricelulares.

Morfometría: Medición de la forma o estructura de los organismos y sus partes.

Mucosa: Membrana del organismo que elabora una sustancia densa y pegajosa para proteger un órgano o una parte del cuerpo.

Orégano: Planta aromática de tallos vellosos, hojas pequeñas y ovaladas, flores rosadas o malvas, agrupadas en espiga y fruto seco y globoso.

Prebióticos: compuestos que el organismo no puede digerir, pero que tienen un efecto fisiológico en el intestino al estimular, de manera selectiva, el crecimiento y la actividad de las bacterias beneficiosas.

Probiótico: Alimento que contiene bacterias vivas que contribuyen al equilibrio de la flora intestinal y potencian el sistema inmunológico.

Túnica: Película o cubierta membranosa, generalmente fina, blanda y delicada, que recubre algo como un fruto, un organismo o parte del cuerpo de un ser vivo o cierta clase de animales.

Vellosidad intestinal: Vellosidad de la mucosa intestinal, que desempeña un importante papel en la absorción intestinal.

I. TEMA

Efecto de la suplementación de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre las vellosidades intestinales del duodeno en pollos de ceba.

Estudio morfométrico.

II. INTRODUCCIÓN

En la mayoría de las industrias avícolas usan los antibióticos promotores de crecimiento (APC) para incrementar la rentabilidad económica reduciendo los costos de producción en sistemas intensivos (Morillo, 2016), la utilización de estas sustancias y sus efectos sobre la salud del consumidor ha creado esfuerzos para utilizar diferentes compuestos vegetales como posibles alternativas naturales (Roofchae et al., 2011).

En este sentido, Zamora et al., (2014); indican que, la tendencia actual es buscar alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento usados en la alimentación animal. Los aceites esenciales que son compuestos aromáticos volátiles producto del metabolismo de las plantas (aditivos fitobióticos) siendo productos naturales bioactivos, que son empleados para mejorar el desempeño productivo e influir en el crecimiento y la salud de los animales (Piñón et al., 2015).

El aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), pertenecen a la familia *Labiaceae*, es una planta herbácea aromática, muy utilizada por sus propiedades naturales pues posee antioxidantes, omega 3, hierro, magnesio, cobre y calcio, así como por su aporte de vitaminas (B6) piridoxina, (B1) tiamina, (C) ácido ascórbico, (E) tocoferol y (K) filoquinona indispensables para el buen funcionamiento del organismo (Acevedo et al., 2013). Por su parte Betancourt et al., (2012); hace referencia a que el Aceite Esencial de Orégano (AEO), se ha propuesto como aditivo natural para su uso en pollos de engorde, teniendo su efecto principal en el tracto gastrointestinal (Wenk, 2002); Además se ha observado que poseen una acción moduladora sobre la microbiota intestinal (Isabel & Santos, 2009).

La macroestructura morfológica del intestino delgado tiene tres segmentos; duodeno, yeyuno e íleon, en éstas se encuentran las vellosidades y el área superficial del epitelio (López et al., 2008 y Betancourt et al., 2012); las vellosidades intestinales y células epiteliales son indicadores de la absorción de nutrientes, activando las funciones intestinales para promover el crecimiento y la inmuno-estimulación.

Según Toro *et al.*, (2010); la morfometría es un estudio, que en las últimas décadas ha alcanzado áreas de la biología dedicadas al estudio descriptivo de las ciencias morfológicas, dando lugar a las nuevas herramientas de la morfometría geométrica con las que se logra objetivar la evaluación cuantitativa y cualitativa de los cambios morfológicos. El estudio morfométrico de la altura de las vellosidades, perímetro y profundidad de las criptas del duodeno se realiza a través del análisis de los cortes histológicos mediante un microscopio óptico acoplado a un sistema computarizado de captura de imágenes (Boaro *et al.*, 2011).

La altura de las vellosidades se mide desde el área basal de las vellosidades, coincidiendo con la porción superior de las criptas hasta su vértice y de igual manera permite conocer el número de vellosidades presentes un área determinada, en las criptas se mide desde la base a la región de transición de la cripta (Pelicano *et al.*, 2003).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cómo influye en el comportamiento morfométrico de las vellosidades duodenales la suplementación de Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) en pollos de ceba?

IV. HIPÓTESIS

La inclusión de Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) produce modificaciones estructurales en las vellosidades duodenales de pollos de ceba.

V. ANTECEDENTES

En la Universidad Técnica de Ambato ubicada en la provincia de Tungurahua, Ortiz A, (2018); evaluó los parámetros productivos de pollos de engorde en un lote alimentado con “Activo ®” que es un producto netamente compuesto de aceites esenciales vegetales como: Orégano (*Origanum vulgare*) Canela (*Cinnamomun verum*), Eucalipto (*Eucalyptus*) y extractos de hierbas siendo el caso del Ají (*Capsicum annuum*). Se ejecutó un estudio morfométrico de las vellosidades intestinales. En la investigación se trabajó con 4 tratamientos. Al analizar la morfometría de las vellosidades al día 14 y al día 28 con los aceites esenciales en comparación a los APC se observó que las variables de altura y ancho de las vellosidades junto a la profundidad de las criptas obtuvieron resultados benéficos tales como la estimulación de la motilidad de las células entéricas y el incremento de la capacidad de absorción de nutrientes a nivel intestinal en las aves. Después de analizar dichos resultados se determinó que los aceites vegetales resultan una gran fuente natural de alimentación para la productividad aviar.

Chowdhurya *et al.*, (2018); pusieron a prueba tres aceites esenciales, (corteza de canela, brote de clavo y semilla de ajo) como una opción ante los promotores de crecimiento en la salud intestinal, además analizaron la respuesta inmune y los antioxidantes en pollos de engorde; al finalizar el estudio concluyeron que la respuesta a nivel entérico sobre la medición de *E. coli* disminuyó, los títulos de anticuerpos aumentó y la concentración de colesterol en suero se redujeron, señalando que las administración de dietas con aceites esenciales resulta ventajosa para las explotaciones avícolas.

Gómez, (2016); estudió los efectos de extractos de plantas como alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento: sobre parámetros morfométricos y pH intestinal de pollos de engorde bajo condiciones de jaulas experimentales. Los resultados no mostraron diferencias destacables. En el análisis morfológico (altura de vellosidades y profundidad de cripta) de duodeno y yeyuno a los 35 días de edad, y del análisis de pH de duodeno a los 14 y 35 días de edad, fueron iguales entre los aceites esenciales y los antibióticos promotores de crecimiento.

VI. JUSTIFICACIÓN

Este estudio de grado se presenta con la finalidad de conocer los beneficios que aporta la suplementación de Aceite Esencial de Orégano en la dieta diaria de pollos de engorde, estos poseen efectos que se atribuyen a sus ingredientes secundarios vegetales, siendo de interés fundamental para la respuesta inmunológica frente a agentes patógenos a los cuales están expuestos continuamente los pollos.

A diferencia del empleo de antibióticos promotores de crecimiento (APC) los cuales son responsables de la resistencia bacteriana que afectan a los animales y consumidores, esta investigación propone el uso de Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) dado que al poseer actividad antimicrobiana y biológica sin dejar residuos en la carne abre un camino alternativo al empleo de APC.

También se busca conocer mediante el método de morfometría las medidas de las vellosidades intestinales intactas y así conocer el grado de absorción que presentan los animales tratados con este suplemento alimenticio.

El proyecto se realizó de forma experimental e investigativa, proponiendo desarrollar una alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento como fuente de alimentación segura en los pollos de consumo.

VII. OBJETIVOS

7.1. Objetivo General

Evaluar mediante estudio morfométrico el efecto de la suplementación de Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) sobre las vellosidades intestinales del duodeno en pollos de ceba.

7.2. Objetivos Específicos

- Describir los cambios morfológicos presentes en el duodeno de pollos sometidos a una suplementación de Aceite Esencial de Orégano.
- Determinar el número y las dimensiones de las vellosidades intactas del duodeno en pollos de ceba que fueron suplementados con Aceite Esencial de Orégano.

VIII. MARCO REFERENCIAL

8.1. ANATOMÍA - SISTEMA DIGESTIVO DE LAS AVES

El tracto digestivo de las aves de corral es similar a otras especies animales (Svihus, 2014). En las aves se define como un conjunto de órganos y glándulas accesorias que cumplen funciones importantes para digerir los alimentos y convertirlos en sustancias nutritivas que aporten alto valor nutricional (Marulanda, 2017).

Los alimentos digeridos por las aves son descompuestos de forma mecánica y química por diferentes enzimas y ácidos que son secretados en el tracto gastrointestinal (TGI) (Svihus, 2014).

Según Godoy (2014); el aparato digestivo aviar inicia en el pico y la cavidad bucofaríngea, sitio donde el alimento es ingerido de forma intacta. Continúa por el esófago presentando una dilatación denominada buche, la cual no realiza digestión, actúa como reservorio y segrega mucus para su lubricación (Cano, 2009 y Zanuzzi & Barbeito, 2014).

Luego se encuentra el proventrículo que es el estómago glandular de las aves, este segrega enzimas y ácido clorhídrico para mezclarse con los alimentos ingeridos (Sperandio, 2013). A continuación, se localiza el estómago muscular o molleja siendo esta una estructura de pared gruesa en forma oval con dos aberturas, que se conecta el proventrículo y el duodeno. Su función es la digestión mecánica la cual consiste en moler y triturar los alimentos gruesos, mediante contracciones musculares (Godoy, 2014).

El intestino delgado es la porción más larga del TGI, responsable de la digestión final de los alimentos y la absorción de nutrientes (Sperandio, 2013). Este se divide en tres porciones: duodeno, yeyuno e íleon. En el duodeno ascendente desembocan los conductos pancreático y biliar (Grossman & Sisson, 2002). En el yeyuno se encuentra el divertículo de Meckel marcando el final y el inicio del íleon, en el intestino grueso desembocan los ciegos facilitando la digestión de celulosa, la absorción de agua (Cano, 2009), y finalmente se encuentra el colon y recto que se unen en la cloaca (Camiruaga, 2015).

8.2. DESARROLLO DEL TGI

El aparato digestivo se deriva del endodermo y el mesodermo, que forman el epitelio y musculatura lisa respectivamente (Roa & Meruane, 2012), durante las primeras 18 horas de incubación aparece el tubo digestivo (Ricaurte, 2005) debido al plegamiento del embrión durante el período somítico, la parte dorsal del saco vitelino queda incluida dentro y constituye el intestino primitivo (Contreras *et al.*, 2013).

Las aves tienen desarrollo precoz del sistema digestivo aproximadamente hasta los primeros 6 y 10 días de vida del pollito. Se producen cambios morfológicos significativos: longitud, peso, crecimiento de enterocitos, vellosidades y criptas (Ortiz A. , 2006).

La altura de las vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas alcanzan su máximo entre cuatro a seis días en el duodeno y a los diez días en el yeyuno e íleon después de la eclosión (Gonzales *et al.*, 2003).

8.3. HISTOLOGÍA DEL SISTEMA DIGESTIVO

El sistema digestivo de las aves, histológicamente presentan túnicas mucosas, submucosas, muscular adventicia y serosa dependiendo de la estructura, además cuentan con células especializadas según su localización (Betancourt *et al.*, 2012).

8.3.1. Pico

Se caracteriza por estar recubierto de queratina. Además, consta de una valva superior e inferior que concurren en una comisura o rictus. La valva superior es móvil y la valva inferior está compuesto por cinco huesecillos (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.3.2. Cavidad Bucofaríngea

Está compuesta por dos capas histológicas:

- **Túnica mucosa** con epitelio plano estratificado no cornificado en la porción craneal el tejido conectivo subyacente no se diferencia entre la lámina propia y submucosa.

- **Túnica submucosa** formada por de tejido conectivo denso, en la región caudal se encuentran los adenómeros de las glándulas salivales menores (Mejía, 2002).

8.3.3. Lengua

En las aves, está formada por dos capas histológicas:

- **Túnica mucosa** recubierta por un epitelio plano estratificado.
- **Túnica submucosa** se encuentra el esqueleto lingual cartilaginoso, musculatura, glándulas salivales, tejido linfoide y corpúsculos de Herbst (Estrada & Uribe, 2002).

8.3.4. Glándulas Salivales

Las aves no presentan glándulas salivales mayores, poseen grupos de glándulas que abren sus conductos en la región bucofaríngea (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.3.5. Esófago y Buche

Esta región presenta cuatro capas histológicas:

- **Túnica mucosa** posee pliegues longitudinales cubiertos de epitelio plano estratificado, no queratinizado. Tiene lámina propia de tejido conectivo laxo, tejido linfático difuso-nodular y abundantes glándulas mucosas tubuloalveolares.
- **Túnica submucosa** es delgada y posee tejido conectivo denso.
- **Túnica muscular** cuenta con dos capas de tejido muscular liso, fibras en dirección longitudinal en la capa externa y en forma circular en la capa interna.
- **Túnica adventicia** contiene fibras elásticas y colágenas (Megías *et al.*, 2019).

8.3.6. Proventrículo o Estómago Glandular

Está formada por cuatro capas histológicas:

- **Túnica mucosa** revestida por epitelio simple prismático alto que se invagina formando pliegues longitudinales, glándulas superficiales y profundas.

- **Túnica submucosa** presenta tejido conjuntivo laxo, vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas.
- **Túnica muscular** consta de una fina capa interna de fibras, la media se dispone en forma circular y la externa se dispone longitudinalmente.
- **Túnica serosa** tiene tejido conjuntivo laxo y mesotelio (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.3.7. Estómago Muscular o Molleja

Está formada por cuatro capas histológicas:

- **Túnica mucosa** presenta glándulas tubulares simples que incrementan su tamaño en la región basal ocupando casi en su totalidad el espesor de lámina.
- **Túnica submucosa** consta de tejido conectivo denso con fibras elásticas.
- **Túnica muscular** sus fibras musculares lisas se disponen en tres capas: longitudinal externa que se pierde durante el desarrollo embrionario, circular media y una capa oblicua interna.
- **Túnica serosa** se forma en el peritoneo (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.3.8. Intestino Delgado

El intestino delgado está dividido en segmentos: duodeno, yeyuno e íleon y cuenta con cuatro capas histológicas:

- **Túnica mucosa** en este segmento las vellosidades son evaginaciones con forma de hoja dispuestas en un modelo de zig-zag. Entre las vellosidades se encuentran las criptas que son cortas y ligeramente sinuosas. En el epitelio intestinal hay células como: enterocitos, células caliciformes, células enteroendocrinas y, en la base de las criptas de Lieberkühn, células M (Roa & Meruane, 2012).

