




**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**Facultad de Ciencias Veterinarias**  
**Producción y Patología Aviar**

**Efecto de dos diferentes niveles de Histamina presente en harinas de  
pescado nacionales utilizadas en la Alimentación de Broilers**

Tesis de Grado presentada como parte de los  
requisitos para optar al Grado de **LICENCIADO**  
**EN MEDICINA VETERINARIA**

**Paola Denisse Cretton Birr**  
**Valdivia Chile 1997**

PROFESOR PATROCINANTE:



---


Dra. Aida Cubillos G.

PROFESOR COLABORADOR:

---


Dr. José Miguel Torres C.

PROFESORES CALIFICADORES:



---

Dra. Carmen Gallo S.



---

Dr. Rubén Pulido F.

Fecha de Aprobación: 12 de Agosto de 1997.

***CON AMOR Y GRATITUD, A MIS  
PADRES, IVONNE Y DAGOBERTO,  
Y A MI HERMANO ANDRES.***

## INDICE

	PAGINA
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCION</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIAL Y METODOS</b>	<b>14</b>
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>22</b>
<b>6. DISCUSION</b>	<b>34</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>41</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>46</b>

## **EFFECTO DE DOS DIFERENTES NIVELES DE HISTAMINA PRESENTE EN HARINAS DE PESCADO NACIONALES UTILIZADAS EN LA ALIMENTACIÓN DE BROILERS**

### **1. RESUMEN**

Las deficientes condiciones de manejo y almacenamiento del pescado previo a la elaboración de la harina de pescado, genera aminas biogénicas que ocasionan importantes daños en las aves afectando sus niveles productivos. Por ello se realizó un ensayo utilizando dos partidas de éste producto con niveles conocidos de histamina.

Se utilizaron dos grupos de 120 pollos broilers y se alimentaron durante 42 días con niveles decrecientes de harina de pescado, 14% desde el día 1 al 21, 9% entre los días 22 al 30, y 5% desde el día 31 hasta el final el ensayo. Las cantidades iniciales de histamina en la harina de pescado fueron 9,54 ppm, para la harina de baja histamina y 5.649 ppm para la harina de alta histamina. Se midieron las variables peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia, cada 7 días. Al finalizar el ensayo se evaluó el rendimiento centesimal de las canales y la presencia de erosión de molleja.

Los resultados del ensayo indicaron diferencias significativas ( $p < 0,01$  y  $p < 0,05$ ) para todos los registros correspondientes a peso vivo. La variable ganancia de peso mostró diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en los valores correspondientes a los días 7, 14 y 21. El consumo de alimento no se vio influenciado por la histamina hasta el día 14 donde la diferencia fue altamente significativa ( $p < 0,01$ ). En la conversión alimenticia hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) al día 7 y altamente significativas al día 14 ( $p < 0,01$ ), sin observarse en el resto de los controles.

La diferencia en el rendimiento de la canal entre ambos grupos correspondió a 133 gramos de peso promedio para el tratamiento histamina baja. El grado de erosión de molleja observado al día 42 mostró un mayor porcentaje de erosión en el grupo tratado con histamina alta.

Como conclusión podemos señalar que la histamina presente en la dieta tuvo efectos productivos, afectando principalmente el peso vivo, ganancia de peso, consumo de alimento y rendimiento centesimal y tóxicos, produciendo alteraciones macroscópicas en la molleja y proventrículo, sin ocasionar mortalidad de la aves, por ésta causa.

Palabras claves: pollo broiler, harina de pescado, histamina, erosión de molleja.

## **EFFECT OF TWO DIFFERENT HISTAMINE LEVELS PRESENT IN NATIONAL FISH MEAL USED IN THE BROILERS FEEDING**

### **2.- SUMMARY**

The defficient handling and storage of fish before the elaboration of fish meal produce biogenic amines which cause important damage to chickens affecting their productive levels. A research using two fish meal batches with known histamine levels was carried out.

Two groups of 120 broilers chickens each were fed with decreasing levels of fish meal; 14% between day 1 to 21, 9% between days 22 to 30 and 5% from 31 days to the end of the assay. The initial histamine amount in the fish meal was 9.54 ppm in the low histamine level, and 5,649 ppm in the high level.

The productive variables such as: live weight, weight gain, feed consumption and nutritional conversión were measured weekly. When the trial ended, carcass yield and gizzard erosión were determined.

The results show significant differences ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ ) in all live weight records. The weight gain variable presented significant differences ( $p < 0.01$ ) on days 7, 14 and 21. Consumption was not affected by the histamine treatment untill day 14 when the difference was highly significant ( $p < 0.01$ ). There were some differences in the nutritional conversión ( $p < 0.01$ ) on day 7 and a highly significant difference on day 14. The other controls did not present differences.

The mean carcass yield was 135 gr higher in the low histamine treatment group. The gizzard erosion level on day 44 was greater for the high histamine percentage group.

The analysis of each variable in study leads to the conclusión that the diets with high histamine levels had negative productive effects, mainly on final live weight, weight gain, feed consumption, carcass yield, and toxic effects, with macroscopic lesions in gizzard and proventriculus, without causing mortality.

Key words: Broilers chickens, fish meal, histamine, gizzard erosión.

### 3. INTRODUCCION

#### 3.1. ANTECEDENTES GENERALES

Chile, produce anualmente alrededor de 140 millones de pollos broiler, concentrándose dicha producción en la zona central del país, principalmente Región Metropolitana y VI Región (Castro y Jarpa, 1995; Chile, 1996). La producción de broiler para consumo, alcanzó el segundo semestre de 1995 un total de 70.184.000 aves (Chile, 1996). Considerando un 10% de inclusión de harina de pescado, como promedio en la alimentación de broiler, puede estimarse que sólo para la industria avícola, existe una demanda de aproximadamente 60 mil toneladas certificadas biotóxicológicamente (Castro y Jarpa, 1995). Chile produjo en 1995, 1.551.255 toneladas de harina de pescado, de las cuales alrededor de 200.000 toneladas fueron consumidas localmente por las especies avícolas, acuícolas y porcinas (Castro y Jarpa, 1995, Semap, 1995). En los últimos años la pesca mundial ha ido en incremento aproximándose al récord de 1989 de 100 millones de toneladas, consecuentemente la producción mundial de harina de pescado alcanzó en 1994 aproximadamente 6.5 millones de toneladas, siendo Perú y Chile los principales productores (Castro y Jarpa, 1995).

#### 3.1.2. Antecedentes históricos

La industria de la harina de pescado se inició en Europa Septentrional y en América del Norte a principios del siglo XIX; se basaba principalmente en el sobrante de la captura del arenque, cuyos residuos se empleaban para abonar las tierras, pero desde principios de siglo, éstos se secan y muelen en forma de harina de pescado para alimentación animal. Actualmente, su uso principal corresponde a la alimentación de aves de corral, cerdos y peces, que necesitan proteína de calidad superior. (FAO, 1971). Su aporte a la calidad nutritiva en la alimentación animal radica en el elevado contenido de compuestos nitrogenados, el equilibrio de su composición aminoacídica, su riqueza en vitaminas, su contenido de sustancias minerales como calcio y fósforo, la composición de sus ácidos grasos esenciales y su valor energético (Galleguillos y Romo, 1992).

La harina de pescado por ser un producto de origen animal, posee grandes ventajas y desventajas. Por consiguiente es importante conocer a fondo sus características y evaluar su calidad en base a algunos parámetros fundamentales. Dentro de los aspectos nutritivos pueden considerarse su alto valor proteico (65-68% de proteína digestible) y energético (3000-3200 Kcal/Kg E.M.) y sus características organolépticas, como color, sabor y olor. También se deben tener en cuenta los indicadores de calidad de la harina de pescado, como la presencia de aminos biogénicas, producto de la descomposición proteica, características biotóxicológicas, y presencia o ausencia de peróxidos (Garate, 1995).

### **3.2. PROCESAMIENTO DE LA HARINA DE PESCADO Y FACTORES QUE AFECTAN SU CALIDAD**

Al momento de la captura de los peces, la calidad nutricional de la harina está determinada por la variable especie, debido al contenido proteico y graso; y su calidad biotóxica está influenciada por la frescura de la materia prima y la especie capturada. Según la especie, el efecto de la calidad biotóxica dependerá del contenido de histidina, siendo aquellos pescados de carne roja los de mayor contenido de este aminoácido estructural (Jarpa, 1995).

El sistema más adecuado de procesamiento es aquel que mantiene la integridad estructural de los pescados, evitando así una mayor descomposición en los pozos de almacenamiento. Luego del almacenamiento, el pescado pasa por el cocedor, el prensado donde se obtiene la torta de prensa y el licor de prensa. Este último va a los desburradores, luego a la centrífuga, donde se obtiene el aceite y agua de cola. Esta va a los evaporadores donde es concentrada, alcanzando 40% a 50% de sólidos, más tarde se mezcla con la torta de prensa, pasa a secado y continúa en el enfriador, el molino y finalmente se almacena en bodega con la adición de antioxidante previo al ensacado (Jarpa, 1995).

El prensado influye en la calidad nutricional regulando la cantidad mayor o menor de grasa. Para el secado se emplean temperaturas que van desde 120° a 1000° C y mientras mayor sea ésta, afecta especialmente la disponibilidad de los aminoácidos esenciales y la digestibilidad de la proteína. La industria harinera ha tendido a reemplazar los sistemas de secado directo por sistemas indirectos de vapor y vapor de aire caliente, debido a que éstos permiten un control más uniforme de la temperatura, menor golpe térmico y por consiguiente mejor calidad nutricional (Jarpa, 1995).

#### **3.2.1. Procesos de descomposición del pescado**

La degradación se inicia al momento de la captura del pescado, tanto del material orgánico contenido en el sistema digestivo, como del propio cuerpo. La descomposición del pescado genera cambios físicos y químicos, dentro de los primeros ocurre ruptura, ablandamiento, pérdida de líquido y cambio de coloración. Químicamente las macromoléculas se descomponen por la acción enzimática bacteriana, produciendo los siguientes cambios: las proteínas sufren hidrólisis parcial, ocurre formación de polipéptidos y aminoácidos, que posteriormente son degradados enzimáticamente por la aminodecarboxilasa, que cataliza la transformación de los aminoácidos en aminas biogénicas (Cuadro N°1). Además hay transformación a otros componentes no deseados como amoníaco y metano. Las materias grasas a su vez sufren procesos parciales de hidrólisis, generando ácidos grasos, peróxidos, hidroperóxidos y otros compuestos orgánicos de cadena corta (Zaldívar, 1992).



**Cuadro N°1**  
**RELACION DE AMINOACIDOS Y AMINAS BIOGENICAS.**

<b>Aminoácido</b>	<b>Amina biogénica</b>
Fenilalanina	Fenetilamina
Tirosina	Tiramina
Histidina	Histamina
Lisina	Cadaverina
Arginina	Putrescina
Triptófano	Triptamina
Metionina	Espermidina/Espermina

Fuentes: Zaldívar, 1992, Dale, 1994.

### **3.3. AMINAS BIOGENICAS**

El término aminas biogénicas (AB) se aplica a una serie de compuestos formados en los alimentos como consecuencia de la descarboxilación de los aminoácidos (Baptista de Sousa y Maroño, 1991). Dichas aminas son productos orgánicos de bajo peso molecular, que pueden clasificarse de acuerdo a su estructura química en compuestos alifáticos, aromáticos y heterocíclicos (Eerola y col., 1993; Izquierdo-Pulido y col., 1993).

La degradación proteica se puede producir por acción de las amino descarboxilasas producidas por microorganismos (descarboxilación microbiana) (Osuna, 1984; Baptista de Sousa y Maroño, 1991).

#### **3.3.1. Degradación bacteriana**

Los microorganismos, bajo condiciones favorables pueden desarrollar actividad enzimática sobre los aminoácidos presentes en el tejido muscular y vísceras de los peces. Como consecuencia de ello, actúan las aminoácidosdescarboxilasas que provocan la descarboxilación del aminoácido y formación de la amina correspondiente, mediante la eliminación del grupo carboxilo (Baptista de Sousa y Maroño, 1991).

Para los sistemas enzimáticos la temperatura tiene un rol importante ya que, puede influir en forma favorable en la producción de aminas biogénicas y por lo tanto en la aceleración del proceso de descomposición de los alimentos ( Dale, 1994 ). Además, las AB no son destruidas durante el

subsiguiente proceso de cocción, por lo tanto la situación se asemeja a la de las micotoxinas, las cuales no desaparecen cuando se añaden inhibidores de hongos a los alimentos aviares (Dale, 1994).

La población microbiana experimenta un crecimiento exponencial durante el proceso de pérdida de frescura de la materia prima, que se relaciona con la presencia de cantidades más o menos grandes de AB y sobre todo de histamina. Esta última depende de factores como la especie, calidad y grado de contaminación de la materia prima, es decir, del manejo de la pesca a bordo, en pozos de almacenamiento, y muy especialmente del tiempo y temperatura ambiental presente (Galleguillos, 1994).