La existencia de células de Paneth es un tema en discusión, puesto que algunos autores como Cerqueira *et al.*, (2015); mencionan lo investigado por Banks, (1991); donde niega la presencia de dichas células, mientras que Scanes, (2015); refuta este concepto sosteniendo que estas células se ubican hacia la base de las criptas.

Enterocitos: son células cilíndricas altas en la superficie de las vellosidades, se tornan más bajas hacia la base de las criptas y poseen microvellosidades apicales, núcleo oval ubicado entre el tercio medio y el tercio basal de la célula.

Células caliciformes: no poseen características distintivas con respecto a las de otras localizaciones.

Células enteroendocrinas: su forma es piramidal y en la base de las criptas se encuentran en mayor número (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

La lámina propia, ubicada entre las criptas intestinales, está constituida por tejido conectivo laxo. Posee una red de fibras reticulares, elásticas y musculares que forma el eje de las vellosidades (Roa & Meruane, 2012).

Las vellosidades intestinales están cubiertas por epitelio columnar simple, tienen criptas de Lieberkühn a manera de conductos que se abren entre la base de las vellosidades y el musculo mucoso (Junior & Bacha, 2003), donde secretan el jugo entérico, responsable de la digestión final de los alimentos, transformando los polipéptidos en aminoácidos libres, disacáridos en monosacáridos y grasas en glicerina y ácido graso (Franco & Quintero, 2013).

Si existe un cambio morfológico como el aumento de tamaño de las vellosidades, indican la existencia de epitelios maduros, lo que sugiere una mayor área de absorción de nutrientes y un posible aumento de la actividad enzimática secretada (Ahmadipour & Khajali, 2018).

- **Túnica submucosa** es muy delgada y esta posee tejido conectivo denso con fibras colágenas y elásticas. Claver, (2014); indica que el duodeno de las aves carece de glándulas de Brünner.
- **Túnica muscular** consta de una capa longitudinal externa delgada y una circular interna de mayor espesor entre las que se localizan el plexo nervioso mientérico, numerosos vasos sanguíneos y fibras elásticas.
- **Túnica serosa** consta de un mesotelio y de tejido conectivo que aumenta su espesor en la zona donde se origina el mesenterio (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.3.9. Intestino Grueso

El intestino grueso se divide en 3 porciones: dos ciegos, colon y recto.

- **Túnica mucosa** está formada por un epitelio simple cilíndrico que forma numerosas glándulas mucosas tubulares denominadas criptas de Lieberkühn.
- **Túnica submucosa** está formada por tejido conectivo muy denso. Contiene vasos sanguíneos de gran calibre y algunas zonas con tejido adiposo.
- **Túnica muscular** tiene una capa longitudinal lisa más delgada que la capa circular.
- **Túnica serosa** es una capa muy delgada de conectivo (Megías *et al.*, 2019).

8.3.10. Cloaca

Se divide en coprodeo, proctodeo y urodeo.

- **Coprodeo** la mucosa posee un epitelio cilíndrico simple en el que pueden observarse enterocitos y células caliciformes.
- **Proctodeo** tiene una pared muy semejante al intestino grueso con vellosidades aplanadas, en cuya base se abren criptas cortas.
- **Urodeo** las vellosidades desaparecen y se observan pliegues irregulares separados por surcos longitudinales u oblicuos (Zanuzzi & Barbeito, 2014).

8.4. FISIOLÓGÍA DEL INTESTINO DELGADO

El intestino delgado es la primera región de absorción y digestión del TGI. Su superficie luminal contiene vellosidades y microvellosidades que dan amplia área de absorción (Duke, 1998). El tránsito de alimentos es rápido de 2 a 3 horas (Angulo, 2009).

Los mecanismos de absorción del intestino delgado se dan por dos vías; paracelular donde intervienen dos enterocitos con flujo pasivo sin gasto de ATP y transcelular donde actúa un enterocito con flujo activo y se divide en tres pasos: atravesar el borde del cepillo, difundirse en el citoplasma y salir al tubo sanguíneo (López, 2016)

Las células presentes en la superficie intestinal son los enterocitos (digestión y absorción), células caliciformes (producción de moco) y enteroendocrinos (producción de hormonas). Estas células están distribuidas en las vellosidades intestinales. Los enterocitos presentan microvellosidades en su borde apical y una vida útil corta 72 horas en jóvenes y 96 horas en aves adultas, siendo renovadas constantemente por enterocitos que migran hacia las criptas de Lieberkühn, siendo estructuras que se asemejan a glándulas (Angulo, 2009 y Bell, 2002).

Tabla 1. Descripción de las enzimas secretadas por el intestino delgado (Camiruaga, 2015).

Región	Segrega	Enzima	Actividad enzimática	Producto final de la digestión
<i>Duodeno</i>	Jugo pancreático (páncreas) Bilis (vesícula biliar, hígado)	Tripsina Quimotripsina Amilasa Lipasa Carboxipeptidasa Colagenasa Colesterasa	Proteínas, proteasas, peptonas y péptidos Almidones, dextrinas Grasas Péptidos Colágeno Colesterol Grasas	Peptonas, péptidos y aminoácidos Maltosa y dextrina Ácidos grasos y glicerol Aminoácidos y péptidos Péptidos Colesterol esterificado y ácidos grasos Emulsión de grasas (jabones y glicerol)
<i>Yeyuno e ileon</i>	Jugo intestinal (pared intestinal)	Peptidasa Sucrasa Maltasa lactasa Polinucleotidasa	Péptidos Sucrasa Maltosa Lactosa Ácidos nucleicos	Aminoácidos y dipéptidos Glucosa y fructosa Glucosa y galactosa mono nucleótidos

El intestino delgado está formado por el duodeno, yeyuno e íleon. El duodeno forma un asa que rodea el páncreas, llamado asa duodenal (Angulo, 2009). Además, secreta agua, moco, inmunoglobulinas, iones bicarbonato y enzimas (Tabla 1). Dichas secreciones diluyen el alimento ingerido, a su vez neutraliza la acidez, mientras el moco y las inmunoglobulinas (IgA e IgAs) ejecuta un trabajo de protección contra posibles agentes dañinos (Estrada, 2011).

Las enzimas especializadas presentes en varios segmentos de este órgano tienen como función desdoblar los carbohidratos, lípidos y proteínas, para que puedan ser absorbidas (Duke, 1998).

El lumen intestinal está limitado con una fina capa de agua, la motilidad del intestino está dada por movimientos pendulares, contracciones y por peristaltismo que facilitan la mezcla y avance del contenido intestinal (Angulo, 2009).

8.4.1. Principales Procesos Intestinales

Absorción de agua: esta función se da forma activa por vía intracelular atravesando dos membranas celular apical y basolateral, de forma pasiva se realiza por vía intercelular. Según el volumen de los poros existentes en la membrana apical se va a dar el transporte pasivo del agua y electrolitos (Angulo, 2009).

Absorción de minerales y vitaminas: La absorción va a depender de varios elementos como el pH y los transportadores. Gran parte de las vitaminas se absorben en la parte en el duodeno, con excepción de la B12 que es absorbida en el yeyuno e íleon. En cuanto las vitaminas hidrosolubles serán rápidamente absorbidas a diferencia de las liposolubles (Duke, 1998).

Hidratos de carbono: La mayor parte de la digestión y absorción ocurre en el intestino delgado. Gracias a la acción de la amilasa junto con los oligosacáridos se produce la hidrólisis de los almidones; sin embargo, los carbohidratos fibrosos no se pueden desdoblar (Angulo, 2009).

Proteínas: La tripsina y la quimotripsina son enzimas contenidas en el jugo pancreático que se vierten al duodeno y son importantes para la digestión de proteínas (Cascales & Doadrio, 2014). Las proteínas contienen un elevado porcentaje de dipéptidos y tripéptidos, que pueden ser absorbidos por el epitelio intestinal sin necesidad de más digestión por las oligoaminopeptidasas (León, 2006).

Lípidos: Cuando los lípidos emulsificados por las sales biliares son desdoblados en monoglicéridos y ácidos grasos. Los ácidos grasos de cadena corta son absorbidos directamente en la mucosa intestinal y la circulación portal se encarga de su transporte. Los monoglicéridos y ácidos grasos insolubles son emulsificados por las sales biliares, formando micelas. Al unirse a la superficie de las células epiteliales, las micelas habilitan esos componentes para ser absorbidos dentro de las células de la mucosa (Estrada, 2011).

Una vez al lado de esas células, los ácidos grasos de cadena larga son reesterificados para formar triglicéridos. Los triglicéridos se combinan con el colesterol, lipoproteínas y fosfolípidos para formar quilomicrones (pequeñas gotas de grasa). Los quilomicrones pasan dentro del sistema circulatorio linfático (Estrada, 2011).

8.5. FISIOPATOLOGÍA

Los procesos patológicos que se producen en los seres vivos son estudiados por la fisiopatología la cual hace énfasis en detallar los mecanismos que sufre el organismo durante el curso de una enfermedad. Las aves de corral están expuestas a procesos infecciosos las cuales alteran su fisiología.

Coccidiosis: causado por un parásito intracelular denominado *Eimeria*, el cual es un organismo unicelular perteneciente a la familia *Eimeriidae*. Las infecciones causadas por este protozoo afectan al tubo digestivo mayoritariamente a nivel intestinal, causando graves daños en los tejidos y repercutiendo negativamente en las explotaciones avícolas. (Ferre & Gómez, 2019).

La *E. acervulina* es responsable de la invasión de la primera porción del intestino delgado o duodeno, por lo tanto, este protozoo provoca la disminución de absorción de zinc, ácido oleico, metionina, histidina, calcio, glucosa y xantofila, el descenso de estos elementos conlleva adelgazamiento, caquexia y despigmentación de la piel en las aves. (Quiroz, 2005)

Enteritis necrótica: enfermedad esparcida a nivel mundial, que se origina por la excesiva multiplicación de la bacteria *Clostridium perfringens* (Cp). El microbiota intestinal a pesar de verse considerablemente afectada modula diversos procesos fisiológicos, como la respuesta inmune, nutrición, metabolismo y exclusión de patógeno que actúan como protección ante la infección. Existen bacterias naturales del tracto intestinal que proporcionan inmunoestimulación indirecta, así el organismo se defiende de propagación parasitaria ejerciendo función adyuvante molecular (Borges & Bonato, 2018).

Unas de las toxinas producidas por Cp son la α - toxina y β - toxinas, estas son responsables de los signos característicos de la enteritis necrótica. La α – toxina es una fosfolipasa C, su función es hidrolizar fosfolípidos que se encuentran en la membrana celular de los enterocitos provocando degeneración y necrosis epitelial, además elementos como ácido araquidónico, prostacilina, leucotrienos, factores aglutinantes de plaquetas y tromboxanos son liberados. Estos son mediadores que van a generar vasoconstricción, agregación plaquetaria y disfunción cardíaca pudiendo originar una muerte súbita a los animales infectados (García & Sanchez, 2012).

Colibacilosis: es una patología es provocada por la enterobacteria *Escherichia coli*, esta enfermedad se presenta con alta frecuencia en las industrias avícolas, tiene tropismo por el tracto gastrointestinal y se disemina en las heces; por esto las aves están en continuo peligro de contagio mediante el agua, comida y ambiente (Charlton, 2006).

Salmonelosis: la vía de contagio más frecuente de esta enfermedad es la oral, seguida por el contacto con heces de animales positivos a la patología. Está causada por un tipo de bacteria *Salmonella spp.*, presenta resistencia al pH del estómago y sales biliares, invade el intestino delgado, ganglios linfáticos y provocan una infección focalizada (Dinev, 2011).

La *Salmonella* pueden eludir las defensas intracelulares de las células intestinales sin destruirlas para empezar a dividirse dentro de las mismas, finalmente, migran al torrente sanguíneo y produce una infección sistémica, desde la sangre pueden trasladarse al hígado, bazo, médula ósea, etc. Comúnmente este parásito se elimina mediante las deposiciones, se quedan en el ambiente en donde se vuelven resistentes. Cuando los animales se infectan por la vía aerógena, habrá una penetración a nivel de amígdalas y pulmones (Dinev, 2011).

8.6. ALTERACIONES MORFOPATOLÓGICAS

8.6.1. Macroscópicas

Coccidiosis: las lesiones intestinales provocadas por coccidia se deben a los daños en las células epiteliales de la cubierta mucosa donde los parásitos se desarrollan y multiplican. Anatomopatológicamente se presenta deshidratación y el alto grado de anemia en el cuerpo y las vísceras. En la última fase de la enfermedad, el contenido del ciego se encuentra engrosado, mezclado con exudado fibroso y adquiere una apariencia de queso (Ferre & Gómez, 2019).

La *E. acervulina* en infecciones marcadas puede ocasionar exudado catarral y rara vez hemorrágico. En la mucosa se observa estrías transversas por la maduración de ooquistes infectantes (Quiroz, 2005).

A lo largo del intestino delgado se observa hemorragias de intensidad variada. En ocasiones, el contenido se mezcla con sangre fresca o coagulada, y la cubierta está moteada con múltiples hemorragias petequiales o extensas que se observan a través de la pared intestinal y a veces se presenta una reacción del tejido linfoide (Dinev, 2011).

Enteritis Necrótica: caracterizada por necrosis severa de la mucosa intestinal. Las aves se observan fuertemente deshidratadas, la piel está pegada o adherida a la musculatura del cuerpo y puede desprenderse casi completamente. En los casos agudos, se presenta congestión marcada del hígado responsable de la coloración rojo oscuro o negro (Williams, 2005).

El intestino delgado está a menudo distendido, con gases y la mucosa necrótica es visible a través de la pared. El lumen intestinal está lleno de contenido acuoso de color pardo, mezclado con burbujas de gas. La mucosa necrótica, adquiere una apariencia grisácea cremosa o verdosa (Dinev, 2011).