Según Zaldívar (1992) una AB puede tener acción variable, dependiendo de la especie que la consume, por ejemplo la histamina podría ser más tóxica en la alimentación de peces que al utilizarla en cerdos. Además, este autor señala que no todas serían dañinas para el metabolismo animal, por ejemplo, la espermina y la espermidina tendrían efectos beneficiosos ya que actuarían como estimulantes del metabolismo. La cadaverina y putrescina son transformadas en el tracto intestinal por la acción oxidativa de las aminoxidasas, sin que se produzcan efectos negativos. Sin embargo, la tiramina, histamina, fenetilamina y agmatina, son elementos que podrían ser catalogados como nocivos, según las cantidades en que se encuentren presentes, ya que son aminas no sensitivas a la catálisis con aminoxidasas (Sopropêche, 1990; Zaldívar, 1992). Actualmente existe poca información del efecto individual de las AB en los animales, pero se sabe que en humanos su ingestión causa distintos síntomas, como cambios en la presión sanguínea, cefalea e incremento en el tránsito intestinal (Sopropêche, 1990).

La industria salmonera nacional basa su formulación de raciones principalmente en harina de pescado, poniendo especial atención en la calidad de ella, pues se sabe que la alimentación prolongada con harina de inferior calidad produce en la trucha arcoiris, (*Onchoryncus mykiss*) inflamación estomacal. A pesar de ello, no habría reducción en la tasa de crecimiento, ni en el apetito de los peces. Sin embargo, no existe duda que esta condición puede influir en la calidad del producto, adelgazando la musculatura de la pared estomacal y disminuyendo en consecuencia el precio de venta de la carne de salmonídeos (Hardy y Castro, 1992). En otras ocasiones, el efecto patológico se ha manifestado en elevadas tasas de mortalidad que cesan una vez suprimida la alimentación con harina tóxica (Galleguillos y Romo, 1992).

### **3.3.2. Parámetros de calidad en harina de pescado**

Actualmente la determinación de aminas biogénicas se realiza mediante Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) y la cantidad de AB se expresa en miligramos por 100 gramos o en partes por millón (ppm). Se dice que para una harina de pescado la sumatoria de estas AB, debería variar entre cero, para un producto ideal, hasta 10.000 ppm o más, para un producto muy deteriorado (Zaldívar, 1992) (Cuadro N°2). En atención a que la intoxicación por histamina tiene incidencia a nivel mundial, en algunos países se ha fijado como contenido máximo permitido 200 mg/Kg para los productos de la pesca; valores entre 200 y 500 mg/Kg, implicarían un estado de

alteración en el producto, pero con escasas apariciones de intoxicación. La FDA (Food and Drug Administration) ha establecido en EE.UU. un nivel máximo de 500 mg/Kg en atún, aunque considera que una concentración de 200 mg/Kg indicaría presencia de alteración. Así mismo la Comunidad Económica Europea ha establecido 200 mg/Kg para pescado de la familia *Scombridae* y *Cupleidae* (Baptista de Sousa y Maroño, 1991). En Chile en un principio se consideraron 1.500 ppm como valor límite, para una harina de pescado de buena calidad, luego éste valor se rebajó hasta 1000 ppm, sin embargo algunos países plantean un máximo de 300 ppm, cifra que se estima baja y difícil de lograr en forma regular en el producto chileno (Zaldívar, 1992). En la siguiente tabla se muestran los distintos niveles de aminas biogénicas en el proceso de descomposición del pescado.

**Cuadro N°2**

**NIVEL DE AMINAS BIOGENICAS (mg/g) DE PESCADO CRUDO EN DISTINTAS ETAPAS DE DESCOMPOSICION.**

Tipo de Amina	Pescado Crudo		
	Fresco	Moderadamente Fresco	Descompuesto
Histamina	<30	440	830
Cadaverina	330	1000	1600
Putrescina	230	230	630
Tiramina	400	400	800

(Hardy y Castro, 1992.)

### 3.3.3. Formación de histamina

La histamina se forma en los alimentos por acción de las bacterias poseedoras de la enzima histidina descarboxilasa la cual actúa sobre L-histidina (Taylor, 1988). Las bacterias productoras de histamina forman parte de la microflora normal de los intestinos, piel o agallas del atún y otras especies de pescado. Las condiciones de tratamiento posteriores a la muerte son las que provocan el crecimiento de estas bacterias (Behling y Taylor, 1962). Se determinó que las bacterias responsables de la degradación histamínica corresponderían a *Proteus morgani*, *Klebsiella pneumoniae* y otras como *Salmonellas*, *Shigellas*, *Clostridium* y *Escherichia coli* (Baptista de Sousa y Maroño, 1991).

#### 3.3.3.1. Mecanismo de acción de la histamina

La histamina, es conocida por estimular la secreción de los jugos gástricos en aves y mamíferos (Newberne y col., 1956), actuando sobre los receptores H<sub>2</sub> histaminicos ubicados en el proventrículo, estos estimulan la secreción acida gástrica, cuando esto ocurre en exceso se producen erosiones en la molleja (Hino y col., 1987). La acción sobre los receptores H<sub>2</sub> es mediada por el AMPc, el cual actúa como segundo mensajero sobre los receptores H<sub>2</sub> del proventrículo y estimula la secreción del estómago glandular (Ito y col, 1988).

A diferencia de otras especies domésticas, el estómago glandular de las aves está constituido por un único tipo de células secretoras que al ser estimuladas producen tanto ácido clorhídrico, como una enzima peptídica que constituye el jugo gástrico, al que se le atribuye poder proteolítico (Rodríguez y col., 1995). Se ha comprobado el efecto de la histamina sobre la presencia de erosión de molleja, ya que al emplear un antagonista de los receptores H<sub>2</sub> histamínicos, tal como el fármaco cimetidina, se contrarresta el efecto estimulador sobre la secreción de ácido gástrico y por lo tanto disminuye la incidencia de erosión de molleja (Masamura y col. 1985; Miyazaki y Umemura, 1987a; Ganong, 1988). Además pudieron demostrar que la erosión de molleja era producida por el estímulo sobre los receptores H<sub>2</sub>, ya que al utilizar dicha droga estos se bloquearon completamente, no así los H<sub>1</sub> y el cuadro erosivo no se presentó (Masamura y col. 1985).

Masamura y col. (1985), determinaron que la secreción total de ácido gástrico es función de la cantidad de histamina administrada.

### **3.3.4. Vómito Negro y formación de mollerossina**

El Vómito Negro es una enfermedad tóxica, descrita en Ecuador, Chile, México, Perú y algunos países europeos, causada al parecer por el uso de harina de pescado de pobre calidad en la ración de pollos. La mortalidad puede alcanzar un 15%, siendo normalmente menor y la morbilidad puede llegar hasta el 30% (Salsbury, 1995). Según González (1984), la mortalidad puede ir de 1 a 10% en pollos, pollas, gallinas y pavos, en estas aves se aprecia tanto un menor consumo de alimento, como una menor conversión alimenticia, despigmentación y baja de postura que puede llegar hasta el 30%. La susceptibilidad es mayor en pollos broilers y ponedoras de huevos de color que gallinas Leghorn blancas. Osuna (1984), señala que la incidencia es mayor en pollos de engorde, que en ponedoras presentándose en los primeros, entre la tercera y cuarta semana hasta sacarlos al mercado.

Un signo característico de la enfermedad es la presencia de vómito negro, además hay pérdida de apetito, deshidratación y energía. También hay letargo, diarrea, palidez, plumas erizadas, distensión del buche, presencia de un fluido negro, en la molleja, el buche y el proventrículo, que sale por la nariz y boca, al tomar el ave de las extremidades, finalmente sobreviene mortalidad. El color del fluido se debe a la harina de pescado o posiblemente a las hemorragias y sangre digerida como consecuencia de las úlceras de la molleja (Osuna, 1984; Salsbury, 1995).

Osuna (1984), relaciona el Vómito Negro con la presencia de ulceraciones y erosiones de la molleja, que pueden penetrar la mucosa formando úlceras y llegar a perforar la pared muscular, y permitir que el contenido gástrico salga a la cavidad abdominal.

La etiología de esta enfermedad, se atribuye a la toxina aislada de la harina de pescado sobrecalentada, mollerossina, denominada por los japoneses gizzerossina. El término mollerossina

relaciona a la molleja ("moll"), con erosiones ("eros"), inducidos por un tóxico derivado de la histidina (Osuna, 1984; 1989a; 1989b).

Esta toxina se obtiene de harinas de pescado ricas en histidina libre y calentadas a temperaturas elevadas por varias horas (120°C por cinco horas o 135° por tres horas o 160° por una hora). Es decir una harina de pescado no tóxica pero con concentraciones de histidina por encima de 100mg/100g antes del calentamiento, se puede convertir en tóxica al sobrecalentarse por un tiempo limitado (Osuna,1984).

La mollerossina se forma al reaccionar por sobrecalentamiento la L-histidina con el radical amino epsilon de la usina. Histidina forma parte de los aminoácidos solubles del pescado y se puede encontrar en el extracto acuoso. Por su parte usina puede permanecer libre para reaccionar con el radical amino epsilon, pero no el a el cual forma parte del enlace peptídico (Osuna, 1989a; 1989b).

#### **3.3.4.1 Mecanismo de acción de mollerossina**

Masamura y col (1985), estudiaron el efecto de mollerossina sobre la secreción gástrica. Concluyeron que la disminución del pH gástrico por acción de mollerossina sugiere que ella estimula la secreción de ácido gástrico, al estar presente en la dieta. Asimismo la inyección endovenosa de mollerossina disminuye el pH gástrico y aumenta el contenido de ácido total gástrico. Al igual que histamina la acidez gástrica total es función de la cantidad de mollerossina administrada.

Osuna, (1984) señala que la harina de pescado que contenga mollerossina estimula la secreción de pepsina y ácido clorhídrico y esto a su vez causa lesiones y ulceraciones de la molleja.

La mollerossina actúa de modo similar a histamina sobre la secreción acida del proventrículo, ambas estimulan los receptores H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> histamínicos, pero se considera que la estimulación H<sub>2</sub> es la más responsable de la secreción acida (Osuna, 1989a; 1989b). La mollerossina se absorbe en forma libre en el duodeno y es transportada al torrente sanguíneo, pudiendo detectarse en el plasma y actuando posteriormente en los receptores H<sub>2</sub> histamínicos del proventrículo, causando un aumento de secreción gástrica (Osuna, 1989a; 1989b).

#### **3.3.5. Erosión de molleja**

La erosión de molleja es una patología asociada por los avicultores a cuadros alimenticios causados por harina de pescado en malas condiciones de elaboración (Rodríguez y col., 1995). Las lesiones producidas tanto por histamina como mollerossina sobre el sistema digestivo son descritas por Cover y Paredes (1971), quienes encontraron lesiones desde la ingluvia, hallándose ésta áspera y con presencia de un fluido oscuro en el lumen, el proventrículo se presenta enrojecido, con las paredes engrosadas, glándulas prominentes, siendo los cambios más evidentes en la zona de la unión proventrículo-molleja, apreciándose edema e inflamación. La molleja en las etapas tempranas de la

enfermedad muestra pequeñas hemorragias bajo la cubierta de queratina y el órgano eventualmente sufre alteraciones, también hay presencia de fluido oscuro. En algunas aves las úlceras se hacen más profundas y ocurre perforación del órgano, localizándose de preferencia en la zona próxima al duodeno. Cuando esto ocurre sobreviene peritonitis lo cual conlleva a la muerte del ave. Además hay atonía de la molleja ya que se aprecia llena de alimento y con presencia de residuos en su interior. En el intestino delgado aparece una enteritis catarral, edema en incremento y presencia de hemorragia. Johnson y Pinedo (1971); describen un cuadro similar también asociado al consumo de harina de pescado en mal estado. Harry y col. (1975), describen que la erosión de molleja se acompaña de anomalías en el proventrículo, entre ellos alargamiento, flaccidez y cambios microscópicos como incremento de las papilas de la superficie de la mucosa y aumento de la secreción glandular, todos estos cambios asociados a la inclusión de histamina en el alimento en niveles conocidos.

### **3.4. SCORE BIOTOXICOLOGICO**

Además de los parámetros químicos utilizados tradicionalmente para la harina de pescado, se ha comenzado a incorporar criterios para evaluar calidad, uno de ellos es el llamado score biotóxico (Galleguillos y Romo, 1992).

Esta evaluación biotóxica, hace posible establecer el nivel máximo de inclusión de harina de pescado en dietas para aves sin riesgos patológicos (Galleguillos y Romo, 1992).

El score biotóxico es una prueba biológica, que permite probar harina de pescado en pollitos y hacer una estimación objetiva, en un período breve, de su calidad. También es posible determinar qué cantidad de harina de pescado probada se puede emplear sin problemas, para alimentación aviar o de lo contrario puede derivarse a otras especies animales (González, 1985).

En nuestro país, Fundación Chile desde 1978 tuvo un papel clave en el establecimiento de un sistema de clasificación de la harina de pescado, cuyo objetivo era prevenir las pérdidas económicas por lesiones de molleja y vómito negro. Se basa en ensayos biotóxicos, para detectar harinas con altos niveles de histamina y mollerina (Castro, 1987; Castro, 1991; Hardy y Castro, 1992).