Colibacilosis: por lo general se presentan lesiones en la parte del intestino gracias a la presencia y acción de bacterias entéricas, así existe una predisposición para que la *E. coli* colonice el área. Entre los hallazgos se encuentra una fuerte inflamación del intestino, engrosamiento de la pared intestinal y mucosidad excesiva (Gibert, 2010).

Salmonelosis: puede no haber lesiones macroscópicas, pero en la fase aguda llegan a observarse la inflamación del TGI acompañado de erosiones en la mucosa, en fase crónica llegan a formar úlceras tanto el intestino delgado y grueso. En otro órgano como el hígado se lo halla de forma alargado, congestivo y con puntos blanquecino, también existe congestión del bazo y de los riñones (Ruiz et al., 2008).

8.6.2. Microscópicas

Coccidiosis: histológicamente, se puede detectar la presencia de *Eimeria*, dentro de las células epiteliales intestinales, descamación epitelial severa, acompañada de hemorragias multifocales, engrosamiento e hiperplasia epitelial moderada, infiltración abundante difusa de células inflamatorias predominantemente los heterófilos. (Infante et al., 2007). Quiroz en el (2005), detalla que la *E. acervulina* llega a invadir las criptas de Lieberkühn de las vellosidades intestinales.

Enteritis necrótica: las lesiones microscópicas más frecuentes son vasculitis fibrinoide y trombos multifocales que se asocian a la liberación de toxinas por Cp, cabe señalar que en pocos casos se lograron visualizar los bacilos Gram positivos en las lesiones entéricas (García & Sanchez, 2012).

Colibacilosis: entre los hallazgos microscópicos en aves infectadas con este parásito se encuentran una enteritis catarral, que puede ser en niveles moderados o graves y la marcada proliferación de células inflamatorias (Gibert, 2010).

Salmonelosis: en diferentes investigaciones de patología experimental existen hallazgos como necrosis de vellosidades y de criptas, así como un infiltrado mononuclear linfocitario severo, y en riñón, nefritis intersticial severa multifocal, fibrosis, congestión y hemorragia (Silva *et al.*, 2012).

8.7. USO DE LOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

Los animales destinados al consumo humano actualmente deben obtener un crecimiento y ganancia de peso mucho mayor, por este motivo se usan los promotores de crecimiento agregados al pienso que son elementos sintéticos capaces de lograr este cometido, ya que estimulan o modifican el desarrollo animal (Cujiño, 2016).

La propagación de infecciones subclínicas al igual que la severidad de las mismas se ven notoriamente reducidas cuando se usan antibióticos promotores de crecimiento en la dieta de las aves, también reducen el consumo de nutrientes por parte de los organismos no deseables en el intestino, alteran la morfología de la pared intestinal haciéndola más delgada y a su vez reducen el exceso de metabolitos producido por bacterias haciendo más eficiente la asimilación de nutrientes (Ardoino *et al.*, 2017).

En la mayoría de las industrias avícolas usan los antibióticos promotores de crecimiento (APC) para incrementar la rentabilidad económica reduciendo los costos de producción en sistemas intensivos. La bacitracina y lincomicina son los antibióticos más utilizados como APC pero en el mercado también se encuentran la avoparcina, tilosina, espiramicina, virginamicina, avilamicina, flavovospolipol, monensina y salinomicina sódica como los más comerciales (Morillo, 2016).

Los antibióticos promotores de crecimiento brindan ciertos beneficios importantes, pero indirectamente van a comprometer la salud de los consumidores, ya que el uso de estos causa resistencia bacteriana en los animales, dejando sin eficacia a los tratamientos veterinarios administrados. Asimismo, existe el riesgo de que dichas bacterias portadoras de la resistencia se transfieran de los animales al hombre (Errecalde, 2004).

8.7.1. Alternativas para los Antibióticos Promotores de Crecimiento

En la producción animal se busca opciones que garanticen la salud animal y de los consumidores, en cuanto a las alternativas del uso de APC existen probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, extractos de plantas, entre otros (Cujjiño, 2016).

8.7.1.1. Probióticos

Son cultivos de microorganismos vivos que favorecen a los animales si son consumidos y administrados en cantidades adecuadas, entre sus beneficios está el fortalecimiento del equilibrio de la microbiota intestinal. La función que sobresale de estos suplementos es la adherencia a la pared del tracto digestivo la cual previene la creación de sustancias antimicrobianas (ácido láctico) por efecto de la invasión de patógenos. Aparecen con mayor frecuencia para uso de probióticos las bacterias y levaduras de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Saccharomyces* (Gutierrez *et al.*, 2013).

8.7.1.2. Prebióticos

Son ingredientes alimenticios que favorecen a la salud del hospedador, estimulando el crecimiento de microorganismos beneficiosos en el intestino que ayudan a incrementar la inmunidad específica y no específica de un individuo. Los principales prebióticos son ácidos grasos de cadena corta acético, propiónico y butírico (Gil, 2017).

8.7.1.3. Ácidos Orgánicos

Estos compuestos se encuentran presentes en la naturaleza, forman parte de las plantas y tejidos animales. Se crean mediante un proceso de fermentación microbiana de carbohidratos, en especial en el intestino grueso. Pueden encontrarse en su forma sódica, potásica o cálcica (Gauthier *et al.*, 2012).

8.7.1.4. Aceites Esenciales

Los fitógenos se dividen en aceites esenciales (sustancias lipófilas volátiles) y oleorresinas (derivados de disolventes no acuosos). Se pueden obtener extractos de plantas las cuales sirven para estimular el apetito, aromatizar, aumentar la producción de jugos gástricos, pancreáticos y antioxidantes. Los aceites esenciales más usados se obtienen de plantas como tomillo, orégano, romero, jengibre y canela(Gadde *et al.*, 2017).

8.7.2. Otros Aceites

8.7.2.1. Aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*)

La canela pertenece a la familia *Lauraceae*, posee fenol un aceite esencial que inhibe la fermentación (Alvear, 2014). Por su parte Esquivel *et al.*, (2010); describen que el aceite esencial de canela tiene eugenol un elemento que incrementa la secreción de enzimas digestivas evitando la proliferación de bacteria y otro componente como el cimaldehído o aldehído cinámico, que minimiza existencia de enterobacterias en el TGI.

8.7.2.2. Aceite Esencial de Ajo (*Alliaceae*)

Su elevado potencial terapéutico se debe a sus abundantes compuestos organosulfurados como tiosulfatos, tiosulfonatos y sulfuros. Estos ejercen su acción en la fisiología del animal, puesto que posee un efecto benéfico en la prevención y tratamiento de varias enfermedades. Entre sus principales características está su naturaleza antibiótica y la modulación de la microbiota intestinal favoreciendo o inhibiendo el desarrollo de agrupaciones microbianas (Baños & Guillamón, 2014).

El extracto de ajo han demostrado ser una alternativa eficaz al empleo de APC en la producción avícola. En investigaciones recientes, Peinado *et al.*, (2012); ha puesto de manifiesto que la suplementación de dietas con extractos de aliáceos abundante en tiosulfatos y tiosulfonatos mejora el índice de conversión. Además, aumenta el rendimiento y la eficiencia de absorción de nutrientes, mediante el incremento de las vellosidades intestinales.

8.8. EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

La obtención de aceites esenciales puede ser realizada por métodos de extracción solido-liquido los cuales pueden ser la hidrodestilación como también la destilación por arrastre con vapor de agua, en donde el material vegetal que puede ser de cualquier parte de la planta como hojas, tallos, flores, raíces es previamente secado (porcentaje de humedad del 10 al 13 por ciento), se coloca en un balón donde es completamente sumergido en agua, calentado hasta el punto de ebullición del agua (100 °C) y conectado a un condensador de bolas se obtiene el aceite esencial (Flores, 2010 y Ortiz L. , 2014).

8.9. ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*)

Estudios sobre el AEO demuestran que son eficientes en el control de colonias bacterianas intestinales, optimizando la salud del animal, la eficiencia depende de factores biológicos ligados con la planta de la cual se extrae el aceite; además de la concentración de nutrientes en los piensos a los cuales se los añade, una relación directa con la concentración de proteína, a mayor proteína habrá mayor efecto (Garcia, 2009).

Se ha identificado 14 compuestos activos como antioxidante del AEO que impiden la oxidación de biomoléculas como proteínas (García *et al.*, 2012). Según Peredo (2009) esto se debe a que el AEO retrasa o inhibe la oxidación de aceites y lípidos, por la presencia de los grupos hidroxilos en los compuestos fenólicos (Tabla 2).

El AEO se han propuesto como aditivo natural en nutrición avícola, ya que tiene propiedades antioxidantes por sus ácidos como el timol, rosmarínico y carvacrol brindando importantes beneficios en los pollos de engorde estimulando el sistema inmunitario del intestino (Quiroga *et al.*, 2011). Además, posee propiedades antifúngicas, anticoccidiales, antiespasmódicas y antimicrobianas las cuales actúan en contra de determinadas bacterias Gram positivas y negativas, mejora el índice de conversión y ganancia diaria, brinda mayor digestibilidad de los alimentos y este no requiere periodo de supresión previo al sacrificio de los animales (Alegret, 2016).

Tabla 2. Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* de acuerdo a cromatograma de gas con detector de masa (Albado et al., 2001).

COMPUESTO	%
PhellandreneOS	1.75
p-cymenecoccus aureus	6.86
trans-sabinene hydrate	3.53
Linalool	1.47
Cis sabinene hydrate	18.66
4-terpineol	9.43
Terpineol	2.76
Linalyl acetate	7.40
Thymyl-metyl-eter	1.52
Thymyl-metyl-eter	2.07
Carvacrol	7.72
Carvacrol	1.18
Trans-caryophyllene	2.76
Spathulenol	2.26
caryophyllene oxide	2.21
palmitic acid	8.39
9,12-octadecadienoic acid	8.29
9,12,15.octadecatrienal	5.08
2-methyl-hexanal	1.74
2-dodecanona	2.52
1,3,3-trimethyl-2-(3-methyl-2-methylene 3-buthylene-3-butenylidene) ciclohexanol	2.40

8.9.1. Efectos sobre los Indicadores de Salud

Optimiza la digestibilidad en las aves, consiguiendo mayor aprovechamiento de nutrientes, mejorando la producción y calidad de la carne. También garantiza un buen estado sanitario y menor mortalidad (Gadde *et al.*, 2017).

Las aves que son alimentadas con la suplementación de AEO, logran un incremento de peso, mejorando el índice de conversión final en un 1% en los lotes, frente a lotes que consumen únicamente alimento balanceado (Martínez *et al.*, 2009).

8.9.2. Efecto del Aceite Esencial de Orégano Sobre el Tracto Gastrointestinal

Estímulo de secreción de enzimas digestivas: El Aceite Esencial de Orégano actúa en conjunto con los receptores de las paredes celulares del páncreas y así produce un incremento de las secreciones de las enzimas digestivas (Gronda *et al.*, 2014).

Efecto antimicrobiano: Al integrar el Aceite Esencial de Orégano con el ácido benzoico se va a potenciar sobre todo a nivel digestivo los efectos antimicrobianos, va a reducir la proliferación de bacterias Gram positivas como *Clostridium perfringens* y Gram negativas como *E. coli*, *Salmonella* y *Campylobacter* (Martínez *et al.*, 2009). Por su parte Gronda *et al.*, (2014); demostró que el AEO tiene actividad bactericida en bacterias Gram negativas y en Gram positivas la acción es bacteriostática (Pujada *et al.*, 2019).

8.10. MORFOMETRÍA

La morfometría tradicional y geométrica permiten detectar los primeros cambios generados por las estructuras que se encuentran en estudio. Además, permite estudiar de manera indirecta, sin costos elevados, pero con resultados confiables y comparativos, los cambios evolutivos que afectan al organismo (Ibacache *et al.*, 2010).

La morfometría tradicional empela las distancias lineales entre dos puntos anatómicos, las cuales se traducen como cifras, así dejan su relación con la forma biológica para convertirse en números. La morfometría geométrica o análisis cuantitativo obtiene por medio de varios procesos analíticos la posición, orientación, forma, etc., de dos puntos anatómicos, para conseguir información en un contexto matemáticamente analizable (Jaramillo, 2010).

Gracias a esta herramienta se logra capturar la geometría de las estructuras. Por consiguiente, los términos, dimensiones y forma del objeto en estudio no se describen de forma biológica, sino que hacen referencia a la relación espacial de sus partes. Por ende, medir la geometría de los objetos permitirá visualizar y diferenciar si existen o no cambios morfológicos (Ibacache *et al.*, 2010).

IX. MATERIALES Y MÉTODOS

9.1. LOCALIZACIÓN

La investigación experimental se realizó en la Carrera Pecuaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM-MFL).

- **Ubicación:** Calceta, parroquia del cantón Bolívar de la provincia de Manabí localizada geográficamente en la parte occidental del territorio ecuatoriano, con una latitud de 0.84582 y longitud de 80.163887, limita al este con el cantón Pichincha, al sur con los cantones Portoviejo y Junín, al norte con los cantones Tosagua y Chone.



Gráfica Tomado de Google Earth

El estudio morfológico y morfométrico se llevó a cabo en los Laboratorios Agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí (UTM).

- **Ubicación:** Lodana, parroquia del cantón Santa Ana de la provincia de Manabí, localizada geográficamente en el centro sur de la provincia de Manabí con una latitud de -1.208256 y una longitud de -80.370215, limita al norte con los cantones Portoviejo y Pichincha, al sur con los cantones Olmedo y 24 de Mayo, al este con el cantón Pichincha y la provincia del Guayas y al oeste con los cantones Portoviejo, 24de Mayo y Jipijapa.



Gráfica Tomado de Google Earth

9.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación realizada fue investigativa y experimental. Se llevó a cabo la toma de muestras de los animales en el campo, posteriormente se ejecutó el procesamiento de las muestras, mediante el tallado y elaboración de las placas histológicas. Para el estudio morfométrico se consideraron variables de altura, ancho de las vellosidades y profundidad de las criptas, todos estos datos fueron expresados en micrómetros (μm). Finalmente, se realizó la descripción macro y microscópicas de los cambios morfológicos.