Esta prueba biotóxica, requiere de pollitos broiler de un día de edad, baterías de crianza y dietas experimentales. La dieta se formula con aproximadamente 50% de harina de pescado y un 50% de dieta basal que contiene maíz y una premezcla de vitaminas y minerales. Los pollos de un día de edad, se someten a una alimentación de "curación" por un período de cuatro días con dieta basal, libre de harina de pescado. Luego del cuarto día se cambia a la dieta que contiene harina de pescado, la que se administra por siete días, al cabo de los cuales los pollitos se sacrifican y se extraen las mollejas para su evaluación. Esta se hace sobre la base de un patrón fotográfico, calificando las lesiones de las mollejas desde grado 0 a 3, valores que se ponderan obteniendo el

score biotóxico que va de 0,1 a 3,0 lo que permite clasificar las harinas de pescado de acuerdo a la siguiente pauta (Galleguillos y Romo, 1992; 1994):

#### **3.4.1. Harinas de pescado de toxicidad normal:**

Son consideradas aquellas cuyo score va de 0,1 a 0,5 y su nivel de toxicidad no causa ningún daño o lesión en las mollejas, asegurando un óptimo comportamiento nutricional al utilizarlas en la dieta animal (Castro, 1987; Cesmec, 1990).

#### **3.4.2. Harinas de pescado de toxicidad leve:**

Estas harinas alcanzan puntajes entre 0,6 a 1,0 y causan lesiones histopatológicas muy leves en la molleja, pequeñas úlceras, hemorragias y necrosis. Estas harinas se deben utilizar con ciertas restricciones en las distintas etapas de crecimiento de broiler (Castro, 1987; Cesmec, 1990).

#### **3.4.3. Harinas de pescado de toxicidad mediana:**

Son aquellas cuyo score varía entre 1,1 a 1,8 causando evidentes signos de lesiones histopatológicas en extensas áreas de la molleja (úlceras, necrosis). Estas harinas deben utilizarse con niveles muy restringidos en alimentación animal (Castro, 1987; Cesmec, 1990).

#### **3.4.4. Harinas de pescado de toxicidad grave:**

En esta clasificación se considera a las harinas con score 1,6 a 3,0 y dan origen a severas y mortales lesiones histopatológicas de la molleja, destrucción de la capa córnea y pérdida de revestimiento por la presencia de un gran número de áreas hemorrágicas, necróticas y ulcerosas, presencia de fluido oscuro (Vómito Negro). Estas harinas de pescado no se recomienda utilizarlas en alimentación y su uso implica graves riesgos en la producción (Castro, 1987; Cesmec, 1990).

### **3.5. DETERMINACION DE AMINAS BIOGENICAS**

Además del score biotóxico para clasificar harinas según el daño que causen en la molleja de las aves, se determinan índices cuantitativos de calidad (Zaldívar, 1992), entre los que se pueden señalar los siguientes:

#### **3.5.1. Índice de Histamina:**

Valores de histamina que sobrepasen los 1000 a 1500 ppm, indicarían una harina corriente y no una de calidad especial o "prime". Sin embargo este índice no sería el más adecuado, ya que no considera la presencia de tiramina que es más dañina que histamina (Zaldívar, 1992).

### 3.5.2. Sumatoria de Aminas Biogénicas:

Consiste en la suma de cuatro aminas biogénicas, histamina, putrescina, cadaverina y tiramina. Zaldívar (1992), sostiene que debe otorgarse mayor valor a tiramina, fenetilamina e histamina y no considerar aquí a cadaverina y putrescina por no incidir en el metabolismo animal.

### 3.5.3. Índice de Aminas Biogénicas:

Este indicador denominado índice de Aminas Biogénicas (BAI), se determina de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{BAI: (Pu + Ca + Hi)/(I + Espermina + Espermidina)*}$$

\* Valores expresados en ppm. El BAI se emplea para medir Aminas Biogénicas en pescado congelado o pescado fresco (Zaldívar, 1992; Sopropéche, 1990).

### 3.5.4. Índice de Aminas Biogénicas en Harina de Pescado:

Este índice pondera la incidencia de las aminas biogénicas y la cantidad de proteína presente en harina de pescado. Cuya fórmula es la siguiente:

$$\text{BAI en Harinas de Pescado} = \frac{(\text{Pu} + \text{Ca} + 10 \text{ Hi} + 20 \text{ Ty} + 10 \text{ Ph})}{\% \text{ de Proteína Cruda.}}$$

Los valores pueden oscilar entre 0 y 400, y considera una harina de pescado de buena calidad la que se acerque a 0 y menos deseable si se encuentra cerca de los 300 a 400. El BAI de harina de pescado mostraría en mejor forma el daño causado por la presencia de aminas biogénicas, y sería el mejor indicador de la presencia de ellas en harinas de pescado (Sopropéche, 1990; Zaldívar, 1992).

## 3.6. IMPORTANCIA DE LAS AMINAS BIOGENICAS

Su importancia varía según la naturaleza de cada amina; Dale (1994) señala que sus efectos se encuentran poco investigados y que la histamina sería la más estudiada de ellas, más aún se ha reportado que al remover de la alimentación subproductos de origen animal que contenían altos niveles de aminas biogénicas, ha habido un repentino mejoramiento en el rendimiento de lotes de pollos de engorde junto con la desaparición de las lesiones anteriormente detalladas, que se considera están asociadas con estos compuestos.



En 1960, Shifrine y col, demostraron que histamina era tóxica cuando se administraba en forma oral a los pollos en términos de pérdida de peso y cambios patológicos en el tracto digestivo. Poole (1994), describió que en algunas granjas de aves se detectaban pobres ganancias de peso y baja conversión alimenticia las que desaparecieron al eliminar algunos componentes de la dieta. El autor al realizar investigaciones más prolijas pudo determinar que la ración consumida por los pollos era alta en AB, debido a que las materias con que se habían elaborado, habían permanecido sin procesar durante un tiempo, lo que favoreció el desarrollo de aminas biogénicas.

Estos hallazgos tanto de campo, como experimentales han sido el motivo para realizar este trabajo de tesis, que tiene como hipótesis que pollos broilers alimentados con harina de pescado con altos niveles de histamina presentan índices productivos más bajos, que los alimentados con harina de pescado con niveles inferiores de histamina.

## **4. MATERIAL Y METODO**

### **4.1. MATERIAL**

#### **4.1.1. Harinas de Pescado:**

Se utilizaron dos partidas de harina de pescado que fueron seleccionadas en base a la cantidad de Histamina que contenían, estas harinas provenían de dos pesqueras diferentes A y B. Posteriormente fueron sometidas a un homogeneizado para uniformar su contenido. Para ello se utilizó un mezclador de 100 kilos, donde fueron depositados aproximadamente 5 kilos de cada saco (20 sacos de 50 kilos cada uno), mezclándose durante 10 minutos, cada vez. De estas mezclas se tomó una muestra y una contramuestra, de cuatro kilos cada una de ambas harinas de pescado, para ser enviada al Laboratorio. Aquí ambas muestras fueron sometidas a un Análisis Químico Proximal, para determinar la composición nutritiva (Anexo 8), Análisis de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), (Anexo 5) para cuantificar la cantidad de histamina y finalmente a un Score Biotoxicológico. Posteriormente las harinas fueron utilizadas para elaborar las raciones en los porcentajes correspondientes según cada etapa de crianza. A cada ración se le realizó un análisis químico proximal (Anexo 8) y un análisis de HPLC, para determinar la cantidad de histamina. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio Central de Agrícola Super Ltda.

#### **4.1.2. Animales de Experimentación**

Las aves utilizadas fueron 240 pollitos broiler machos, de un día, de la línea genética Ross 308.

### **4.2. METODO**

#### **4.2.1. Composición de las dietas utilizadas según etapa de crianza**

La alimentación se realizó en cuatro etapas, las cuales tenían distintos porcentajes de incorporación de harina de pescado, y fueron cambiadas según la edad de las aves, (Cuadros N°3, N°4, N°5, N°6)

**CUADRO N°3**  
**COMPOSICION DE LA DIETA INICIAL PARA TRATAMIENTOS CON HISTAMINA (BAJA Y ALTA UTILIZADA DESDE EL DIA 1-21 (%))**

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta Inicial Histamina Baja</b>	<b>Dieta Inicial Histamina Alta</b>
Maíz Nacional	69,83	70,43
Harina de Pescado	14,10	14,10
Soya Paraguaya	11,70	12,00
Harinilla de Trigo	1,60	0,60
Fosfato bicálcico	0,2	0,3
Conchuela	0,90	0,90
Otros <sup>1</sup>	1,67	1,67

<sup>1</sup> Vitaminas, minerales, sal, DL-Metionina, promotor del crecimiento, anticoccidial

**CUADRO N° 4.**  
**COMPOSICION DE LA DIETA MEDIANA PARA TRATAMIENTOS CON HISTAMINA (BAJA Y ALTA) UTILIZADA DESDE EL DIA 22 AL 30 (%).**

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta Mediana Histamina Baja %</b>	<b>Dieta Mediana Histamina Alta %</b>
Maíz Nacional	70,25	70,43
Soya Paraguaya	15,60	14,90
Harina de Pescado	8,30	9,00
Harina de Plumas	1,50	1,50
Aceite de Faenadora	1,00	1,00
Harina de Aves	0,50	0,50
Fosfato Bicálcico	0,3	0,4
Conchuela	0,60	0,50
Otros <sup>1</sup>	1,95	1,77

<sup>1</sup> Vitaminas, minerales, sal, DL-Metionina, promotor del crecimiento, anticoccidial, antioxidante

**CUADRO N°5**  
**COMPOSICION DE LA DIETA TERMINAL PARA TRATAMIENTOS CON HISTAMINA (BAJA Y ALTA UTILIZADA DESDE EL DIA 30 AL 36 (%)).**

<b>Nutrientes</b>	<b>Dieta Terminal Histamina Baja</b>	<b>Dieta Terminal Histamina Alta</b>
Maíz Nacional	73,76	74,06
Soya Paraguaya	13,60	13,30
Harina de Pescado	5,10	5,40
Harina de Plumas	2,50	2,50
Harina de Aves	1,00	1,00
Aceite Faenadora	0,80	0,70
Fosfato bicálcico	0,4	0,5
Conchuela	0,60	0,60
Harina Cerdos	1,00	1,00
Otros <sup>1</sup>	1,24	0,94

<sup>1</sup> Vitaminas, minerales, sal, DL-Metionina, promotor del crecimiento, anticoccidial, antioxidante

**CUADRO N°6**  
**COMPOSICION DE LA DIETA FINAL PARA TRATAMIENTOS CON HISTAMINA (BAJA Y ALTA) UTILIZADA DESDE EL DIA 37-42 (%).**

<b>Nutrientes</b>	<b>Dieta Final Histamina Baja %</b>	<b>Dieta Final Histamina Alta %</b>
Maíz Nacional	73,76	74,06
Soya Paraguaya	13,60	13,30
Harina de Pescado	5,10	5,40
Harina de Plumas	2,50	2,50
Harina de Aves	1,00	1,00
Aceite de Faenadora	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	0,6	0,4
Conchuela	0,80	0,70
Harina de Cerdos	0,60	0,60
Otros <sup>1</sup>	1,04	1,04

<sup>1</sup> Vitaminas, minerales, sal, DL-Metionina, promotor del crecimiento, antioxidante

La cantidad necesaria de alimento para cada etapa se estimó multiplicando los factores de consumo de la Línea Genética (Ross Breeders, 1996) más el 30%, por el número de aves, en cada grupo de ensayo; detallados en el siguiente cuadro.

**CUADRO N°7**  
**CONSUMO DE ALIMENTO POR POLLO, SEGÚN CADA ETAPA DE CRIANZA.**

<b>Etapas (días)</b>	<b>Consumo Real (g)</b>	<b>Consumo + 30% (g)</b>
Inicial (1-21)	1.148	1.492
Mediana (22-30)	1.284	1.669
Terminal (31-36)	1.012	1.316
Final (37-42)	1.175	1.528
<b>Total (g)</b>	<b>4.619</b>	<b>6.005</b>

#### **4.2.2. Pesaje de las aves**

Las aves fueron pesadas cada siete días, en grupos de 20, para ello se introducían en una bandeja, y se registraba el peso grupal y el número de individuos, para estimar el peso promedio. Se utilizó una balanza marca Precisión Hispana, Modelo 7060 CUF, con capacidad para 60 kilos y sensibilidad de 1 gramo.

#### **4.2.3. Ganancia de peso semanal**

El primer registro de ganancia de peso se estimó obteniendo la diferencia entre el peso al nacimiento y el valor registrado al día 7, y posteriormente restando al nuevo peso el de la semana anterior.

#### **4.2.4. Medición del consumo de alimento**

El alimento fue administrado a libre consumo, registrando la cantidad dada en cada ocasión. Al momento de pesar las aves, el alimento fue retirado y pesado, incluyendo el peso del comedero de cada corral, cuyo peso era conocido, para luego estimar el consumo neto. El alimento consumido durante la semana, se calculó sumando el alimento dado entre ambos pesajes, menos el alimento sobrante en los comederos.

Para efectos del Análisis Estadístico de los datos, se descontó el alimento consumido por las aves que murieron en el ensayo. Este cálculo se realizó del siguiente modo:

$$\text{Consumo Pollo Muerto (CPM)} = \text{Conversión grupal} * \text{Peso pollo}$$

#### 4.2.5. Conversión alimenticia:

La conversión alimenticia que relaciona consumo de alimento y peso vivo, se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Conversión Alimenticia} = \frac{\text{Alimento Consumido}}{\text{Peso Pollos Vivos}}$$

#### 4.2.6. Mortalidad

Las aves que murieron durante el ensayo fueron registradas y pesadas; además se consideró el peso de sus compañeros de corral y del alimento presente en los comederos, para poder estimar el consumo de alimento del pollo muerto, hasta ese día. También se realizó la necropsia respectiva, registrando la causa de muerte, en cada caso.

#### 4.2.7. Ensayo de crianza

Se utilizaron 240 pollitos broiler machos, de la línea genética Ross 308, divididos en dos grupos separados en 6 repeticiones de 20 pollos cada uno, distribuidas al azar dentro del pabellón de Ensayo, Fotografía N°1.

El pabellón posee una dimensión de 50 metros de largo por 8 metros de ancho; en sus cuatro paredes cuenta con sistema de cortinas móviles, para una adecuada ventilación, además el techo está revestido con aislapol el cual permite mantener una temperatura homogénea en el interior, el piso de cemento se cubrió con una cama de viruta la cual se mantuvo durante todo el ensayo.

El sistema de calefacción fue proporcionado por campanas de gas distribuidas una por cuatro corrales, ubicadas en el vértice de los mismos, éstas se encuentran suspendidas del techo, lo que permite que los pollitos se agrupen bajo ellas.



Fotografía N° 1 : Vista panorámica del pabellón experimental

El día uno del ensayo, se pobló el pabellón con pollitos de un día que provenían de reproductoras cuya edad fluctuaba entre 45 y 50 semanas, considerando un 30% más del total de aves a utilizar, para efectos de selección. Al inicio del ensayo se procedió a realizar la selección de las aves para ello se pesó el 10% del total de individuos, de este grupo se obtuvo el peso promedio y se estimó la primera desviación estándar de la muestra, entre ambas desviaciones estándar positiva y negativa se ubicó el rango de peso, dentro del cual serían seleccionadas las aves a utilizar en el ensayo.

Los pollos se mantuvieron sin alimento durante dos horas para favorecer el consumo de agua y evitar la deshidratación. Posterior a las dos horas, las aves fueron alimentadas con la ración Inicial correspondiente a cada tratamiento y fue administrada en bandejas.

El día 7 del ensayo se realizó el primer pesaje grupal de las aves, registrando las variables peso, alimento sobrante y número de aves. Del mismo modo el pesaje se repitió a los 14, 21, 28, 35, 42 y el día 44, previo al sacrificio de las aves.

Los cambios de alimentación se realizaron el día 21, 31 y 37 del ensayo, pasando de la ración Inicial (1-21) a Mediana (22-30) y de la ración Terminal (31-36) a Final (37-42).

La presentación del alimento para la fórmula Inicial fue como alimento peletizado y quebrantado, pasando a peletizado, en la fórmula Mediana y así se mantuvo hasta el final del

ensayo. Al realizar cada cambio de fórmula, el alimento se retiró de los comederos, y fue pesado, para registrar el consumo de alimento hasta ese momento.

Previo a los cambios de ración se envió a la Fábrica de Alimentos, la formulación respectiva para la elaboración del alimento, de cada partida se enviaron muestras al laboratorio para su análisis químico proximal y HPLC, cuyos resultados se señalan en el Anexo 8 y 5.

El estatus inmunológico de las aves se mantuvo según el plan de vacunación detallado en el Anexo 6.

#### **4.4. PRUEBA DE RENDIMIENTO CENTESIMAL**

Las aves fueron sacrificadas el día 44 del ensayo. Para este fin fueron trasladadas a la Planta Faenadora. Previo a ello se realizó un pesaje final de las aves, y fueron dejadas en ayuno durante 7 horas.

La faena de matanza se realizó según el procedimiento normal. Las aves fueron colgadas en la línea de faena en 2 grupos separados, según tratamiento. Cada una de las partes fue depositada en bandejas, para su pesaje posterior. Las canales fueron retiradas de la línea de faena para ser pesadas en caliente.

Las diferentes partes del ave fueron pesadas en conjunto por grupo de tratamiento. Luego se estimó un rendimiento porcentual, según el peso vivo de las aves, registrado en el pesaje final.

#### **4.5. EROSION DE MOLLEJA**

Posterior al faenamiento las mollejas y proventrículos de todas las aves fueron retiradas y sometidas a un examen macroscópico y clasificadas según los siguientes parámetros de Horaguchi y col., (1980).

Lesión Grado 0: Estómagos musculares sin ninguna lesión, normal.

Lesión Grado 1: Estómagos musculares con tres erosiones puntuales pequeñas.



Lesión Grado 2: Estómagos musculares con más de tres erosiones puntuales o una grande con signos de úlceras hemorragias o congestiones.

Lesión Grado 3: Estómagos musculares con 2 erosiones grandes ulceradas, piel engrosada, presencia de perforaciones o Vómito Negro.

#### **4.6. ANALISIS ESTADISTICO**

El análisis estadístico contempló una prueba de Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov y una Prueba de t de Student (Zar, 1974), para este efecto se utilizó el programa estadístico ESTADÍSTICA for WINDOWS, Reléase 4.2, STARTSOFT INC., 1994.

## 5. RESULTADOS

Los análisis de los resultados obtenidos de las variables medidas luego de aplicar sobre los broiler machos los tratamientos de alimento concentrado que tenían bajo y alto contenido de histamina, se detallan en el mismo orden presentado para el material y método, además de la mortalidad correspondiente a cada grupo y sus respectivas causas; finalmente se presentan los resultados concernientes a la prueba de rendimiento centesimal y la evaluación macroscópica de las mollejas al finalizar el ensayo.

### 5.1. ANALISIS DE LAS HARINAS DE PESCADO

En el siguiente cuadro se muestra el resultado del análisis de Cromatografía Líquida de Alta Presión (**HPLC**) y del Score Biotoxicológico, mostrando las características toxicológicas de ambas harinas de pescado.

#### CUADRO N° 8

#### RESULTADOS DEL ANALISIS DE HPLC Y SCORE BIOTOXICOLOGICO, DE LAS HARINAS DE PESCADO.

	<b>Harina A</b>	<b>Harina B</b>
S. Biotoxicológico	0,00	1,4
Histamina	9,46 ppm	5.649,0 ppm

#### 5.1.1. Análisis de HPLC de las raciones

En el cuadro N° 9 se indica la cantidad de histamina presente (ppm) en cada una de las raciones utilizadas en el ensayo. La determinación se realizó a través del análisis de HPLC (Anexo 5).

**CUADRO N° 9**  
**DETERMINACION DE HISTAMINA EN LAS RACIONES DEL ENSAYO (ppm)**

RACIONES (DIAS)	TRATAMIENTOS	
	HISTAMINA BAJA	HISTAMINA ALTA
INICIAL (1-21)	2,8	672,43
MEDIANA (22-30)	8,31	441,9
TERMINAL (31-36)	4,75	263,32
FINAL (37-42)	2,06	246,91

### 5.2. PRUEBA DE BONDAD DE AJUSTE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV

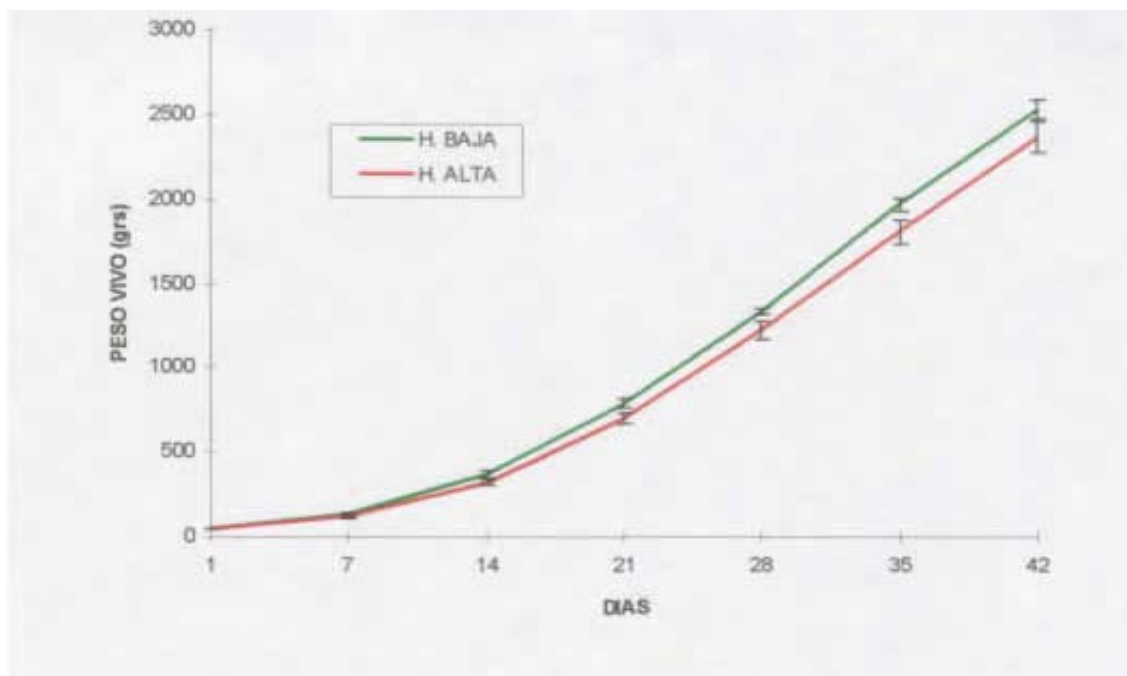
Esta prueba se utilizó con el fin de comprobar la normalidad de las variables continuas, considerada prerequisite para poder someter los datos a un análisis estadístico, para esta prueba se utilizó un nivel de significancia  $p < 0,025$ . En el Anexo 2, se observa que todas las variables medidas (Peso vivo promedio, Ganancia de peso semanal promedio, Conversión alimenticia promedio acumulada y Consumo de alimento promedio acumulado), presentaron distribución normal y por lo tanto fue posible contrastar las diferencias entre ambos grupos de pollos mediante una Prueba de t de Student (Zar, 1974).

### 5.3. PRUEBA DE t de STUDENT

En esta prueba se compararon los promedios de los dos grupos sobre los cuales se aplicaron tratamientos diferentes, el nivel de significancia corresponde a  $p < 0,05$  (Zar, 1974).

#### 5.3.1. Peso vivo acumulado

En el siguiente gráfico se muestran las diferencias que se presentaron a lo largo de los pesajes para ambos grupos de tratamiento, el análisis estadístico correspondiente se detalla en el Anexo N°3.



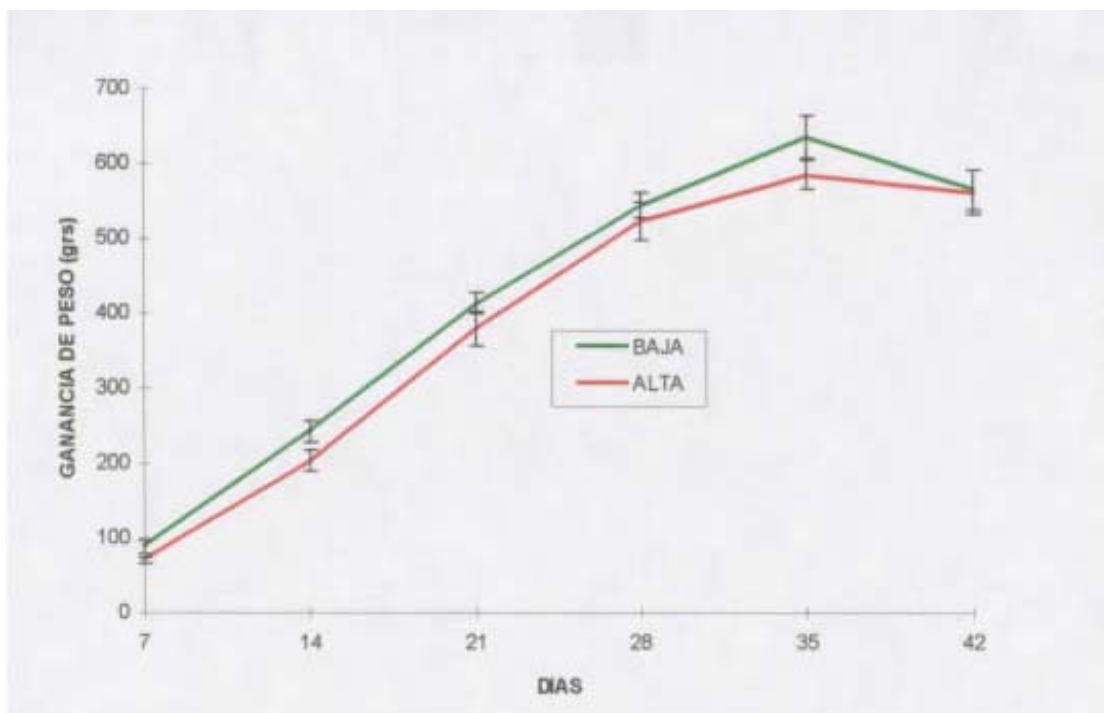
**Gráfico N°1: PESO VIVO ACUMULADO (GRS.) PROMEDIO Y SU DESVIACION ESTANDAR PARA LOS GRUPOS DE AVES ALIMENTADOS CON HARINA DE PESCADO CON BAJA Y ALTA HISTAMINA.**

Como se observa en el gráfico anterior, existen diferencias significativas en el peso de los broilers, a través de todos los controles realizados. Al comienzo del ensayo (día 1), es decir antes de aplicar los tratamientos existía una diferencia en peso estadísticamente significativa a favor de los pollitos a los que se les aplicaría el tratamiento con histamina alta, respecto de los de histamina baja de 0,8 gramos, (Anexo 1).