9.3. MATERIALES

9.3.1. MATERIALES DE CAMPO

- Mandil
- Guantes
- Botas
- Bisturí
- Formol
- Bolígrafo
- Lápiz
- Cartulina
- Cuaderno
- Tijera
- Cuchillo
- Cooler
- Kit de disección
- Equipo de electrocución
- Frasco recolector de muestra

9.3.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Microscopio
- Laptop
- Cartulina
- Lápiz
- Bisturí
- Pinzas
- Agua destilada

- Mango de bisturí
- Gasa estéril
- Tijera
- Frascos colectores de muestra
- Cuaderno de registros

9.3.3. MATERIALES DE OFICINA

- Laptop
- Pendrive
- Impresora
- Bolígrafos
- Hojas de papel bond
- Cuaderno de registros
- Carpetas
- Perforadora
- Grapadora

9.3.4. RECURSOS HUMANOS

- Estudiantes tesistas: Valeria Bazurto, Cristina Solórzano.
- Tutor de tesis: Dr. Carlos Anibal Bulnes Goicochea. PhD.
- Colaboradores: Dr. Víctor Montes, Dr. Sixto Reyna, Dr. Emir Ponce, Dr. Víctor Cobeña e Ing. Katherine Moreira.

9.3.5. RECURSOS ECONÓMICOS

- Financiado por estudiantes tesistas.

9.4. PROCEDIMIENTO

El presente trabajo investigativo se desarrolló en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la ESPAM-MFL para la recolección de muestras. El procesamiento de estas se efectuó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Veterinarias UTM.

El tiempo que se llevó a cabo en el proyecto de titulación fue de 4 meses, el cual se dividió en trabajo de campo y laboratorio.

9.5. TRABAJO DE CAMPO

Para este estudio se realizaron cinco visitas a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la ESPAM-MFL, donde se identificaron los galpones de las aves sometidas a estudio. La recolección de muestras y sacrificio de los animales se realizó en los laboratorios de la misma facultad.

En este proceso se utilizaron 400 pollos de ceba de la línea Cobb 500 de un día después de la eclosión, en periodos de 21 días y 42 días de edad.

Los pollos fueron sometidos a 5 tratamientos que incluían balanceado, orégano comercial, balanceado comercial con bacitracina y Aceite Esencial de Orégano (AEO) en varias dosis.

Los tratamientos se describen de la siguiente manera:

- **T0¹** = Control 1 – Balanceado de Pronaca con bacitracina
- **T0** = Control 2 – Balanceado + orégano Stick de Chemicals Farm (250ppm)
- **T1** = 100 ppm AEO – Balanceado + orégano en extracto acuoso
- **T2** = 200 ppm AEO – Balanceado + orégano en extracto acuoso
- **T3** = 300 ppm AEO – Balanceado + orégano en extracto acuoso

9.5.1. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO

La extracción del aceite esencial de orégano se basó en el método de hidrodestilación descrito por Ventura, (2017); la concentración fue del 17% y se determinó por espectrofotometría.

9.5.2. MÉTODO DE HOMOGENIZACIÓN

Para la homogenización del AEO y el balanceado se usó el método de aspersión aplicado en el estudio de Barrera & Rodríguez, (2008); el cual describen como un procedimiento eficiente para obtener una mezcla homogénea.

En este proceso se incorporó al balanceado el aceite esencial de orégano con ayuda de un atomizador, procurando esparcirlo por todo el alimento, posteriormente se mezcló manualmente durante 10 minutos para homogeneizar.

9.6. RECOLECCIÓN, INSPECCIÓN Y TOMA DE MUESTRA

9.6.1. MUESTRA

Se escogieron 30 pollos en los periodos de 21 y 42 días de edad suplementados con 5 tipos de dietas. En cada uno de estos tratamientos se tomaron 6 pollos alcanzando un total de 60 animales (Tabla 3).

Tabla 3. Número de aves muestreadas por tratamiento.

Periodo 21 y 42 días	
Tratamientos	N° de aves
T0 ¹	6
T0	6
T1	6
T2	6
T3	6
Total, aves por tratamiento / periodo	30

9.6.2. TIPO DE MUESTREO

La técnica usada fue de tipo probabilístico, con muestreo aleatorio simple (Muestreo Simple al Azar), en donde cada sujeto tiene una probabilidad igual de ser seleccionado para el estudio (Walpole *et al.*, 2012).

La aleatoriedad de las muestras se llevó a cabo elegido 1 de cada 6 aves en la visita realizada a los galpones de la ESPAM-MFL.

9.6.3. TOMA DE MUESTRAS

El manejo de los animales se realizó siguiendo el manual de aplicabilidad de las buenas prácticas Avícolas de Agrocalidad del Ecuador (Orellana *et al.*, 2013).

Los animales se sacrificaron mediante electrocución y desangrado. Tras el sacrificio se incidió la cavidad abdominal y se expuso el tracto gastrointestinal, posteriormente se procedió a realizar el análisis morfológico respectivo para establecer la relación de las alteraciones macroscópicas con las posibles patologías más frecuentes. Finalmente, se tomaron las muestras del duodeno por medio de cortes transversales de 1 cm de la región proximal, medial y distal por animal sumando un total de 180 muestras (Tabla 4).

Tabla 4. Número de muestras de la porción duodenal por ave.

Porción Intestinal	N° de muestras y región intestinal			N° de muestras
	Proximal	Medial	Distal	
Duodeno	1	1	1	3
Total, de muestras / pollo				3

9.6.4. IDENTIFICACIÓN DE ALTERACIONES MORFOPATOLÓGICAS

9.6.4.1. INDICADORES MACROSCÓPICOS

- Color
- Forma
- Tamaño
- Superficie
- Contenido

9.6.4.2. GRADOS DE AFECTACIÓN MACROSCÓPICO

a) GRADO 0: SIN LESIONES APARENTES

- Sin alteraciones

b) GRADO I: LEVE

- Hiperemia
- Engrosamiento de la mucosa

c) GRADO II: MODERADO

- Hiperemia
- Engrosamiento de la mucosa
- Ligera presencia de mucus

d) GRADO III: SEVERO

- Hemorragia
- Engrosamiento de la mucosa
- Abundante presencia de mucus

9.6.5. IDENTIFICACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

Las muestras obtenidas fueron colocadas en frascos colectores de muestras y se fijaron con solución tamponada de formol al 10%, para facilitar la identificación, se rotularon con número de tratamiento, edad y periodo. Posteriormente se colocaron en un cooler para el transporte adecuado hacia el laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UTM.

9.7. TRABAJO DE LABORATORIO

9.7.1. TALLADO DE MUESTRA

El procedimiento consistió en tomar cada una de las muestras de los respectivos colectores, se sumergió en agua destilada para eliminar residuos de formol, luego se procedió a realizar un corte transversal de 3mm, se rotularon con su respectivo código y se envolvieron delicadamente en gasas para su almacenamiento. Las muestras tomadas pasaron por el proceso histológico para la elaboración de las láminas, para su estudio microscópico.

9.7.2. OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE PLACAS HISTOLÓGICAS

Obtenidas las láminas; con la ayuda del microscopio óptico trinocular standard (OPTIKA B-383PLi) se capturaron las imágenes de cada placa para llevar a cabo el estudio morfométrico.

9.8. ESTUDIO MORFOMÉTRICO

La captura de las imágenes de las láminas histológicas se realizó con ayuda de una cámara acoplada al microscópico (AmScope MU1000) mediante el software AmScope 3.0, utilizando el objetivo de 4x, con un campo de visión de 2000 μm de área.

Para llevar a cabo este proceso se calibraron las computadoras en uso mediante una placa de calibración de vidrio expresada en milímetros y se procedieron a medir las siguientes variables:

- Altura de vellosidades intestinales (μm)
- Ancho de vellosidades intestinales (μm)
- Profundidad de criptas de Lieberkühn (μm)
- Número de vellosidades intestinales en el área
- Número de vellosidades intestinales intactas

Dentro del campo de visión previamente determinado, se contaron todas las vellosidades existentes, luego se cuantificó el número de vellosidades intactas y a estas se les midieron las variables profundidad de criptas, alto y ancho (Figura 1).

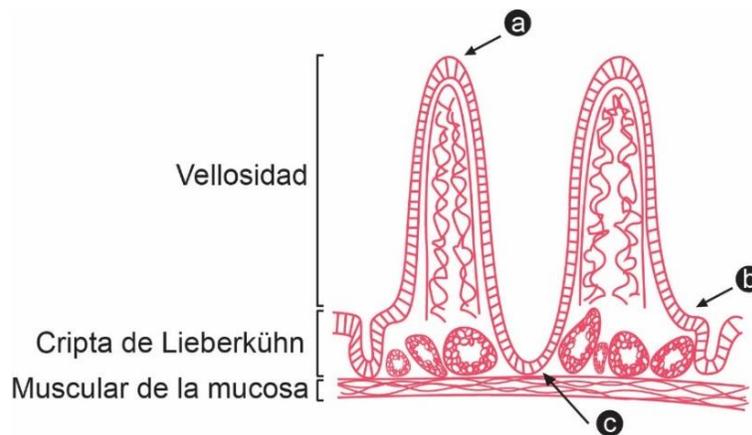


Figura 1. Estructura de las vellosidades intestinales.

(a) Ápice de la vellosidad. **(b)** Base de la vellosidad. **(c)** Base de la cripta.

La longitud de las vellosidades se obtuvo midiendo la distancia entre la base de la vellosidad hasta el ápice de la misma. La profundidad de la cripta se definió midiendo entre la base de la cripta y la depresión que estas poseen. Para hallar el ancho se tomó la mitad la longitud de la vellosidad y se midió en ese punto teniendo en cuenta la lámina propia que forma la vellosidad (Figura 2).

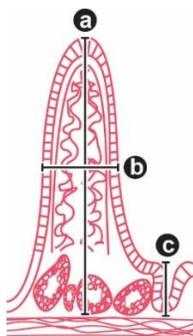


Figura 2. Medición de las variables.

(a) Altura de la vellosidad. **(b)** Ancho de la vellosidad. **(c)** Profundidad de la cripta.

Cabe destacar que los valores obtenidos de todas las mediciones se tomaron en milímetros (mm) y posteriormente se las transformó a micrómetros (μm) para trabajar con datos de mayor precisión.

9.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El presente trabajo de titulación se realizó con un Diseño Completamente al Azar, los resultados fueron expresados como promedios \pm Desviación Estándar y se usó un intervalo de confianza (I.C) de 95%. Los datos pasaron por un test de normalidad de varianza el cual se determinó mediante la prueba de Anderson-Darling y un test de homogeneidad siendo la prueba de Levene la escogida.

Las cifras obtenidas fueron estudiadas mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y una vez que se encontraron diferencias significativas siendo P value inferior al 5% ($P < 0,05$), se realizó el test de Dunnett para comparaciones múltiples. Los resultados se procesaron con el paquete estadístico R Commander.

Para el análisis de los resultados del estudio morfofpatológico se utilizó el programa COMPAPROWIN_2.0.1 (Comparación de proporciones múltiples). El software se implementó utilizando marco con lenguaje Visual Basic for Application 6.0 (VBA): control remoto para Microsoft Excel (Castillo & Miranda, 2014).

X. RESULTADOS

10.1. RESULTADOS DEL ESTUDIO MORFOMÉTRICO

- 21 DÍAS

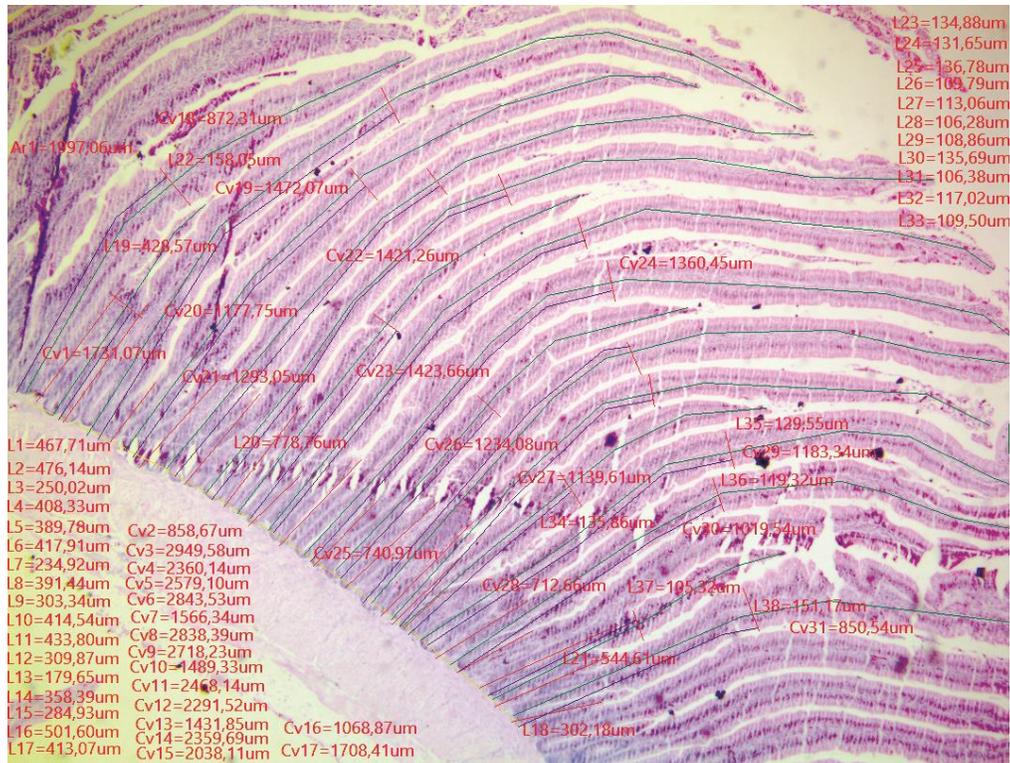


Figura 3. Corte histológico de duodeno de pollos a los 21 días con objetivo de 4x. Se muestra los puntos de referencia para la medición del largo y ancho de vellosidad intestinal y la profundidad de cripta de Lieberkühn.