Sin embargo, ésta diferencia fue ampliamente revertida en favor del grupo que se alimentó con histamina baja, a partir del día 7 en adelante (Gráfico N° 1). Este aumento de peso del grupo tratado con histamina baja fue notorio al finalizar el ensayo (día 42), donde la diferencia en favor del primer grupo fue de 166,5 gramos.

### 5.3.2. Ganancia de Peso Semanal

En el gráfico presentado a continuación se muestra la tendencia que siguió la ganancia de peso, cuyo análisis estadístico se detalla en el Anexo 1.

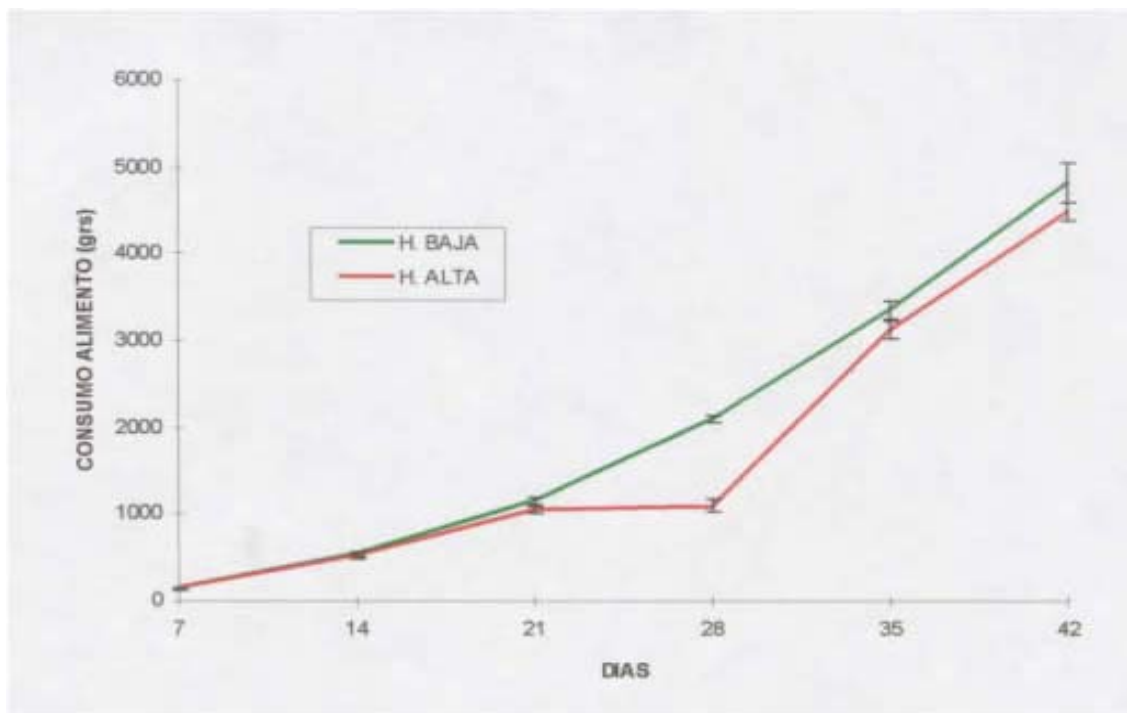


**Gráfico N°2: GANANCIA DE PESO SEMANAL (GRS.) PROMEDIO Y SU DESVIACION ESTANDAR PARA LOS GRUPOS DE AVES ALIMENTADOS CON HARINA DE PESCADO CON BAJA Y ALTA HISTAMINA**

Ambos grupos de broilers, presentaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ), entre sí para la ganancia de peso, en los controles de los días 7, 14, 21 y 35. En estos cuatro controles, los broilers alimentados con Histamina Baja tuvieron mayor ganancia de peso que los alimentados con Histamina Alta. En los controles restantes (día 28 y 42) no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre ambos grupos, los datos en extenso se presentan en el Anexo 1.

### 5.3.3. Consumo de alimento acumulado

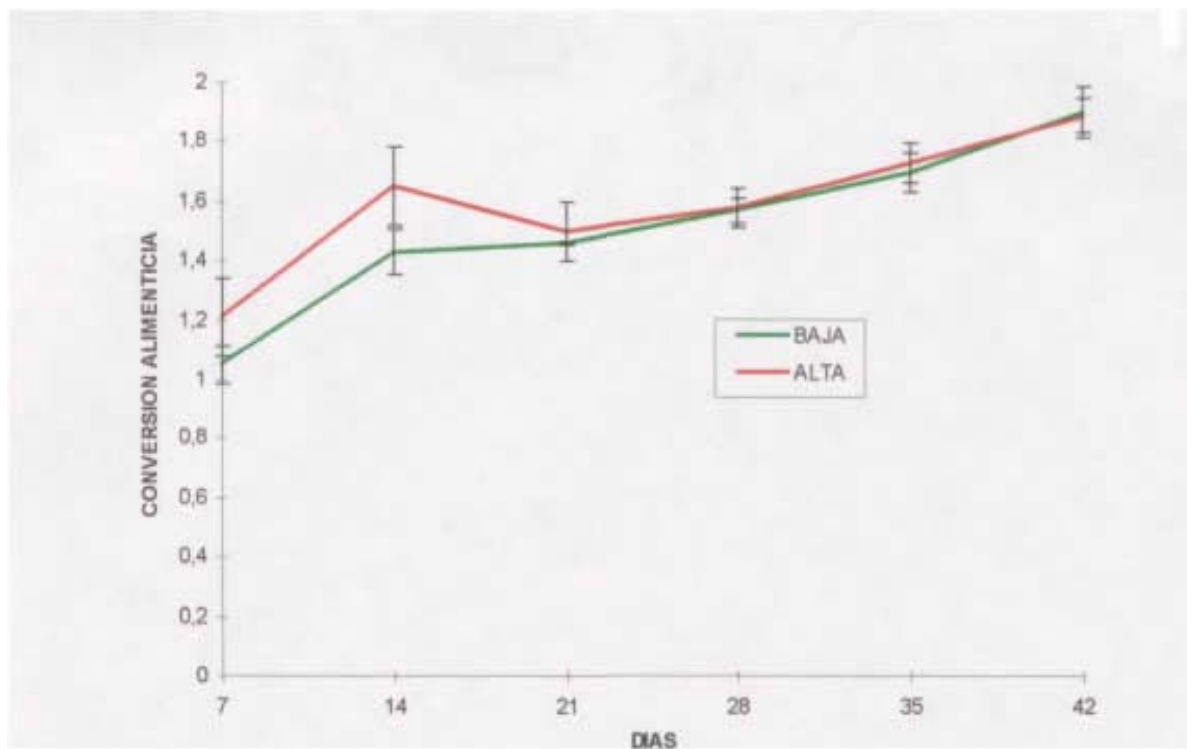
El gráfico N°3 señala que respecto del consumo de alimento acumulado semanal, a partir del día 21 se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) entre ambos grupos de tratamiento. Los broilers alimentados con histamina baja consumieron una mayor cantidad de alimento que los tratados con histamina alta. Las aves de este último grupo presentaron un marcada disminución del consumo entre el día 21 y 28, luego éste comienza a recuperarse sin alcanzar al del grupo con menor contenido de histamina.



**Gráfico N° 3: CONSUMO DE ALIMENTO ACUMULADO SEMANAL (GRS.) PROMEDIO Y SU DESVIACION ESTANDAR PARA LOS GRUPOS DE AVES ALIMENTADOS CON HARINA DE PESCADO CON BAJA Y ALTA HISTAMINA**

#### **5.3.4. Conversión alimenticia acumulada**

En el siguiente gráfico se muestra el resultado de la Conversión Alimenticia calculada para cada grupo de tratamiento, este cálculo se menciona en el material y método de la tesis. En el Anexo 2 se muestra en detalle el resultado del análisis estadístico y el Anexo 1 detalla las conversiones calculadas para todo el ensayo.



**Gráfico N°4: CONVERSION ALIMENTICIA PROMEDIO Y SU DESVIACION ESTANDAR PARA LOS GRUPOS DE AVES ALIMENTADOS CON HARINA DE PESCADO CON BAJA Y ALTA HISTAMINA.**

En este análisis sólo se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en el primer control y diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) en el segundo control realizado el día 14, en ambos casos los broilers que consumieron alimentos con Histamina Baja presentaron mejor conversión alimenticia que los alimentados con Histamina Alta. En el resto de los controles, ambos grupos de broilers no difirieron significativamente ( $p < 0,05$ ) en sus niveles de conversión de alimento.

## 5.4. MORTALIDAD

Durante todo el ensayo se registró la mortalidad para ambos grupos de tratamiento, el detalle de las causas se explica en el siguiente cuadro.

**Cuadro N° 10**

**REGISTRO DE CAUSAS DE MORTALIDAD, QUE AFECTARON A AMBOS GRUPOS DE BROILERS ALIMENTADOS CON HARINA DE PESCADO CON BAJO Y ALTO CONTENIDO DE HISTAMINA.**

Causa	Tratamiento			
	Histamina Baja		Histamina Alta	
	N°	%	N°	%
Muerte Súbita	10	8,3	7	5,8
Alteraciones Pódales	2	1,7	0	0,0
Colibacilosis	1	0,8	2	1,7
Ascitis	0	0,0	2	1,7
Vómito Negro	0	0,0	1	0,8
Accidentes	0	0,0	3	2,5
Total	13	10,8	15	12,5

La mortalidad fue registrada desde el día 1 al 44 por ello existen diferencias con las cantidades de aves existentes al día 42. Se puede apreciar que la mayor cantidad de muertos fue debido a problemas de Muerte Súbita, enfermedad que afecta a pollos broilers jóvenes de crecimiento rápido. Sólo una de las aves presentó Vómito Negro, correspondiendo al tratamiento de Histamina Alta. Esta ave presentó la signología clínica típica de esta patología y fue marcado el escaso desarrollo que presentó respecto de sus compañeros de lote.



## 5.5. PRUEBA DE RENDIMIENTO CENTESIMAL

Esta prueba se realizó el día 44 del ensayo, donde los pollos se sometieron a un pesaje previo y posteriormente fueron trasladados a la Planta Faenadora, para su correspondiente faenamamiento

**Cuadro N° 11**

**RESULTADO DE LA PRUEBA DE RENDIMIENTO CENTESIMAL EFECTUADO  
EL  
DÍA 44 DEL ENSAYO.**

	Histamina Baja		Histamina Alta	
	Peso Promedio (Kg)	%	Peso Promedio (Kg)	%
Peso Vivo	2,77	100,00	2,58	100,00
Peso Canal	1,90	68,70	1,77	68,50
Hígados	0,07	2,69	0,07	3,05
Mollejas	0,07	2,69	0,07	2,92
Cabezas	0,04	1,68	0,03	1,52
Cuellos	0,11	4,07	0,10	3,96
Patas	0,07	2,64	0,06	2,60
Intestinos	0,12	4,40	0,12	4,80

Existen diferencias en el peso promedio de las canales a favor del grupo tratado con histamina baja, cuyas canales pesaron 135,11 gramos más que los tratados con histamina alta. Sin embargo, en los hígados, mollejas e intestinos, tanto en gramos como en porcentaje, el peso es favorable para el grupo histamina alta. En los cuellos y patas, las diferencias se mantienen en favor del grupo histamina baja.

## 5.6. EROSION DE MOLLEJA

Al momento del faenamiento de las aves, correspondiente al final del período de crianza, se extrajeron las mollejas y fueron sometidas a una evaluación macroscópica, con el fin de apreciar el grado de lesión que ellas presentaban, este resultado se señala en el siguiente cuadro.

**Cuadro N° 12**

### **FRECUENCIAS Y VALORES PORCENTUALES DEL GRADO DE LESION DE LAS MOLLEJAS Y PROVENTRICULOS, DETERMINADO SEGUN EL PATRON DE EVALUACION PARA EL SCORE BIOTOXICOLOGICO.**

<b>Grado de Erosión</b>	<b>Histamina Baja</b>		<b>Histamina Alta</b>	
	<b>N°</b>	<b>%</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
0	99	92,5	82	78,0
1	7	6,5	19	18,0
2	0	0,0	3	2,9
3	1	0,9	1	1,0
Total	107	100	105	100

Como se aprecia en la tabla el grupo alimentado con Histamina Baja, presentó un 92,5% de mollejas sanas, siendo mayor que el porcentaje de mollejas sanas del grupo Histamina Alta. El grado de erosión de molleja 1 y 2 siempre fue mayor, en el caso de los tratados con Histamina Alta. Sin embargo ambos grupos presentaron un individuo, con grado de erosión 3.

En las siguientes fotografías se muestran algunos ejemplos del grado de erosión de molleja observados en el ensayo. Se incorporó además, la molleja correspondiente a un individuo muerto el día 41, a causa de Vómito Negro, para demostrar las evidentes lesiones en el estómago del ave.



Foto 2: Molleja de un individuo sano, pliegues normales de la cubierta de keratoilina.



Foto 3: Estómago con áreas agrietadas de la mucosa y leve enrojecimiento del pro ventrículo.



Foto 4: Erosiones focales múltiples en el límite entre proventrículo y molleja.

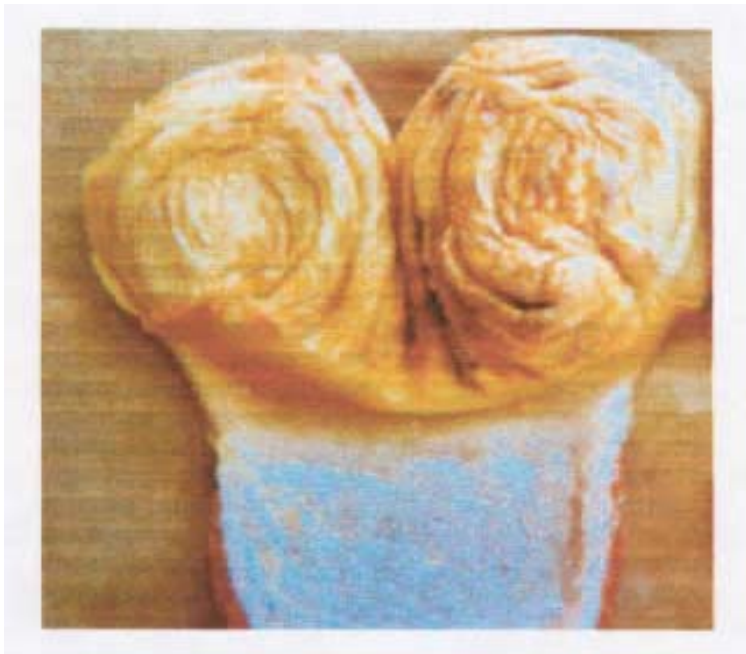


Foto 5: Erosiones diseminadas, que abarcan múltiples zonas del estómago muscular.



Foto 6: Molleja hemorrágica producto de las intensas erosiones en la mucosa y proventrículo enrojecido e hiperémico, de un individuo muerto a causa de Vómito Negro.

## 6.DISCUSION

### 6.1. HARINAS DE PESCADO

Al determinar el contenido de histamina presente en ambas harinas de pescado se establecieron las propiedades de cada una. La harina de la pesquera A resultó ser de buena calidad ya que sus niveles fueron muy inferiores a 1.000 ppm cantidad establecida como límite para una buena harina de pescado (Zaldívar, 1992),. sin embargo, la harina B está muy distante de cumplir con dicho parámetro, ya que su concentración de histamina fue igual a 5.647 ppm. Por otro lado, los valores del Score Biotoxicológico (SB) son esperables para la harina A, ya que según estudios hechos por Castro y Jarpa (1995), en pollos broilers, donde se correlacionaban concentraciones de histamina y valores de SB, niveles inferiores a 1.000 ppm de histamina se correlacionarían con SB menores a 0,7. Cuando existen concentraciones de histamina superiores a este valor, la correlación con el SB se pierde; es por ello que la harina de pescado B presenta un score igual a 1,4 dentro de la escala de 0 a 3 (Galleguillos y Romo, 1992; 1994), inferior a lo esperable para una harina de pescado con la concentración de histamina antes citada. Según la escala de SB los valores para ambas harinas permiten clasificar la toxicidad de la harina A como Normal, la cual no causó daño en las mollejas, mientras que la harina B en el mismo ensayo causó evidentes daños erosivos en los estómagos de las aves y es por ello que con un puntaje igual a 1,4 debe clasificarse como una harina de toxicidad mediana (Castro, 1987; Cesmec, 1990). Respecto de las recomendaciones de utilización de las harinas dadas por los mismos autores, éste ensayo concuerda con que las harinas de toxicidad Normal pueden ser utilizadas sin restricciones y muestran un comportamiento óptimo al ser empleadas en las raciones de broilers, mientras que la harina de toxicidad Mediana debe utilizarse con niveles restringidos, para no alterar los parámetros productivos de las aves.

### 6.2. PESO VIVO

En relación al peso vivo, se debe señalar que en el pesaje del día 1 los pollitos del grupo tratado con histamina alta pesaron 0,8 gramos más que los tratados con histamina baja, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) y puede atribuirse al azar, ya que dichas aves tuvieron un proceso de selección según el peso de cada uno al inicio del ensayo. En las mediciones posteriores, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ) en todos los pesajes, esto coincide con lo descrito por Shifrine y col. (1959) quienes fueron los primeros en demostrar

que las altas concentraciones de histamina presentes en harina de atún descompuesta eran las causantes de tasas de crecimiento deprimidas. También Shifrine y col. (1960), alimentaron aves White Leghorn y New Hampshire con dietas que contenían 0,1%, 0,25% y 0,5% de Histamina y obtuvieron pesos más favorables en las que habían sido alimentadas con cantidades menores de histamina. Además concluyeron que, para las aves White Leghorn la cantidad de histamina que producía disminución de peso era 0,25% y para New Hampshire 0,5%, demostrando así, un grado de resistencia según la raza. Los hallazgos de Harry y Tucker (1976) también corresponden con los resultados obtenidos en éste trabajo ya que al alimentar pollos Light Sussex con 4 mg/Kg de hidrocloreto de histamina obtuvieron diferencias de peso estadísticamente significativas ( $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ ), respecto del control. Itakura y col. (1982), compararon la ganancia de peso semanal entre aves que consumían concentrados con harina de pescado que producía erosión de molleja y otro grupo alimentado con harina no erosiva, a la cual se le había adicionado 0,4% de histamina dihidrato, y observaron una moderada disminución de peso, en el grupo alimentado con histamina conocida. Las cantidades de histamina señaladas en los antecedentes bibliográficos son mayores que las utilizadas en este ensayo, pero como señala Harry y Tucker (1976) el efecto de histamina puede ser potenciado por otros factores en la dieta, tales como ácidos grasos, antioxidantes y otras aminos biogénicas, que según los resultados de HPLC éstas, se encontraban presentes en las harinas utilizadas pero sus valores no fueron tomados en cuenta debido a que la histamina es la que posee un comportamiento más estable dentro de las harinas de pescado y sus efectos son más conocidos (Zaldívar, 1992). Para tener más certeza de que los hallazgos son sólo atribuibles a la histamina, sería importante considerar tanto las otras aminos biogénicas, como la mollerossina presentes en la harina de pescado ya que según una publicación reciente de Rosselot y col. (1996), indican que existirían correlaciones positivas entre las cantidades de mollerossina, histamina y score biotóxico en las harinas de pescado. Es necesario señalar que en este ensayo las concentraciones de mollerossina no pudieron ser cuantificadas ya que en el momento de su realización la técnica no se encontraba disponible y los autores citados anteriormente trabajan en el desarrollo de un nuevo método para la detección de mollerossina más exacta que las empleadas hasta ahora.

Respecto de la cantidad de histamina presente en las dietas a través del ensayo se observa que los valores más altos estuvieron entre los días 0 al 21, alcanzando a 672 ppm. Más tarde y por efecto de la disminución en la incorporación de harina de pescado en la dieta la cantidad descendió a 441,9 ppm. (días 22-30), para llegar a 263,2 ppm. entre los días 31 al 36, y mantenerse hasta el día 42 ya que la harina de pescado se mantuvo constante. La histamina en la dieta no se mantuvo como un valor constante, ya que el ensayo homologaba las condiciones de crianza de terreno de los broilers, donde normalmente las cantidades de harina de pescado van descendiendo. Sin embargo, en los resultados se observa siempre una diferencia de peso favorable al grupo control; además las diferencias de peso entre ambos grupos fueron crecientes alcanzando un valor máximo igual a 166,5 gramos, cuando las cantidades de histamina alcanzaban su valor menor. Esto podría indicar que la cantidad de histamina recibida al inicio del período de crianza impide una ganancia de peso compensatoria. Similares resultados obtuvieron Harry y Tucker (1976), ya que al retirar la dieta

que contenía histamina y continuar alimentando con una dieta normal las aves fueron más pequeñas que los controles y no hubo una recuperación de ellas, lo cual sugiere la conveniencia de utilizar las harinas de pescado de mejor calidad en las aves más jóvenes, para evitar el efecto al inicio del desarrollo. A pesar de las claras diferencias entre los grupos de tratamiento (histamina alta y baja), se observó para ambos una ganancia de peso de tipo sigmoídea tal como lo establece North y Bell (1993) para pollos broilers.

Al comparar el crecimiento de las aves con el estándar para la línea genética (Ross Breeders, 1996), se observa que ambos grupos pesaron más que la línea al día de edad y en los tres pesajes siguientes los promedios de la línea fueron más altos que los pesos de ambos tratamientos. Sin embargo el grupo tratado con histamina baja superó levemente el estándar para la línea en los pesajes del día 28, 35 y 42, mientras que el grupo histamina alta nunca superó este parámetro.

### **6.3. GANANCIA DE PESO**

Ambos grupos de aves mostraron curvas similares respecto a la tendencia que siguió la ganancia de peso semanal, manteniendo una evidente diferencia que fue altamente significativa ( $p < 0,01$ ), en los registros de los días 7, 14, 21 y 35, estas observaciones coinciden con Harry y Tucker (1976), quienes encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), en la ganancia de peso corporal, los mismos autores señalan además que al retirar la histamina de la dieta (4mg/grs), hay un efecto de recuperación de la ganancia de peso, pero no alcanzan al grupo control. Se debe señalar que no se observaron diferencias estadísticamente significativas al día 28, esto puede ser explicado por que la conversión alimenticia se mejoró para el grupo histamina alta, ya que al observar el registro de consumo, este tuvo una baja importante para el grupo señalado.

Al siguiente pesaje (día 35) la significancia entre ambos registros de peso volvió a ser altamente significativa ( $p < 0,01$ ), ya que el grupo tratado con histamina baja manifestó una fuerte alza alcanzando el valor más alto de todo el ensayo con 635,8 gramos promedio de ganancia, mientras que el otro grupo mantuvo su tendencia en cuanto a ganancia de peso. Finalmente al día 42 no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la ganancia de peso ya que ambos grupos disminuyeron sus ganancias, pero dicha disminución fue más notoria en el grupo histamina alta (Gráfico N°2, Anexo 3)

Al comparar las ganancias de peso con la línea genética, hasta el día 14 ambos grupos se mantuvieron bajo los parámetros establecidos para la línea genética, ROSS 308, a partir del día 21 el tratamiento que corresponde a Histamina Baja superó los valores de la línea. Esta tendencia se mantuvo en los restantes pesajes para ambos grupos de tratamiento (Ross Breeders, 1996).



#### **6.4. CONSUMO DE ALIMENTO**

El consumo de alimento muestra diferencias estadísticamente significativas en favor del grupo con histamina baja, a partir del día 21 (Anexo 3), esto muestra que el efecto de histamina sería acumulativo y requiere un período de tiempo para evidenciarse, ya que durante éste período la histamina provocaría daño erosivo sobre los estómagos. Esta erosión en la molleja sería la causa del fuerte descenso del consumo a partir del día 28 en el grupo histamina alta, asociándose al cambio en la presentación y textura del alimento, ya que la ración pasó de quebrantado a pelletizado, determinando una mayor actividad a nivel del estómago muscular para triturar el alimento, ésto coincide con lo descrito por Sturkie (1976), quien señala que al administrar alimento más duro aumenta la frecuencia de movimientos y la presión de la molleja para triturarlo, por lo tanto, afectaría a las aves, ya que el daño erosivo sobre las mollejas ocasionaría dolor que terminaría inhibiendo el centro del apetito. En el día 35, se observó una recuperación en el consumo, porque las aves se adaptaron a la nueva forma de presentación del alimento, sin embargo, no lograron compensar la diferencia con el grupo tratado con histamina baja.

A partir del día 35, ambos grupos de tratamiento mostraron un consumo acumulado promedio mayor que el descrito para la línea genética utilizada (Ross Breeders, 1996).

Shifrine y col. (1960), al suplementar las dietas de aves White Leghorn con 0,1%; 0,25%; 0,5% de histamina observaron que el consumo se deprimía en las aves y el efecto era más notorio cuando las cantidades de histamina aumentaban. Harry y Tucker, (1976) no midieron directamente el consumo, sin embargo afirman que éste no sería la causa de las diferencias de peso que observaron en las aves, ya que la atribuyen a la acción de la histamina en el digestivo sin tener claro el mecanismo de acción.

#### **6.5. CONVERSION ALIMENTICIA**

Respecto de la variable conversión alimenticia se puede señalar que las curvas manifiestan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) y altamente significativas ( $p < 0,01$ ), al día 7 y 14 respectivamente. En ambos pesajes las mejores conversiones estuvieron en el grupo histamina baja. Desde el día 21 en adelante, no hubo diferencias significativas., debido a que el grupo histamina alta mejoró su conversión alimenticia, esta mejoría puede atribuirse al aumento en la acidez tanto de la molleja y proventrículo, por la acción de la histamina, ya que esta molécula, es conocida por estimular la secreción de los jugos gástricos en aves y mamíferos (Newberne y col., 1956), actuando sobre los receptores  $H_2$  histamínicos ubicados en el proventrículo, los cuales, estimulan la secreción acida (Hino y col., 1987). La mayor acidez permite disgregar la proteína bruta de la ración, exponiendo

los enlaces peptídicos a la acción enzimática intestinal, generando una mayor disponibilidad de aminoácidos (Scott y col., 1982), de esta forma la histamina aumentaría la digestibilidad de la proteína y con ello la conversión alimenticia.

Es necesario señalar que según North y Bell (1993), a medida que la edad del pollo aumenta consume más alimento y la conversión disminuye, es decir el ave se vuelve menos eficiente. Los resultados de este ensayo coinciden con la literatura como puede apreciarse en el Anexo 3.

Al comparar las conversiones con las señaladas para la línea genética, ambos grupos fueron menos eficientes en la conversión alimenticia, durante todo el ensayo (Ross Breeders, 1996).