En los resultados de la morfometría de las vellosidades intestinales en el periodo de 21 días, se encontró diferencia significativa en la variable ancho proximal (183 µm), donde al tratamiento de AEO 200 ppm se le realizó el test de comparaciones múltiples y fue el que mejor resultado tuvo al confrontarlos con el control 1 y control 2. (Tabla 5).

Tabla 5. resumen de los promedios morfométricos a los 21 días.

VARIABLE	TRATAMIENTOS					Valor P
	Control 1	Control 2	AEO 100 ppm	AEO 200 ppm	AEO 300 ppm	
ALP	1686,0 ± 375,96	1670,0 ± 269,17	1650,0 ± 318,58	1537,0 ± 402,97	1725,0 ± 336,99	0,77
ALM	1737,0 ± 325,63	1610,0 ± 263,31	1637,0 ± 380,77	1514,0 ± 377,52	1685,0 ± 419,5	0,53
ALD	1718,0 ± 374,77	1637,0 ± 320,28	1738,0 ± 292,13	1607,0 ± 300,33	1551,0 ± 403,03	0,60
AP	132,0 ± 26,64	136,0 ± 29,35	135,0 ± 25,19	183,0 ^a ± 69,64	149,0 ± 36,5	* 0,01
AM	134,0 ± 26,64	142,0 ± 29,49	150,0 ± 40,32	175,0 ± 59,65	136,0 ± 31,28	0,53
AD	137,0 ± 26,8	143,0 ± 38,92	150,0 ± 70,79	150,0 ± 36,01	135,0 ± 25,05	0,97
PP	309,0 ± 69,71	292,0 ± 43,45	339,0 ± 60,71	297,0 ± 64,87	306,0 ± 35,14	0,21
PM	300,0 ± 62,79	319,0 ± 61,41	320,0 ± 53,8	322,0 ± 54,47	329,0 ± 65,65	0,84
PD	307,0 ± 49,54	294,0 ± 49,48	313,0 ± 57,52	290,0 ± 48,31	360,0 ± 66,63	0,19

^a Subíndice indica tratamiento con diferencia estadística (P<0.05)

ALP: Altura Proximal. **ALM:** Altura Medial. **ALD:** Altura Distal. **AP:** Ancho Proximal. **AM:** Ancho Medial **AD:** Ancho Distal.

PP: Profundidad Proximal. **PM:** Profundidad Medial. **PD:** Profundidad Distal.

Tabla 6. Comparación de grupos controles contra la variable estadísticamente significativa a los 21 días (Test Dunnett).

ANCHO PROXIMAL					
Control 1	Control 2	0,99	Control 2	Control 1	0,99
Control 1	AEO 100 ppm	0,99	Control 2	AEO 100 ppm	1,00
Control 1	AEO 200 ppm	0,01 *	Control 2	AEO 200 ppm	0,02 *
Control 1	AEO 300 ppm	0,63	Control 2	AEO 300 ppm	0,82

- 42 DÍAS

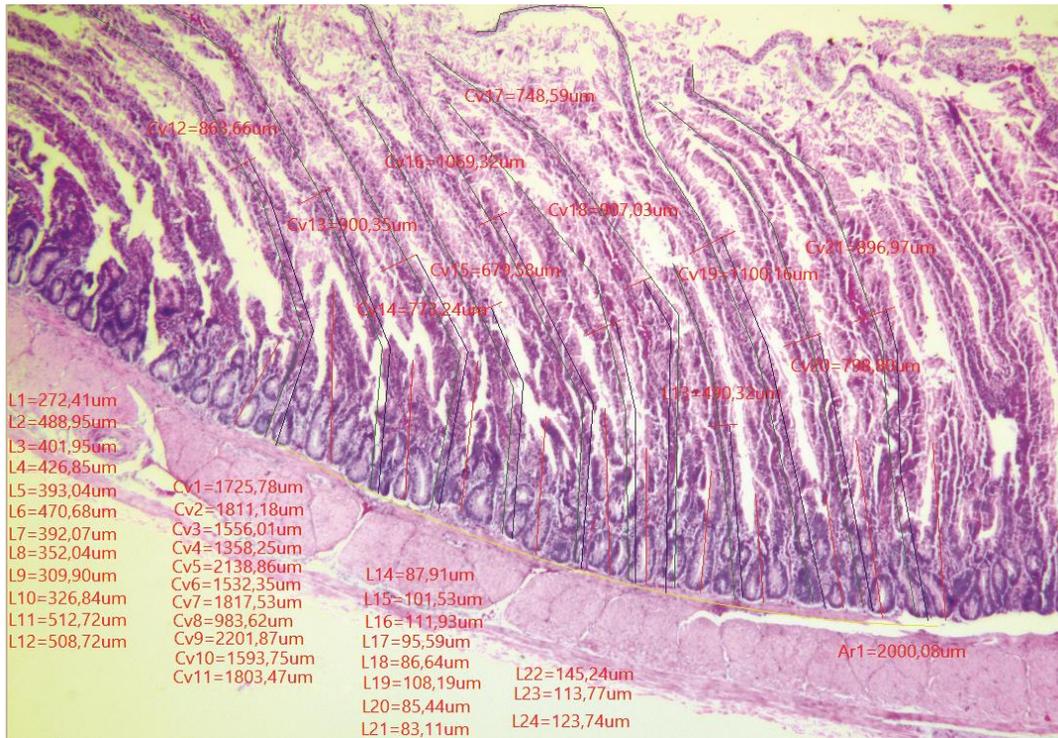


Figura 4. Corte histológico de duodeno de pollos a los 42 días con objetivo de 4x. Se muestra los puntos de referencia para la medición del largo y ancho de vellosidad intestinal y la profundidad de cripta de Lieberkühn.

A los 42 días se pudo notar que existe diferencias estadísticas para la variable profundidad proximal (256 µm), el cual presenta un P value menor a 0,05. Al comparar la media de los grupos controles frente a los demás tratamientos a través de la prueba de Dunnett, se indicó que el tratamiento AEO 300 ppm tiene mayor efecto a diferencia del control 2. Teniendo $\pm 60,78$ de coeficiente de variación (Tabla 7).

Tabla 7. Tabla resumen de los promedios morfométricos a los 42 días.

VARIABLE	TRATAMIENTOS					Valor P
	Control 1	Control 2	AEO 100 ppm	AEO 200 ppm	AEO 300 ppm	
ALP	1282,0 ± 197,03	1325,0 ± 216,17	1395,0 ± 278,61	1287,0 ± 390,90	1234,0 ± 340,63	0,44
ALM	1015,0 ± 170,17	1356,0 ± 177,43	1162,0 ± 262,90	1458,0 ± 280,94	1248,0 ± 328,55	0,21
ALD	1082,0 ± 135,00	1276,0 ± 207,75	1150,0 ± 329,26	1330,0 ± 245,65	1184,0 ± 336,02	0,69
AP	114,0 ± 25,77	115,0 ± 29,08	123,0 ± 36,31	129,0 ± 37,56	129,0 ± 34,16	0,63
AM	105,0 ± 26,54	115,0 ± 23,17	116,0 ± 31,03	124,0 ± 35,07	112,0 ± 26,39	0,53
AD	88,0 ± 15,32	118,0 ± 22,37	127,0 ± 36,37	118,0 ± 35,40	106,0 ± 24,27	0,10
PP	202,0 ± 30,66	190,0 ± 28,65	209,0 ± 44,99	244,0 ± 64,68	256,0 ^a ± 60,78	*0,02
PM	177,0 ± 25,39	195,0 ± 39,13	223,0 ± 42,66	232,0 ± 43,03	213,0 ± 52,20	0,20
PD	182,0 ± 23,58	211,0 ± 38,41	204,0 ± 42,14	272,0 ± 54,35	220,0 ± 41,32	0,09

^a Subíndice indica tratamiento con diferencia estadística (P<0.05)

ALP: Altura Proximal. **ALM:** Altura Medial. **ALD:** Altura Distal. **AP:** Ancho Proximal. **AM:** Ancho Medial. **AD:** Ancho Distal.

PP: Profundidad Proximal. **PM:** Profundidad Medial. **PD:** Profundidad Distal.

Tabla 8. Comparación de grupos controles contra la variable estadísticamente significativa a los 42 días (Test Dunnett).

PROFUNDIDAD PROXIMAL					
Control 1	Control 2	0,95	Control 2	Control 1	0,95
Control 1	AEO 100 ppm	0,99	Control 2	AEO 100 ppm	0,80
Control 1	AEO 200 ppm	0,20	Control 2	AEO 200 ppm	0,07
Control 1	AEO 300 ppm	0,06	Control 2	AEO 300 ppm	0,02 *

10.2. RESULTADOS MORFOPATOLÓGICOS

Se clasificaron en diferentes grados de afectación según las lesiones macroscópicas que presentaron tales como hiperemia, engrosamiento de la mucosa, hemorragia y mucus.

En el periodo de 21 días se obtuvo que las aves suplementadas con AEO 200 ppm presentaron menor daño en la mucosa intestinal, a diferencia de los demás tratamientos los cuales presentaron lesiones en todas las muestras realizadas. El tratamiento número 4 (AEO 200 ppm) tiene dos muestras en el grado 0 donde no presentaron lesiones aparentes, una muestra en el grado 1, tres en el grado 2 y cero en grado 3 cumpliendo con los indicadores establecidos previamente para la clasificación (Tabla 9).

Tabla 9. Tratamiento con mayor incidencia de lesiones macroscópicas 21 días.

Tratamiento	N° de animales	%	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Control 1	6/6 ^a	100	–	1	3	2
Control 2	6/6 ^a	100	–	4	1	1
100 ppm	6/6 ^a	100	–	3	1	2
200 ppm	4/6 ^a	66,6	2	1	3	–
300 ppm	6/6 ^a	100	–	3	2	1

En los resultados alcanzados a los 42 días revelan que existe menor cantidad de lesiones a nivel intestinal en el tratamiento de AEO 200 ppm. En este periodo en el grado 0 existen tres muestras del tratamiento cuatro (200 ppm), una en el grado 1, dos en el grado 2 y cero en grado 3, identificando una menor cantidad de lesiones en este tratamiento (Tabla 10).

Tabla 10. Tratamiento con mayor incidencia de lesiones macroscópicas 42 días.

Tratamiento	N° de animales	%	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Control 1	6/6 ^a	100	–	2	2	2
Control 2	6/6 ^a	100	–	2	4	–
100 ppm	6/6 ^a	100	–	1	3	2
200 ppm	3/6 ^b	50	3	1	2	–
300 ppm	5/6 ^{ab}	83	1	4	1	–

^b Subíndice indica tratamiento con diferencia estadística.

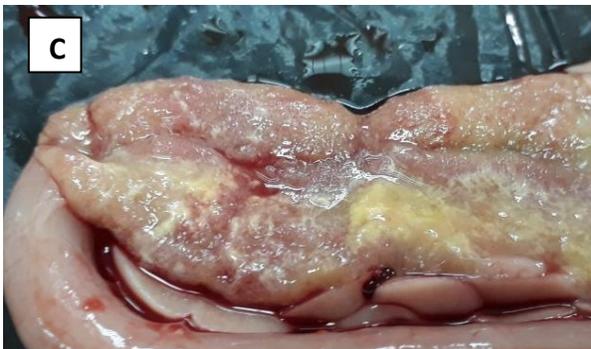
10.2.1. Macroscópico



Grado 0: Fotografía del duodeno sin alteraciones aparentes en la mucosa intestinal.



Grado 1: Imagen macroscópica del intestino delgado correspondiente a lesión leve.



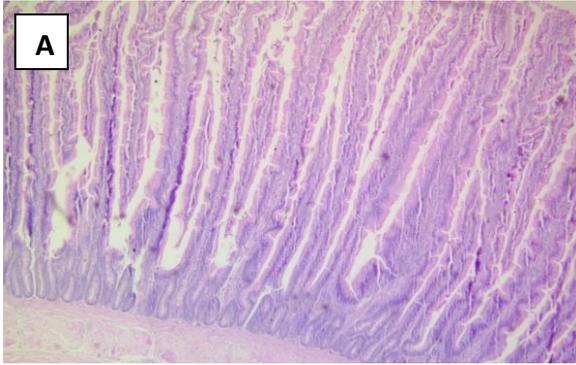
Grado 2: Imagen en la que se observa estructura con una afectación moderada.



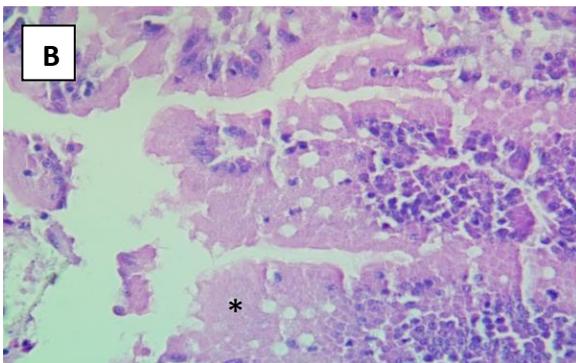
Grado 3: Imagen con lesiones severas.

Figura 5. Imágenes de alteraciones morfológicas macroscópicas, que se detallan en la sección de materiales y métodos.

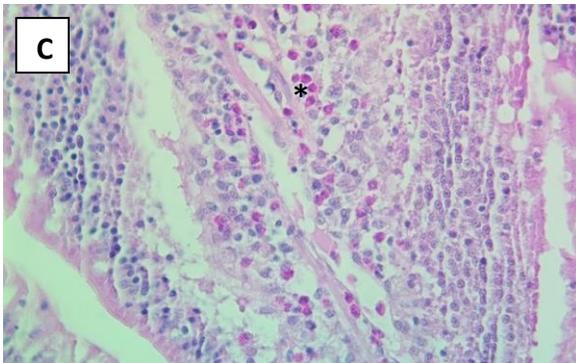
10.2.2. Microscópico



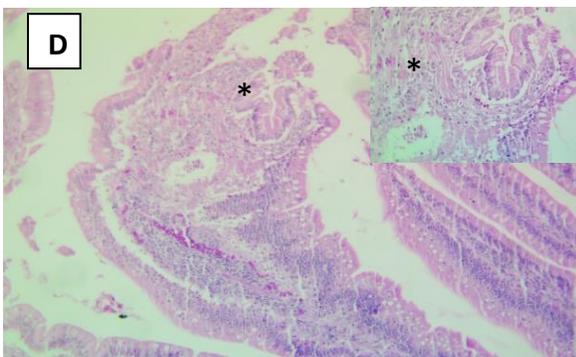
Grado 0: Imagen histológica de la mucosa normal de un pollo. Nótese la integridad de las vellosidades intestinales. H&E. 125x.



Grado 1: Mucosa con clasificación leve, mostrando atrofia y fusión de las vellosidades con engrosamiento de la lámina propia por incremento del volumen celular y discreta hiperplasia de las células caliciformes. H&E 400x.



Grado 2: Mucosa intestinal con lesiones moderadas, mostrando infiltración difusa de heterófilos, hiperplasia de las células caliciformes y tumefacción de la lámina propia. H&E 400x.



Grado 3: Mucosa de clasificación severa, muestra necrosis focal del ápice de una de las vellosidades, hiperemia marcada, hiperplasia de las células caliciformes e infiltración de heterófilos. H&E. 125x.

Figura 6. Imágenes de alteraciones morfológicas microscópicas.

Uno de los resultados obtenidos en la morfometría fue la cantidad de vellosidades existente en el campo de visión, se realizó el conteo y se agruparon en número total y cantidad intactas de vellosidades respectivamente. Usando el promedio de vellosidades en cada tratamiento se obtuvo la proporción o relación de cada uno de estos resultados.

A los 21 días se observó que en el control 2 existe un número superior de vellosidades intactas en comparación con los demás, pero al someter los resultados a una prueba de proporciones se conoció que en el tratamiento de AEO 200 ppm con el 86% no difiere del control 2 el cual muestra diferencia significativa presentando el 97% de vellosidades íntegras, en consecuencia, esos tratamientos son los que poseen mayor área de absorción de nutrientes (Tabla 11).

Tabla 11. Porcentaje de vellosidades intactas en la mucosa de pollos de 21 días.

Tratamiento	%	Región						Suma
		Proximal		Medial		Distal		
		Intactas	Total	Intactas	Total	Intactas	Total	
Control 1	82 ^b	13	16	13	16	13	15	39
Control 2	97 ^a	14	15	13	13	10	10	47
100 ppm	83 ^b	13	15	10	13	12	14	37
200 ppm	86 ^{ab}	10	11	9	11	12	14	38
300 ppm	82 ^b	12	14	14	16	13	16	35
								42
								31
								36
								39
								46

^{ab} Subíndice indica tratamiento con diferencia estadística

En el periodo de 42 días, el control 2 tiene el mejor porcentaje de 94% de vellosidades intactas con una fracción de 33/35. Después de realizar el análisis de proporción no se obtuvieron datos significativos. Sin embargo, el tratamiento de 200 ppm posee el 91% de vellosidades íntegras indicando una mejoría con esta dosis (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentaje de vellosidades intactas en la mucosa de pollos de 42 días.

Tratamiento	%	Región						Suma
		Proximal		Medial		Distal		
		Intactas	Total	Intactas	Total	Intactas	Total	
Control 1	86 ^a	11	12	10	13	11	12	32 37
Control 2	94 ^a	10	11	12	13	11	11	33 35
100 ppm	87 ^a	10	12	14	14	11	14	35 40
200 ppm	91 ^a	10	11	12	13	12	13	34 37
300 ppm	81 ^a	10	11	11	13	10	14	31 38

XI. DISCUSIÓN

Estudios como el de Macari *et al.*, (2002); afirman que las vellosidades del duodeno son más largas que las del yeyuno e íleon independientemente de la edad y cuanto más lejos del proventrículo y de la molleja, más pequeñas serán las vellosidades, del mismo modo, menos serán los cambios morfológicos existentes. Teniendo en cuenta lo mencionado nuestro trabajo de investigación se realizó en el intestino delgado que es el responsable del proceso de rotura y asimilación de nutrientes contenidos en los alimentos, específicamente en el duodeno que es el sitio más grande de digestión y absorción antes del yeyuno (Boaro & Regina, 2011).

Nuestro trabajo reportó que existen diferencia significativa en la variable ancho proximal con un valor de 183 μm a los 21 días de edad. Betancourt, (2012); obtuvo resultados parecidos al analizar el efecto de los Aceites Esenciales de Orégano en pollos de engorde, mostrando semejanzas sobre el ancho de las vellosidades a la misma edad, obteniendo un promedio de 192 μm , siendo un indicador positivo para la buena absorción de nutrientes, activando las funciones intestinales para promover el crecimiento y estimular el sistema inmune de los pollos broiler tal como lo menciona Kondo, (2003); en su estudio de características morfométricas de las diferentes regiones del intestino delgado.

En la variable profundidad proximal se obtuvo significancia estadística específicamente en el tratamiento de AEO 300ppm (256 μm) cifras que se asemejan con Madrid, (2018); el cual encontró mayor profundidad y altura de las vellosidades intestinales del duodeno al incluir tres niveles diferentes de AEO en pollos de engorde de la línea genética Cobb 500; el hecho de que los pollos tengan criptas profundas indica un rápido intercambio de tejido y una demanda alta para la renovación del tejido epitelial. Investigadores como Forbes, (2010); encuentra una estrecha correlación entre la profundidad de la cripta y las tasas de proliferación de células epiteliales. Además, el número de proliferaciones y el recambio celular epitelial tienen un gran impacto sobre los requerimientos de proteína y energía de la mucosa del intestino delgado.

Con respecto a las demás variables estudiadas no se encontraron diferencias estadísticas significativas al igual Botsoglou *et al.*, (2002); quienes en su estudio no reporta efectos destacables en la histomorfometría del intestino delgado en pollos con dietas que incluyen Aceite Esenciales de Orégano. Diversos estudios sobre el uso de orégano como promotor de crecimiento se unen a estos resultados, es el caso de Ayala *et al.*, (2006) y Shiva *et al.*, (2012); quienes no encontraron diferencias en parámetros productivos como ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia en comparación a los antibióticos promotores de crecimiento.

Aun así, existió una mejora en los parámetros medidos, especialmente con el tratamiento de 200 ppm, que al compararlo con investigaciones como la de Roldán, (2010); encontramos valores iguales y superiores en cuanto a la altura y al número de vellosidades intactas, esto debe traducirse a una mejor eficiencia alimentaria, tal y como lo plantea Pelicano *et al.*, (2003); quienes afirma que la capacidad de la absorción de nutrientes de cada segmento del intestino, es proporcional al número y altura de las vellosidades presentes, ya que definen el tamaño y área de la superficie disponible para la absorción de nutrientes.

El hecho de que en este trabajo no hayan existido respuestas claras por efecto de la administración de dicho aceite orgánico pueden deberse a lo que señaló Sangwan *et al.*, (2001); cuando hizo hincapié en que las vías metabólicas de síntesis de metabolitos secundarios en las plantas medicinales son moduladas por la fisiología de la planta y factores ambientales que la afectan, como la ontogenia de la planta, la fotosíntesis, el fotoperiodo, el clima, la intensidad de luz y la humedad. Otros factores que se consideran son los compuestos que las constituyen, ya que pudieran no existir o no poseer cantidades adecuadas de los mismos, principalmente carvacrol y timol o de sus precursores biosintéticos como el γ -Terpineno y el p-Cimeno (Acevedo *et al.*, 2013).

Según Ducatelle *et al.*, (2010); la elección de las materias primas utilizadas para la formulación alimentaria de los broilers es otro factor importante para poder obtener buenos resultados, puesto que determinará la salud intestinal de las aves y si estas no poseen un intestino medianamente sano la absorción de nutrientes y el crecimiento se verán comprometidos. Por su parte Lee *et al.*, (2003); concluyen que los efectos de los

aceites esenciales en pollos de ceba no son consistentes porque dependen en gran medida de las condiciones higiénico-sanitarias de las explotaciones, entre otros factores.

Queda claro que la inclusión de extractos de Aceite Esencial de Orégano a las dietas de los pollos, generan grandes y pequeños cambios en la morfología intestinal (García *et al.*, 2007); pero al parecer, es necesario profundizar las investigaciones con relación a la dosis de orégano en las dietas alimenticias.

XII. CONCLUSIONES

Se apreció que los mejores resultados asociados a la utilización de AEO se obtuvieron en el tratamiento cuatro de AEO 200 ppm donde se evidenció desde el punto de vista morfológico que fue el grupo con menor cantidad de animales con alteraciones en la mucosa intestinal (enteritis) y buen porcentaje de vellosidades intactas.

El efecto producido por el tratamiento de AEO 200 ppm estuvo visiblemente marcado por los cambios morfométricos en las variables ancho proximal a los 21 días y profundidad proximal de criptas a los 42 día de edad, valores que fueron estadísticamente significativos.

XIII. RECOMENDACIONES

Considerando que el tratamiento de 200 ppm fue el resultado más promisorio, se sugiere hacer estudios básicos tomando en cuenta los diversos factores que puedan afectar las respuestas positivas de la investigación usando la misma dosis de AEO en el alimento.

Se sugiere que, en estudios posteriores se realice mayor número de muestras de cada uno de los tratamientos que poseen Aceite Esencial de Orégano en sus diferentes niveles de concentración.

XIV. CRONOGRAMA

	2019																				2020			
	Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Entrega de anteproyecto		x																						
Toma de muestras	x	x																						
Procesamiento de muestras			x	x	x	x																		
Análisis de laboratorio					x	x																		
Estudio experimental						x	x	x	x	x	x													
Tabulación de datos													x	x	x									
Redacción del informe final															x	x	x	x						
Sustentación de Tesis																							x	

XV. PRESUPUESTO

	Concepto	Unidades	V. Unitario	V. Total
Obtención de Muestras	Viaje a ESPAM – Calceta	5 viajes	\$10	\$ 50
	Eutanasia de pollos	60 pollos	\$ 3	\$ 180
	Formol	2 litro	\$ 4	\$ 8
	Recipientes orina	60 unidades	\$ 0,50	\$ 30
	Transporte muestras	1 viaje	\$ 10	\$ 10
	Cooler	2 unidades	\$ 10	\$ 20
Procesamiento de muestras	Bisturí	2 cajas	\$ 10	\$ 20
	Mangos	2 unidades	\$ 3	\$ 6
	Guantes	6 cajas x 50 pares	\$ 8	\$ 48
	Gasa estéril	1 rollo	\$ 20	\$ 20
	Cartulina de hilo	10 unidades	\$ 0,20	\$ 2
Análisis de laboratorio	Elaboración placas histológicas	60 unidades	\$ 8	\$ 480
Otros	Viáticos	2 personas	\$ 125	\$ 250
	Transporte	2 personas	\$ 100	\$ 200
	Margen de error	–	–	\$ 300
			TOTAL	\$ 1,624

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, D., Navarro, M., & Monroy, L. (2013). *Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (Origanum vulgare)*. Scielo, 43-48.
- Ahmadipour, B., & Khajali, F. (2018). *Effect of guanidinoacetic acid supplementation on growth performance and gut morphology in broiler chickens*. Poultry Science Journal, 19-24.
- Albado, E., Saez, G., & Grabiell, S. (2001). *Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del Origanum vulgare (orégano)*. Med Hered, 16-19 .
- Alegret, L. d. (2016). *Extracto de Origanum vulgare en la dieta de pollos de engorde*. Obtenido de Veterinaria Digital: <https://www.veterinariadigital.com/articulos/extracto-de-origanum-vulgare-en-la-dieta-de-pollos-de-engorde/>
- Alvear, D. (2014). *Aplicación de las especias: anís, mostaza, vainilla, cardamomo, canela y jengibre en 12 recetas con productos autóctonos del ecuador*. Ecuador: Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias de da Hospitalidad Carrera de Gastronomía.
- Angulo, A. E. (2009). *Fisiología aviar. Lleida: Eines 65*. Obtenido de Google Books: https://books.google.com.ec/books?id=8BbaffsUiu8C&printsec=copyright&hl=es&source=gbs_pub_info_r#v=onepage&q&f=false
- Ardoino, S., Toso, R., Toribio, M., Álvarez, H., Mariani, E., Cachau, P., Oriani, D. (2017). *Antimicrobianos como promotores de crecimiento (AGP) en alimentos balanceados para aves: uso, resistencia bacteriana, nuevas alternativas y opciones de reemplazo*. Ciencia Veterinaria , 50 - 66.
- Ayala, L., Martínez, M., Acosta, D., & Hernández, O. (2006). *Una nota acerca del efecto del orégano como aditivo en el comportamiento productivo de pollos de Ceba*. Cuban Journal of Agricultural Science, 455, 458.