## **6.6. MORTALIDAD**

Las mayores mortalidades se registraron desde la mitad del ensayo hacia adelante, siendo la Muerte Súbita la principal causa en ambos grupos de tratamiento (Cuadro N° 9)

La mortalidad total fue 10,4%, superior a lo indicado por Rodríguez, (1996) quien señaló como normal un 4 a 6% para pollos broilers. Esto puede atribuirse a que las aves fueron criadas en un pabellón experimental donde están sometidas a un estrés superior ya que son sometidos a manejos más intensos como el pesaje semanal, entre otros.

Se ha señalado a la Muerte Súbita como la principal causa de mortalidad del ensayo, esta patología afecta a pollos broilers jóvenes de crecimiento rápido. La etiología es desconocida pero se trataría de un trastorno del metabolismo de los carbohidratos, donde se vería alterada la integridad de la membrana celular y equilibrio electrolítico intracelular y la causa probable de muerte sería fibrilación ventricular (Merck, 1993).

La mortalidad por Vómito Negro fue baja, ya que afectó a un ave del grupo tratado con histamina alta; este individuo tuvo un pobre desarrollo respecto de sus compañeros de grupo y a la necropsia presentó una gran cantidad de fluido oscuro en todo el digestivo y con grandes erosiones en la molleja.

## 6.7. RENDIMIENTO CENTESIMAL

La diferencia alcanzada entre ambos tratamientos benefició al grupo tratado con histamina baja, tal como era de esperar ya que éste tuvo mayor peso vivo al término del ensayo y por ende sus canales fueron más pesadas. Esto es de gran importancia económica ya que así se obtienen más kilos de carne para vender finalmente al mercado y obtener mayores beneficios económicos. El mayor peso relativo de los hígados en el grupo con histamina alta puede ser explicado por que la histamina exógena se biotransforma en parte en el tracto gastrointestinal y la otra parte en el hígado (Booth y McDonald, 1992). Respecto al mayor peso de los intestinos, en este mismo grupo, la literatura menciona un edema en la pared intestinal debido a la ingestión del tóxico y el aumento de líquido al interior del intestino (Shifrine y col., 1960), sin embargo esto no fue observado en las aves examinadas. El mayor peso relativo en las mollejas puede ser atribuido a la inflamación del órgano producto de la irritación provocada sobre la mucosa.

## 6.8. EROSION DE MOLLEJA

La erosión de molleja fue medida al final del ensayo según el mismo patrón utilizado para el Score Biotoxicológico. Los resultados obtenidos indican que la harina con mayor poder erosivo fue la que contenía mayor cantidad de histamina, estas observaciones coinciden con lo descrito por Newberne y col., (1956); Johnson y Pinedo, (1971), Harry y col. (1975); Itakura y col., (1982); Okazaki y col. (1983); Hino y col., (1987); Ito y col. (1988); Fossum y col. (1988).

El grado de erosión de molleja también depende de la susceptibilidad individual. Esto explica el hecho de que se presenten en ambos grupos de tratamiento individuos con grado de erosión tres; un hecho similar fue descrito por Harry y Tucker (1976), quienes encontraron aves con mollejas erosionadas consumiendo 2,2% de harina de pescado la cual no tenía histamina. Lo anterior, es explicado por Tepper y Bird, quienes ya en 1942, señalaban que había ciertas aves que presentaban algunas áreas defectuosas en la cubierta de keratolina de la molleja. Miyazaki y Umemura (1987b) correlacionaron el grado de acidez de distintas áreas de la molleja y la sensibilidad a la erosión que ellas tenían y corroboraron que dicha relación se cumplía y además el daño erosivo aumentaba cuando la acidez del proventrículo se hacía mayor como en el caso de recibir alimento con histamina. Las lesiones observadas en este ensayo se localizaron mayoritariamente en el área proventrículo-molleja, que coincide con las observaciones hechas por Miyazaki y Umemura (1987b), respecto de que éstas áreas eran las de mayor acidez y por ende las más susceptibles de ser erosionadas.

Respecto del aumento de acidez del proventrículo, este fue demostrado mediante ensayos realizados por Hino y col.(1987) quienes midieron *in vitro* el mayor consumo de O<sub>2</sub> de las células mucosas del proventrículo. Esta situación también fue demostrada por Ito y col. (1988), quienes describieron, también *in vitro* el aumento de AMPc en las células productoras de ácido al administrar histamina, estimulando las células secretoras del estómago glandular. De acuerdo a lo anterior, podemos establecer que la histamina está involucrada en el proceso erosivo de la molleja, según los mecanismos citados en esta investigación, sin embargo en la literatura consultada los autores aún no establecen cuál es la patogenia de la erosión del estómago glandular de las aves. Sin embargo, Miyazaki y Umemura (1987b) sugieren que las úlceras podrían deberse a que; al aumentar la acidez, ocurre un proceso de degradación de la cubierta de keratolina por la alta concentración de pepsina y ácido clorhídrico, lo que expone las células de la mucosa gástrica. Estas son dañadas y afecta la función de secretar la cubierta de keratolina, con ello el daño erosivo se ve agravado y puede avanzar a estratos más profundos del órgano e incluso llegar a perforarse.

De acuerdo a los resultados del estudio, se puede concluir que, la incorporación de harinas de pescado con niveles altos de histamina tienen efectos tóxicos y productivos al ser incorporada en la ración de pollos broilers. Así, la histamina utilizada en dos niveles (alta y baja), produjo menor: peso vivo, peso de la canal, ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia. Además, la histamina en los niveles antes mencionados, produjo alteraciones macroscópicas en molleja y proventrículo, sin afectar la mortalidad de las aves.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- BAPTISTA DE SOUSA J. V., M. MAROÑO.** 1991. Las Aminas Biógenas como medida de la calidad de productos de la pesca. *Alimentaria* 51: 51-58.
- BEHLING, A. R., S. L. TAYLOR.** 1962. Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. *J.FoodSci.*47: 1311-1314.
- BOOTH, N. H., L. McDONALD.** 1992. Farmacología y terapéutica veterinaria. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- CASTRO, E.** 1987. Erosiones a la molleja y vómito negro aviar: Su prevención a través del control de calidad a las harinas de pescado. *Avicultura Profesional* 5 (2): 55-56.
- CASTRO, E.** 1991. Métodos de control de calidad biotóxica en harinas de pescado. *Chile Pesquero* 63: 19-22.
- CASTRO, E., C. JARPA.** 1995. Consideraciones para la utilización de altos niveles de harina de pescado chilenas en la alimentación de pollos broiler. XIV Congreso Latinoamericano de Avicultura. Santiago de Chile.
- CESMEC,** 1990. Análisis Biotóxico de Harina de Pescado. Anexo de Reunión Técnica sobre Calidad de Harina de Pescado. 15 de Noviembre. Santiago de Chile.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS.** 1996. Encuesta nacional de criaderos avícolas, 2º Semestre año 1996. En: Boletín Pecuario (ODEPA) pp: 43-54.
- COVER, M., PAREDES, F.** 1971. Perforating ventricular ulceration in young chickens. *Avian Dis.* 15: 609-610.
- DALE, N.** 1994. Aminas Biogénicas. *Avicultura Profesional* 11:114-116.

- EEROLA, S., R. HINKKANEN, E. LINDFORS, T. HIRVI.** 1993. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *Journal of AOAC International* 76: 575-577.
- FAO.** 1971. La producción de aceite y harina de pescado. Boletín Técnico FAO .USA
- FOSSUM, O., K. SANDSTEDT, B. ENGSTROM.** 1988. Gizzard erosions as an cause of mortality in White Leghorn chickens. *Avian Path.* 17: 519-525.
- GALLEGUILLOS, M.** 1994. Aminas biogénicas nuevos indicadores químicos utilizados como criterios de calidad en harinas de pescado. Control de calidad de insumos y dietas acuícolas, documento preparado por el proyecto: "Apoyo a las actividades regionales de Acuicultura en América Latina y el Caribe". *Aquila II*: 187-190.
- GALLEGUILLOS, M., D. ROMO.** 1992. Score: un parámetro de calidad en harina de pescado. *Aquanoticias Internacional* 4(15): 32-3 5.
- GALLEGUILLOS, M., D. ROMO.** 1994. A quality parameter for fish meal: The biotoxicological score. *Aquaculture* 124: 360-361.
- GANONG, W.F.** 1988. Fisiología Médica. Editorial El Manual Moderno. 11<sup>a</sup> Edición. México.
- G ARATE, H.** 1995. Criterios en la evaluación de materias primas e insumos. En: Ross I Conferencias Técnicas Ross Breeders para América Latina.
- GONZALEZ, N.** 1984. Nuevos avances en relación a la causa de Vómito Negro. En: I Seminario Internacional de Producción y Patología Aviar. 24-27 de Octubre. Valdivia, Chile.
- GONZALEZ, N.** 1985. Una prueba sencilla para prevenir el Vómito Negro. *Informaciones Avícolas*79: 22-24
- HARDY, R, E. CASTRO.** 1992. La industria chilena de alimentos para salmones. *Aquanoticias Internacional* 4 (15): 32-3 5.

- HARRY, E.G., J.F. TUCKER, A. P. LAURSEN-JONES.** 1975. The role of histamine and fish meal in the incidence of gizzard erosion and proventricular abnormalities in the fowl. *British Poultry Sci* 16: 69-78.
- HARRY, E.G., J.F. TUCKER.** 1976. The effect of orally administered histamine on the weight gain and development of gizzard lesions in chicks. *Vet. Rec* 99: 206-207.
- HINO, T., T. NOGUCHI, H. NAITO.** 1987. Effect of gizzerosine on acid secretion by isolated mucosal cells of chicken proventriculus. *Poult. Sci.* 66: 548-551.
- HORAGUCHI, H., T. MASAMURA, H. HORIKAWA, M. SUGAHARA.** 1980. Gizzard erosion and ulceration in broiler chicks. 2. Effect of fish meal. *Japan Poultry Sci.* 17: 351-357.
- ITAKURA C., T. KAZAMA, M. GOTO.** 1982. Comparative pathology of gizzard lesions in broiler chicks fed fish meal, histamine and copper. *Avian Path.* 11: 487-502.
- ITO, Y., H. TERAOKA, T. NOGUCHI, H. NAITO.** 1988. Gizzerosine raises the intracellular cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate level in isolated chicken proventriculus. *Poult. Sci.* 67:1290-1294.
- IZQUIERDO-PULIDO, M.L., M. C. VIDAL-CAROU, A. MARINE-FONT.** 1993. Determination of biogenic amines in feeds and their raw materials by ion-pair liquid chromatographic postcolumn derivatization. *J. of AOAC Int.* 76: 1027-1032.
- JARPA, C.** 1995. Harina de pescado. Factores que afectan su calidad durante la captura y el procesamiento. *Informaciones Avícolas Febrero-Marzo:* 4-9.
- JOHNSON, D., C. PINEDO.** 1971. Gizzard erosion and ulceration in Peruvian broilers. *Avian Dis.* 15: 835-837.
- MASAMURA, T., M. SUGAHARA, T. NOGUCHI, K. MORI, H. NAITO.** 1985. The effect of Gizzerosine, a recently synthesized compound in overheated fish meal, on the acid secretion in chicken. *Poult. Sci.* 64: 356-361.
- MERCK,** 1993. Manual de Medicina Veterinaria. 4ª Edición, Editorial Océano, España.

- MIYAZAKI S., Y. UMEMURA** 1987a. Effect of histamine antagonist, an anticholinergic agent and antacid on gizzard erosions in broiler chicks. *British Poultry Sci.* 28: 39-45.
- MIYAZAKI, S., Y. UMEMURA.** 1987 b. Correlation between low gastric pH and the formation of gizzard erosion in chicks. *British Poultry Sci.* 28: 529-534.
- NEWBERNE, P., M. MUHRER, R. CRAGHEAD, B. L. O'DELL.** 1956. An abnormality of the proventriculus of the chick. *J.A.V.M.A.* Jun: 553-555.
- NORTH, M., D. BELL.** 1993. Manual de Producción Avícola. 3ª Edición. Editorial El Manual Moderno.
- OKASAKI, T., T. NOGUCHI, K. IGARASHI, Y. SAKAGAMI, H. SETO, K. MORI, H. NAITO, T. MASAMURA.** 1983. Gizzerosine a new toxic substance in fish meal, causes severe gizzard erosion in chicks. *Agril. Biol. Chem.* 47: 2949-2952.
- OSUNA, O.** 1984. Toxicología aviar: Vómito negro la histidina y la mollerossina en la harina de pescado. *Avicultura Profesional* Vol 2 N°3: 111-115.
- OSUNA, O.** 1989 a. Concentraciones límites, formación, absorción, tratamientos de mollerossina en el Vómito Negro. *Avicultura Profesional* Vol 6 N°4:149-151.
- OSUNA, O.** 1989 b. Concentraciones límites, formación y tratamientos de mollerossina en el Vómito Negro. En: III Seminario Internacional de Patología y Producción Aviar. 29-30 de Marzo de 1989. Valdivia, Chile.
- POOLE, D.** 1994. Biogenic Amines: An update. In: Proceedings of the 43 Western Poultry Disease Conference February, 27-March, I. Sacramento, California.
- RODRIGUEZ, L.** 1996. Efectos de la incorporación de afrecho de raps con diferentes niveles de glucosinolatos en dietas de pollos broilers. Tesis MV. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias.
- RODRIGUEZ, H., M. QUEZADA, M. ACUÑA.** 1995. Complejo erosión de molleja y Vómito Negro de aves. *Informaciones Avícolas.* Agosto: 4-15.