- Baños, A., & Guillamón, E. (2014). *Utilización de extracto de ajo y cebolla en producción avícola*. Selección Avícola, 8 - 9.
- Barrera, H., & Andres, R. (2008). *Elaboración de un alimento balanceado para pollitas con aceite esencial de orégano*. Obtenido de Universidad de la Salle: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/15602/T43.08%20B274e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bell, D. (2002). *Anatomy of the Chicken*. Commercial chicken, 41-58.
- Betancourt, L., Ariza, C., & Afanador, G. (2012). *Effects of supplementation with oregano essential oil on ileal digestibility, intestinal histomorphology, and performance of broiler chickens*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012006902012000200009
- Boaro, F., & Regina, M. (2011). *Morfometría de la mucosa del duodeno en pollos de engorde suplementados con mejoradores del desempeño*. XXII Congreso Latinoamericano de Avicultura (págs. 15,30). Buenos Aires : Engormix .
- Boaro, M., Fernandes, B., Mendes, A., Milbradt, E., Martins, B., & Aguiar, E. (2011). *Morfometria da mucosa do duodeno de frangos de corte suplementados com melhoradores de desempenho*. Obtenido de Engormix: <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/morfometria-duodeno-frangos-desempenho-t37109.htm>
- Borges, L., & Bonato, M. (2018). *Enteritis Necrotica y Coccidiosis*. Obtenido AviNews: de <https://avicultura.info/enteritis-necrotica-coccidiosis/>
- Botsoglou, N., Florou, P., Christaki, E., Fletouris, D., & Spais, A. (2010). *Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues*. Britis Poultry Science, 223-230.
- Camiruaga, M. (2015). *Aparato digestivo de las aves*. Obtenido de Pontificia Universidad Católica de Chile: http://www7.uc.cl/sw_educ/prodanim/digestiv/fii1.htm

- Cano, F. (2009). *Anatomía específica de aves: aspectos funcionales y clínicos*. Obtenido de Universidad de Murcia.: <https://www.um.es/anatvet-interactivo/interactividad/aaves/anatomia-aves-10.pdf>
- Cascales, M., & Doadrio, A. (2014). *Fisiología del aparato digestivo*. Obtenido de Real academia nacional de farmacia: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/1492/1555>
- Castillo, Y., & Miranda, I. (2014). *Técnica compaprop: Sistema para comparacion de proporciones multiples*. Rev. Protección Veg. Vol. 29 No. 3 231-234
- Cerqueira, D., Alves, N., Rocha, L., & Bolzani, G. (2015). *Sistema digestório das aves e o glicerol na dieta de frangos de corte*. PubVet, 369-380.
- Charlton, B. (2006). *Avian Disease*. Manual 6th Edition. EEUU: Eighth.
- Chowdhurya, S., Prasad, G., Kumar, A., Kumar, P., Samanta, I., Pradhan, S., & Kumar, A. (2018). *Different essential oils in diets of broiler chickens: Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes*. Animal Feed Science and Technology, 39 - 47.
- Claver, J. (2014). *Aparato digestivo de las aves*. Obtenido de Facultad de Ciencias Veterinarias- UBA: <https://goo.gl/N8o97S>
- Contreras, J., Martínez, P., Santos, I., & Rojo, C. (2013). *El embrión de pollo como modelo de experimentación*. Obtenido de Universidad Complutense de Madrid: https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-38141/semanaciencia_2013_veterinaria.pdf
- Cujiño, R. (2016). *Ventajas y contraindicaciones de los promotores de crecimiento*. Obtenido de Contexto ganadero: <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/ventajas-y-contraindicaciones-de-los-promotores-de-crecimiento>
- Dinev, I. (2011). *Enfermedades de las aves*. Obtenido de Sitio Avicola <http://www.elsitioavicola.com/publications/6/enfermedades-de-lasaves/264/tuberculosis-aviar/>

- Ducatelle, R., Eeckhaut, V., Teirlynck, E., Pasmans, F., Haesebrouck, F., & Van, F. (2010). *Evaluación de la salud intestinal en broilers*. Universidad de Gante , Departamento de Patología, Bacteriología y Medicina Aviar, Bélgica .
- Duke, G. E. (1998). *Fisiología de los animales domésticos*. Obtenido de Gary E. Duke; Fisiología de los animales domésticos. 1998
- Errecalde, J. (2004). *Uso de antimicrobianos en animales de consumo*. FAO Producción y Sanidad Animal, 19.
- Esquivel, P., Pedroza, G., Sandoval, N., Mata, R., Mendoza, L., & Balderas, I. (2010). *Ensayo químico dirigido y estudio del efecto antimicrobiano in vitro de algunos condimentos empleados en la cocina mexicana*. Respyn Revista de Salud Pública y Nutrición, 10.
- Estrada, E., & Uribe, M. (2002). *Atlas de histología de vertebrados*. Obtenido de Google Books: <https://books.google.com.ec/books?id=iNtQ6vM12HcC&lpg=PA71&dq=HISTOLOGIA%20DE%20BOCA%20AVES&hl=es&pg=PA71#v=onepage&q=HISTOLOGIA%20DE%20BOCA&f=false>
- Estrada, M. (2011). *Anatomía y fisiología aviar*. Obtenido de Universidad de Antioquia: http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/247268/mod_resource/content/0/ANATOMIA_Y_FISIOLOGIA_AVIAR_documento_2011.pdf
- Ferre, I., & Gómez, M. (2019). *Etiología y patogenia de la coccidiosis aviar*. Obtenido de Avinews: <https://avicultura.info/etiologia-y-patogenia-de-la-coccidiosis-aviar/>
- Flores, M. (2010). *Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso: análisis del estado de su regulación en Chile y el mundo*. Universidad de Chile. Retrieved from <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105352>
- Forbes, M. (2003). *Wet Foods for Poultry*. Avian and Poultry Biology Reviews, 175 - 193.
- Franco, J., & Quintero, R. (2013). *Variaciones morfométricas a nivel de intestino anterior y posterior en cachama blanca (piaractus brachypomus) con base a la inclusión de morera (morus alba) al 20% y ensilaje al 20% en ceba*. CITECSA , 6-12.

- Gadde, U., Kim, W., Oh, S., & Lillehoj, H. (2017). *Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry*. *Animal Health Research Reviews*, 32 - 35.
- García, E. (2009). *Alternativas ecológicas a los antibióticos en los piensos*. España: Universidad Autónoma de Barcelona.
- García, E., Castro, F., Gutierrez, J., & García, S. (2012). *Revisión de la producción, composición fotoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 32.
- García, G., & Sanchez, F. (2012). *Enteritis necrotica en aves*. Obtenido de Engormix : <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/enteritis-necrotica-aves-ornato-t29602.htm>
- García, V. (2007). *Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 555–562.
- García, V., Catalá, P., Hernández, F., Megías, M., & Madrid, J. (2007). *Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility intestine mucosa morphology and meat yield of broiler*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 555, 562.
- Gauthier, R., Bodin, J., & Fernández, A. (2012). *Alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento para pollos*. *Selecciones Avícolas* , 19 - 23.
- Gil, E. (2017). *Promotores de crecimiento no antibióticos*. Engormix, 1-5.
- Gibert, M. (2010). *Detección y caracterización de aislados de Escherichia coli de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Obtenido de Visavet: <https://www.visavet.es/data/tesis/deteccion-y-caracterizacion-de-aislados-de%20Escherichia-coli-de-origen-clinico-y-fecal-en%20gallinas-ponedoras.pdf>

- Godoy, M. F. (2014). *El sistema digestivo en diferentes especies de aves*. Obtenido de Bionotas: <https://bionotas.files.wordpress.com/2014/09/sist-dig-diferentes-especies-aves.pdf>
- Gonzales, E., Kondo, N., Saldanha, E., Loddy, M., Careghi, C., & Decuypere, E. (2003). *Performance and Physiological Parameters of Broiler Chickens*. *Poultry Science*, 1250–1256.
- Gómez, D. (2016). *Evaluación de un prebiótico y aceites esenciales como alternativas a los antibióticos promotores del crecimiento en pollos de engorde, sobre parámetros productivos, morfología y pH intestinal*. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Gronda, E., Gatti, G., López, A., Sánchez, L., Rivero, V., Pessah, O., Ponce, A. (2014). *Bio-efficacy of the Essential Oil of Oregano (Origanum vulgare Lamiaceae. Ssp. Hirtum)*. *Plant Foods For Human Nutrition*, 351 - 353.
- Grossman, J., & Sisson, S. (2002). *Anatomía de los animales domésticos*. Barcelona: Salvat .
- Gutierrez, L., Montoya, O., & Vélez, J. (2013). *Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal*. *Producción + Limpia*, 135 - 146.
- Ibacache, M. V., Soto, G. M., & Galdames, I. S. (2010). *Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa*. Repositorio Academico de la Universidad de Chile, 21.
- Infante, F., Cruz, N., & Ruiz, A. (2007). *Hallazgo de Eimeria spp en tejido hepático de pollos de engorda*. *Vet Mex* , 38 - 39.
- Isabel, B., & Santos, Y. (2009). *Efectos de los aceites esenciales en la alimentación de los pollos de carne*. *Archivos de Zootecnia*, 597-600.
- Jaramillo, N. (2010). *Morfometría geométrica: principios teóricos y métodos de empleo*. ResearchGate. Obtenido de Nicolás Jaramillo.

- Junior, W., & Bacha, L. (2003). *Sistema Digestivo*. São Paulo: Roca.
- Kondo, N. (2003). *Estudo das características morfométricas de diferentes regiões do intestino delgado e índices zootécnicos em quatro linhagens de frangos de corte*. Tesis Doctoral, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Lee, K., Everest, H., Kappert, H., Frehner, M., Losa, R., & Beynen, A. (2003). *Effect of dietary essential oils on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens*. *British Poultry Science*, 450, 457.
- León, M. (2006). *Proteínas en nutrición artificial*. Obtenido de Senpe: https://senpe.com/documentacion/monografias/senpe_monografias_proteinas_NE3.pdf
- López, N., Afanador, G., & Ariza, C. (2008). *Evaluación del efecto de la suplementación de levaduras sobre la morfometría de vellosidades intestinales y productos de la microflora en pollos*. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 63-76.
- López, E. (2016). *Fisiología Veterinaria*. Obtenido de Academia: https://www.academia.edu/36127831/Aparato_digestivo_de_las_aves_Fisiolog%C3%ADa_Veterinaria
- Macari, M., Luís, R., & Gonzales, E. (2002). *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Brasil : Jaboticabal.
- Madrid, T., Lopez, A., & Parra, J. (2018). *La ingesta de aceite esencial de orégano (Lippia origanoides) mejora la morfología intestinal en Broilers*. *Archivos de Zootecnia*, 70-76.
- Martínez, R., Meuter, A., & Paulus, C. (2009). *Aceites esenciales y ácidos orgánicos: beneficios productivos y sanitarios en las aves*. *Selecciones Avícolas*, 36 - 38.
- Marulanda, J. (2017). *Sistema digestivo de las aves, características, órganos y glándulas*. Obtenido de Paradais-Sphynx: <https://aves.paradais-sphynx.com/temas/sistema-digestivo-de-las-aves.html>

- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (Febrero de 2019). *Organos animales*. Obtenido de Atlas de Histología Vegetal y Animal: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/o-a-digestivo.pdf>
- Mejía, J. (2002). *Histología Veterinaria*. Obtenido de Scribd: <https://es.scribd.com/document/98846400/Histologia-Veterinaria-Juvenal>
- Morillo, A. (2016). *Los antibióticos como promotores de crecimiento en la industria avícola*. Obtenido de Agronoticias: <https://consultagro.com/node/997>
- Orellana, J., Guevara, E., Espinosa, M., & Egas, V. (2013). *Manual de aplicabilidad de las buenas prácticas Avícolas*. Obtenido de Agrocalidad: <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/manual-avicola-08-112016.pdf>
- Ortiz, A. (2006). *Salud Intestinal, Ajuste de Dietas*. Obtenido de Asociación Española de Ciencia Avícola: https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1176982877a.pdf
- Ortiz, A. (2018). *Evaluación de aceites esenciales y antibióticos sobre los índices productivos y morfometría de las vellosidades intestinales en pollos de engorde*. Tesis de Grado. Ecuador : Universidad Técnica de Ambato .
- Ortiz, L. (2014). *Caracterización farmacobotánica de Byrsonima crassifolia y Neurolaena lobata*. Guatemala
- Peinado, J., Ruiz, R., Echavarrí, A., & Rubio, L. (2012). *Garlic derivative PTS-O is effective against broiler pathogens in vivo*. Poultry Science , 2148.
- Pelicano, E., Souzaa, P., Obab, A., Norkus, E., Kodawara, L., & Azevedo, T. (2003). *Morfometría e Ultra-Estrutura da Mucosa Intestinal de Frangos de Corte alimentados com Dietas contendo diferentes Probióticos*. Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias, 125 - 134.
- Peredo, H., Paloa, E., & Lopéz, A. (2009). *Aceites esenciales: métodos de extracción*. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 24 -32.

- Piñón, J. R., Monterrubio, A. L., Meléndez, L. A., Martínez, A. C., Rojo, A. D., Palma, N. G., & Vasquez, R. S. (2015). *Efecto del aceite esencial de orégano en el rendimiento y las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la carne de pollo*. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, 8.
- Pita, S. (2001). *Determinación del tamaño muestral*. Obtenido de Fistera: http://www.fistera.com/mbe/investiga/9muestras/tamano_muestral.pdf
- Pujada, H., Vega, J., Velásquez, C., & Palacios, B. (2019). *Niveles de orégano (Origanum vulgare) en la dieta y su influencia en el rendimiento productivo del pollo de engorde*. *Inv Vet*, 1077-1082.
- Quiroga, P., Riveros, C., Zygadlo, J., Grosso, N., & Nepote, V. (2011). *Antioxidant activity of essential oil of oregano species from Argentina in relation to their chemical composition*. *Food Science and Technology*, 46-48.
- Quiroz, R. H. (2005). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Limusa, S.A. Obtenido de <https://books.google.com.ec/books?id=xRxxXa1Y6EC&lpg=PA167&dq=fisiologia%20de%20coccidiosis%20e n%20aves&hl=es&pg=PA167#v=onepage&q=fisiolog&f=false>
- Ricaurte, S. L. (2005). *Embriodiagnosia y ovoscopia. Análisis y control de calidad de los huevos incubables*. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 1-25. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612812004.pdf>
- Roa, I., & Meruane, M. (2012). *Desarrollo del Aparato Digestivo*. *International Journal of Morphology*, 1285-1294.
- Roofchae, A., Irani, M., Ebrahimzadeh, M., & Akbari, M. (2011). *Effect of dietary oregano (Origanum vulgare L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens*. *African Journal of Biotechnology*.
- Roldán, L. (2010). *Evaluación del uso de los aceites esenciales como alternativa al uso de los antibióticos promotores de crecimiento en pollos de engorde*. Tesis de

Maestría , Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia , Bogotá.

Ruiz, G., Constantino, F., Quintana, J., Cedillo, C., & Urquiza, O. (2008). *Patogenia de Salmonella enteritidis FT 13a y Salmonella enteritidis biovar Issatschenko en pollos de engorda*. UNAM, 15-18.

Sangwan, N., Farooqi, A., Shabih, F., & Sangwan, R. (2001). *Regulation of essential oil production in plants*. Kluwer Academic Publishers, 3, 21.

Scanes, C. (2015). *Sturkie's Avian Physiology*. London: Elsevier.

Shiva, C., Bernal, S., Sauvain, M., Caldas, J., Kalinowski, J., Falcón, N., & Rojas, R. (2012). *Evaluación del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare) y extracto deshidratado de jengibre (Zingiberofficinale) como potenciales promotores de crecimiento en pollos de engorde* . Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 160, 170.

Silva, G., López, S., Ortiz, V., Juárez, F., & López, M. (2012). *Excreción fecal de Salmonella Albany, su aislamiento en la ración alimenticia y repercusión en el estado de salud de un ocelote (Leopardus pardalis) en cautiverio*. Cinvestav, 16 - 18.

Sperandio, F. (2013). *Anatomia e fisiologia das aves domésticas*. Obtenido de Proedu:http://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/1470/An_Fi_Av_Do_Livro_WEB.pdf?sequence=1

Svihus, B. (2014). *Function of the digestive system*. The Journal of Applied Poultry Research, 306 – 314. Obtenido de Liferder: <https://www.liferder.com/sistema-digestivo-aves/>

Toro, M., Manriquez, G., & Suazo, I. (2010). *Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa*. International journal of morphology, 977-990.

- Ventura, A. (2017). *Comparación de tres métodos en la extracción de aceite esencial de orégano silvestre*. Chachapoyas-Perú. Obtenido de Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas: <http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1192/informe%20de%20tesisEisten%20Ventura%20Grandez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Walpole, R., Myers, R., Myers, S., & Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 9ª. ed. México: Pearson.
- Wenk, C. (2002). *Herbs, spices and botanicals: "Old fashioned" or the new feed additives for tomorrow's feed formulations? Concepts for their successful use*. *Biotechnology in the Feed Industry*, 79-97.
- Williams, R. (2005). *Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity*. *Avian Pathology*, 159-161.
- Zamora, G., Macías, J., Meléndez, L., Lara, E., Estrada, E., & Vázquez, R. (2014). *Aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) en variables de calidad de la canal de pollo*. Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-90282015000100004&script=sci_arttext&tlng=en
- Zanuzzi, C., & Barbeito, C. (2014). *Sistema digestivo. Histología de las Aves* (págs. 155 - 194). Buenos Aires: Editorial de la Universidad de La Plata.

ANEXOS



Anexo 1. Aves de 21 días en fase de alimentación.



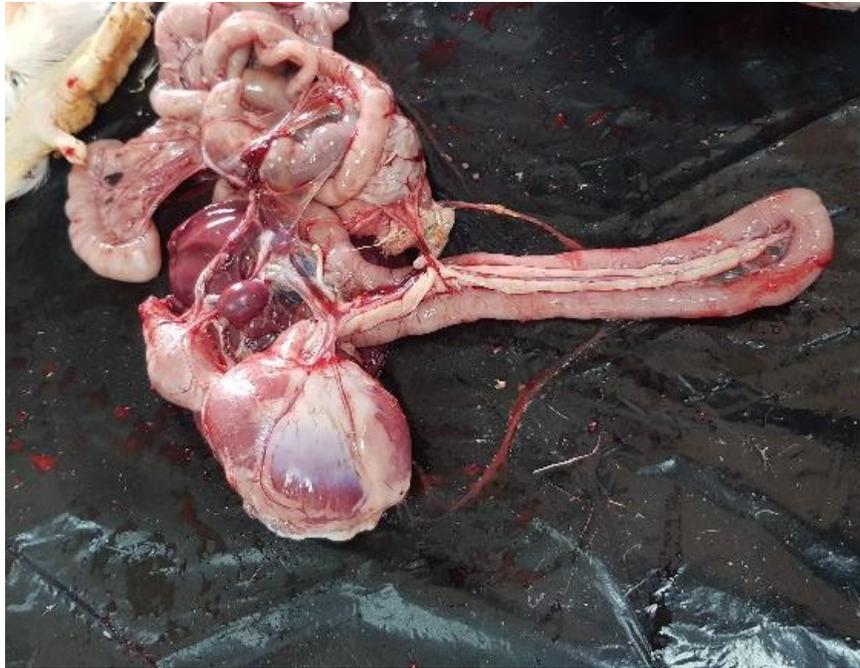
Anexo 2. Aves de 42 días en fase de alimentación.



Anexo 3. Proceso de eutanasia de las aves mediante electrocución.



Anexo 4. Desangrado posterior a la electrocución.



Anexo 5. Exposición del TGI.



Anexo 6. Disección del duodeno.



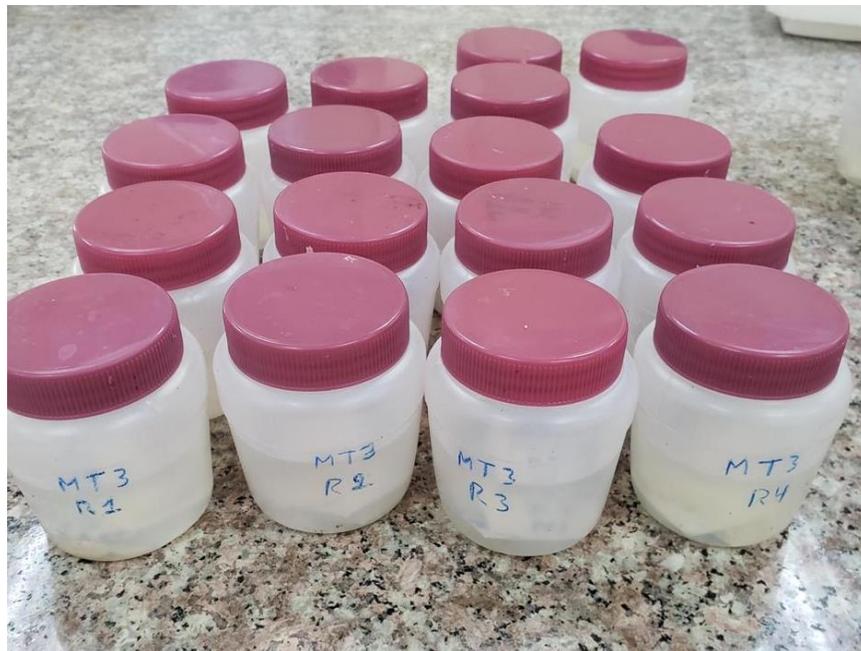
Anexo 7. Evaluación macroscópica del duodeno.



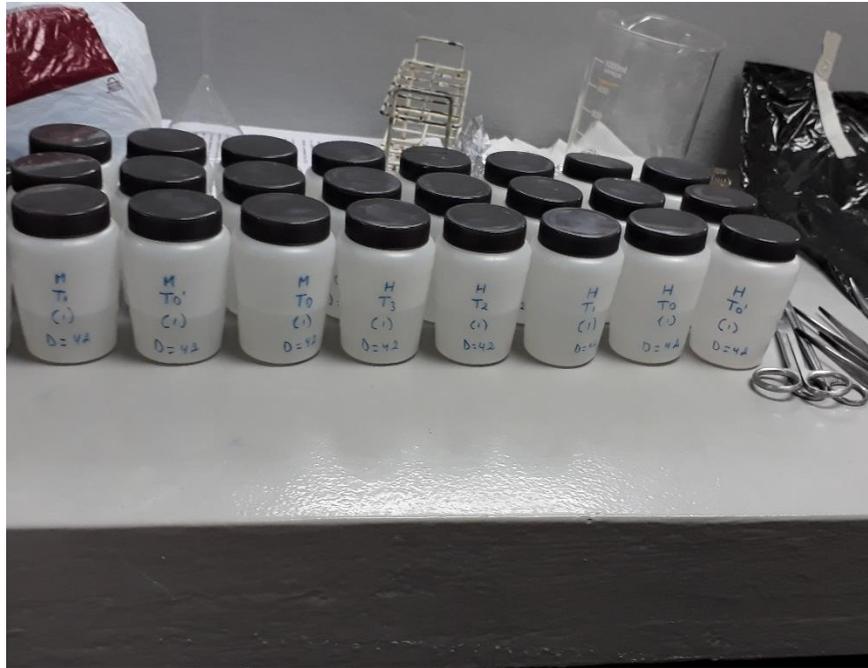
Anexo 8. Selección de las regiones del duodeno.



Anexo 9. Muestra de 1 cm de la porción medial.



Anexo 10. Muestras de 21 días en sus respectivos frascos colectores.



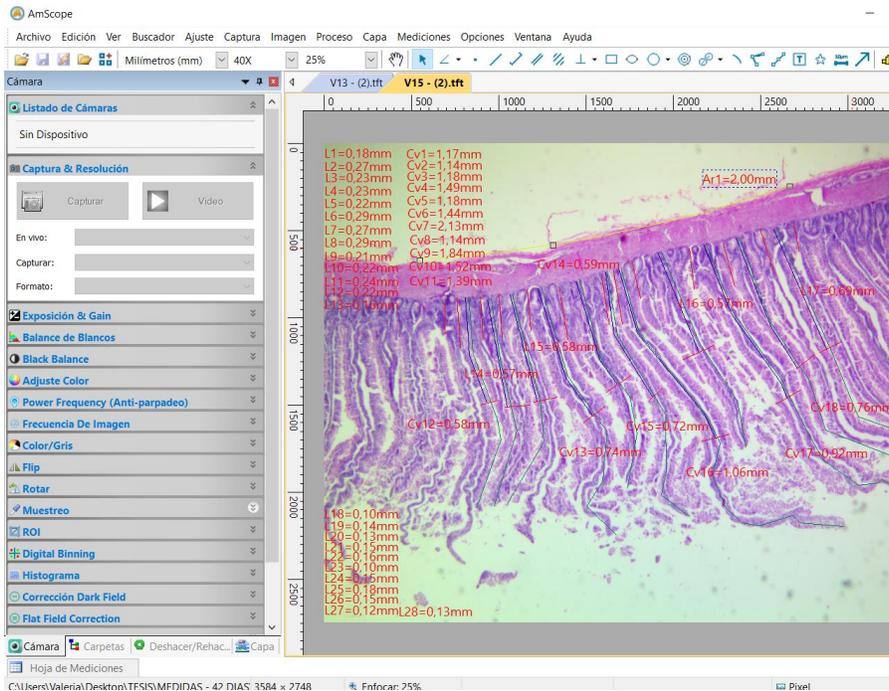
Anexo 11. Muestras de 42 días en sus respectivos frascos colectores.



Anexo 12. Tallado de las muestras.



Anexo 13. Observación y toma de fotos de las placas histológicas.



Anexo 14. Software AmScope 3.0 empleado para la morfometría de vellosidades duodenales.

Ingredientes	Solución
Maíz amarillo	65,64
Harina de soya 48%	26,00
Aceite vegetal	2,00
Harina de pescado 65%	2,00
Carbonato de calcio	1,25
Fosfato dicalcico	1,50
DL-Metionina 99%	0,15
L-Lisina HCL 99%	0,12
Premezcla Vit-Min Aves	0,15
Sal común	0,30
Bicarbonato de sodio	0,49
Atrapador de Toxinas	0,20
Antifungico	0,20

Anexo 15. Tabla de Ingredientes del balanceado.

Nutrientes	Solución
Weight, kg	1,00
Materia Seca, %	87,53
EM Aves, Mcal/kg	3,12
Proteína Cruda, %	19,76
Fibra Cruda, %	2,37
Ext. Etereo, %	2,93
Calcio, %	0,92
Fosf. Disp., %	0,43
Sodio, %	0,28
Arginina, %	1,29
Lisina, %	1,18
Metionina, %	0,50
Met+Cis, %	0,79
Treonina, %	0,81
Triptofano, %	0,26

Anexo 16. Tabla de nutrientes del balanceado.

CONTROL 1		CONTROL 2	
M-T01-R1(1)	H-T01-R1(1)	M-T0-R1(1)	H-T0-R1(1)
M-T01-R1(2)	H-T01-R1(2)	M-T0-R1(2)	H-T0-R1(2)
M-T01-R1(3)	H-T01-R1(3)	M-T0-R1(3)	H-T0-R1(3)
M-T01-R2(1)	H-T01-R2(1)	M-T0-R2(1)	H-T0-R2(1)
M-T01-R2(2)	H-T01-R2(2)	M-T0-R2(2)	H-T0-R2(2)
M-T01-R2(3)	H-T01-R2(3)	M-T0-R2(3)	H-T0-R2(3)
M-T01-R3(1)	H-T01-R3(1)	M-T0-R3(1)	H-T0-R3(1)
M-T01-R3(2)	H-T01-R3(2)	M-T0-R3(2)	H-T0-R3(2)
M-T01-R3(3)	H-T01-R3(3)	M-T0-R3(3)	H-T0-R3(3)

100 ppm		200 ppm		300 ppm	
M-T1-R1-(1)	H-T1-R1-(1)	M-T2-R1-(1)	H-T2-R1-(1)	M-T3-R1-(1)	H-T3-R1-(1)
M-T1-R1-(2)	H-T1-R1-(2)	M-T2-R1-(2)	H-T2-R1-(2)	M-T3-R1-(2)	H-T3-R1-(2)
M-T1-R1-(3)	H-T1-R1-(3)	M-T2-R1-(3)	H-T2-R1-(3)	M-T3-R1-(3)	H-T3-R1-(3)
M-T1-R2-(1)	H-T1-R2-(1)	M-T2-R2-(1)	H-T2-R2-(1)	M-T3-R2-(1)	H-T3-R2-(1)
M-T1-R2-(2)	H-T1-R2-(2)	M-T2-R2-(2)	H-T2-R2-(2)	M-T3-R2-(2)	H-T3-R2-(2)
M-T1-R2-(3)	H-T1-R2-(3)	M-T2-R2-(3)	H-T2-R2-(3)	M-T3-R2-(3)	H-T3-R2-(3)
M-T1-R3-(1)	H-T1-R3-(1)	M-T2-R3-(1)	H-T2-R3-(1)	M-T3-R3-(1)	H-T3-R3-(1)
M-T1-R3-(2)	H-T1-R3-(2)	M-T2-R3-(2)	H-T2-R3-(2)	M-T3-R3-(2)	H-T3-R3-(2)
M-T1-R3-(3)	H-T1-R3-(3)	M-T2-R3-(3)	H-T2-R3-(3)	M-T3-R3-(3)	H-T3-R3-(3)

Anexo 17. Códigos usados para la rotulación de muestras utilizadas para cada tratamiento.