- ROSSELOT, G., M. LOPEZ-LASTRA, J.P. McMURTRY.** 1996. Determination of gizzerosine activity in fish meal with a homologous radioimmunoassay. *Poult. Sci.* 75: 873-880.
- ROSS BREEDERS LIMITED.** 1996. Ross 308 broilers performance standares and objectives. Newbribge, Scotland.
- SALSBURY,** 1995. Manual de Enfermedades de las Aves. Salsbury Laboratories Inc. Charles city, IOWA, USA.
- SCOTT, M.L., M NESHEIMM,. R.J.,YOUNG.**1982. Nutrition of the chicken.3<sup>a</sup> ed.,M.L.Scott & Associates. Ithaca, New York.
- SERNAP.** 1995. Anuario Estadístico de Pesca. Ministerio de Economía Fomento y Reconstrucción.
- SHIFRINE, M, L. OUSTERHOUT, C. GRAU, R VAUGHN.** 1959. Toxicity to chicks of histamine formed during microbial spoilage of tuna. *Appl. Microbiol.* 7: 45-50.
- SHIFRINE, M., H. ADLER., L. OUSTERHOUT.** 1960.The pathology of chicks fed histamine. *Avian. Dis.* 4: 12-21.
- SOPROPECHE,** 1990. Comparison of biogenic amines and molecular weight of CPSP with other products. Sopropéche technical report. Boulogne Sur Mer.
- STURKIE, P.D.** 1976. Avian Physiology. 3<sup>a</sup> ed., Springer Verlag. New York
- TAYLOR, S.L.** 1988. Marine toxics of microbial origin. *Foodtechnology.* Marzo: 94-98.
- TEPPER A., BERD H.** 1942. Gizzard lesions in day old chicks. I.Their relationship to subsequent growth and mortality and their prevalence. *Poult. Sci.* 21: 47-51.
- ZALDIVAR, J.** 1992. Criterios de calificación de harinas de *pescado.* *Chilepesquero* 71: 43-47.
- ZAR, J. H.** 1974. Biostatistical analysis. Prentice Hall, INC. Englewood Cliffs N.J.

## **8. ANEXOS**

## ANEXO 1

Resumen de los resultados de las variables productivas en aves alimentadas con harina de pescado con histamina baja y alta, según grupo de tratamiento y repetición.

		HISTAMINA BAJA						HISTAMINA ALTA					
PESAJE (DIAS)	REPETICION	NUMERO AVES	PESO VIVO	GANANCIA PESO	CONSUMO PROMEDIO	CONSUMO ALIMENTO PROMEDIO	CONVERSION ALIMENTICIA PROMEDIO	NUMERO AVES	PESO VIVO	GANANCIA PESO	CONSUMO PROMEDIO	CONSUMO ALIMENTO PROMEDIO	CONVERSION ALIMENTICIA PROMEDIO
			PROMEDIO	PROMEDIO	SEMANAL	ACUMULADO	DO		PROMEDIO	PROMEDIO	PROMEDIO	SEMANAL	ACUMULADO
					(grs)	(grs)	(grs)				(grs)	(grs)	(grs)
1	1	20	42,70					20	44,85				
	2	20	43,20					20	44,60				
	3	20	44,40					20	44,15				
	4	20	44,10					20	43,85				
	5	20	43,70					20	44,30				
	6	20	43,45					20	44,60				
			<b>43,59</b>					<b>44,39</b>					
7	1	20	135,00	92,30	144,00	144,00	1,07	20	111,50	66,65	152,00	152,00	1,36
	2	20	124,50	81,30	136,00	136,00	1,09	20	111,00	66,40	134,50	134,50	1,21
	3	20	140,50	96,10	144,50	144,50	1,03	20	122,00	77,85	135,50	135,50	1,11
	4	20	124,50	80,40	141,00	141,00	1,13	20	113,50	69,65	116,50	116,50	1,03
	5	20	126,50	82,80	129,50	129,50	1,02	19	115,79	71,49	156,84	156,84	1,35
	6	20	146,50	103,05	138,50	138,50	0,95	20	118,00	73,40	141,00	141,00	1,19
			<b>132,92</b>	<b>89,33</b>	<b>138,92</b>	<b>138,92</b>	<b>1,05</b>		<b>115,30</b>	<b>70,91</b>	<b>139,39</b>	<b>139,39</b>	<b>1,21</b>
14	1	20	368,00	233,00	402,00	546,00	1,48	20	302,50	191,00	380,00	532,00	1,76
	2	20	351,00	226,50	367,50	503,50	1,43	19	298,42	187,42	370,24	504,74	1,69
	3	20	401,50	261,00	403,50	548,00	1,36	20	343,00	221,00	379,50	515,00	1,50
	4	20	357,50	233,00	379,00	520,00	1,45	20	316,00	202,50	362,50	479,00	1,52
	5	20	375,50	249,00	443,00	572,50	1,52	19	314,21	198,42	418,95	575,79	1,83
	6	19	402,63	256,13	389,66	528,16	1,31	20	336,50	218,50	387,50	528,50	1,57
			<b>376,02</b>	<b>243,11</b>	<b>397,44</b>	<b>536,36</b>	<b>1,43</b>		<b>318,44</b>	<b>203,14</b>	<b>383,11</b>	<b>522,50</b>	<b>1,65</b>
21	1	19	773,16	405,16	636,79	1182,79	1,53	20	697,00	394,50	496,50	1028,50	1,48
	2	20	768,50	417,50	574,00	1077,50	1,40	19	673,16	374,74	499,47	1004,21	1,49
	3	20	817,50	416,00	621,50	1169,50	1,43	20	751,50	408,50	540,50	1055,50	1,40
	4	20	761,00	403,50	600,00	1120,00	1,47	20	675,00	359,00	544,00	1023,00	1,52
	5	20	780,50	405,00	617,50	1190,00	1,52	18	663,89	349,68	539,10	1114,89	1,68
	6	19	840,00	437,37	657,11	1185,26	1,41	20	726,00	389,50	516,50	1045,00	1,44
			<b>790,11</b>	<b>414,09</b>	<b>617,82</b>	<b>1154,18</b>	<b>1,46</b>		<b>697,76</b>	<b>379,32</b>	<b>522,68</b>	<b>1045,18</b>	<b>1,50</b>
28	1	18	1307,22	534,06	966,71	2149,50	1,64	20	1234,50	537,50	896,00	1924,50	1,56
	2	20	1326,50	558,00	937,00	2014,50	1,52	19	1171,58	498,42	847,37	1851,58	1,58
	3	20	1352,00	534,50	942,50	2112,00	1,56	20	1320,00	568,50	931,50	1987,00	1,51
	4	20	1326,50	565,50	947,50	2067,50	1,56	19	1186,84	511,84	822,63	1845,63	1,56
	5	20	1332,50	552,00	934,00	2124,00	1,59	17	1181,18	517,29	909,41	2024,29	1,71
	6	19	1361,05	521,05	930,00	2115,26	1,55	20	1235,50	509,50	866,50	1911,50	1,55
			<b>1334,30</b>	<b>544,19</b>	<b>942,95</b>	<b>2097,13</b>	<b>1,57</b>		<b>1221,60</b>	<b>523,84</b>	<b>878,90</b>	<b>1924,08</b>	<b>1,68</b>
35	1	18	1915,56	608,34	1303,83	3453,33	1,80	20	1822,50	588,00	1207,50	3132,00	1,72
	2	20	1949,00	622,50	1200,00	3214,50	1,65	18	1738,89	567,31	1155,64	3007,22	1,73
	3	17	1970,00	618,00	1369,29	3481,29	1,77	20	1926,50	606,50	1206,50	3193,50	1,66
	4	19	1984,74	658,24	1207,50	3275,00	1,65	19	1743,16	556,32	1222,79	3068,42	1,76
	5	20	2014,50	682,00	1238,50	3362,50	1,67	17	1778,24	597,06	1247,47	3271,76	1,84
	6	17	1987,06	626,01	1206,97	3322,24	1,67	20	1829,00	593,50	1160,50	3072,00	1,68
			<b>1970,14</b>	<b>635,85</b>	<b>1254,35</b>	<b>3351,48</b>	<b>1,70</b>		<b>1806,38</b>	<b>584,78</b>	<b>1200,07</b>	<b>3124,15</b>	<b>1,73</b>
42	1	18	2473,33	557,77	1320,56	4773,89	1,93	19	2361,05	538,55	1312,63	4444,63	1,88
	2	20	2484,00	535,00	1270,50	4485,00	1,81	18	2295,56	556,67	1449,44	4456,67	1,94
	3	17	2538,24	568,24	1701,06	5182,35	2,04	20	2536,50	610,00	1395,00	4588,50	1,81
	4	19	2585,26	600,52	1557,11	4832,11	1,87	19	2271,58	528,42	1266,84	4335,26	1,91
	5	19	2609,47	594,97	1413,76	4776,26	1,83	16	2361,25	583,01	1360,99	4632,75	1,96
	6	17	2523,53	536,47	1576,00	4898,24	1,94	19	2388,98	559,95	1379,58	4451,58	1,86
			<b>2535,64</b>	<b>565,50</b>	<b>1473,16</b>	<b>4824,64</b>	<b>1,90</b>		<b>2369,16</b>	<b>562,77</b>	<b>1360,75</b>	<b>4484,90</b>	<b>1,89</b>

## ANEXO 2

Prueba de bondad de ajuste de Komogorov-Smirnov para la distribución normal de las variables medidas en los broilers a través del ensayo.

Variable	Días	Casos	Mayor Diferencia Absoluta	Valor Z K-S	Probabilidad
Peso	1	12	0,15081	0,522	0,948 NS
	7	12	0,16744	0,580	0,890 NS
	14	12	0,14311	0,496	0,967 NS
	21	12	0,13560	0,470	0,980 NS
	28	12	0,24338	0,843	0,476 NS
	35	12	0,19046	0,660	0,777 NS
	42	12	0,15664	0,543	0,930 NS
Ganancia	7	12	0,16033	0,555	0,917 NS
	14	12	0,13046	0,452	0,987 NS
	21	12	0,18986	0,658	0,780 NS
	28	12	0,12883	0,446	0,989 NS
	35	12	0,16120	0,558	0,914 NS
	42	12	0,15588	0,540	0,933 NS
Consumo	7	12	0,14779	0,512	0,956 NS
	14	12	0,10109	0,350	1,000 NS
	21	12	0,17123	0,593	0,873 NS
	28	12	0,15856	0,549	0,924 NS
	35	12	0,16178	0,560	0,912 NS
	42	12	0,15398	0,533	0,938 NS
Conversión	7	12	0,13481	0,467	0,981 NS
	14	12	0,19024	0,659	0,778 NS
	21	12	0,16974	0,588	0,880 NS
	28	12	0,23038	0,798	0,547 NS
	35	12	0,19736	0,684	0,738 NS
	42	12	0,15934	0,552	0,921 NS

NS: Indica desviaciones No Significativas de la Normalidad.

### ANEXO 3

Pruebas de t de Student para comparar la variable Peso entre broilers alimentados con dietas de Bajo y Alto contenido de Histamina, a través de los pesajes realizados.

DÍA	Promedio $\pm$ Desvíos estándar		T(10g.l)	Significación
	Histamina Baja (N=6)	Histamina Alta (N=6)		
1	43,5 $\pm$ 0,6	44,3 $\pm$ 0,3	-2,74	0,021 *
7	132,9 $\pm$ 9,2	115,3 $\pm$ 4,2	4,24	0,001 *
14	376,0 $\pm$ 21,8	318,4 $\pm$ 17,9	4,99	0,005 *
21	790,1 $\pm$ 31,4	697,7 $\pm$ 34,5	4,85	0,006 *
28	1334,3 $\pm$ 19,4	1221,6 $\pm$ 55,4	4,70	0,008 *
35	1970,1 $\pm$ 34,3	1806,3 $\pm$ 70,0	5,14	0,004 *
42	2535,6 $\pm$ 54,0	2369,1 $\pm$ 93,2	3,78	0,004 *

\* Indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

\*\* Indica diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ )

Pruebas t de Student para comparar la Ganancia de Peso Semanal entre Broilers alimentado con dietas de Bajo y Alto contenido de Histamina.

DÍA	Promedio $\pm$ Desvíos estándar		T(10g.l)	Significación
	Histamina Baja (N=6)	Histamina Alta (N=6)		
7	89,3 $\pm$ 9,2	70,9 $\pm$ 4,3	4,4	0,001 **
14	243,1 $\pm$ 14,1	203,1 $\pm$ 13,9	4,9	0,001 **
21	414,0 $\pm$ 12,9	379,3 $\pm$ 22,3	3,3	0,008 **
28	544,1 $\pm$ 16,9	523,8 $\pm$ 25,3	1,6	0,134 NS
35	635,8 $\pm$ 28,2	584,7 $\pm$ 19,1	3,6	0,004 **
42	565,0 $\pm$ 28,0	562,7 $\pm$ 29,8	0,1	0,874 NS

NS Indica diferencias no significativas ( $p > 0,05$ ).

\*\* Indica diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ).

(Continuación Anexo 3)

Comparación del Consumo de Alimento entre Broilers alimentados con concentrados de Bajo y Alto contenido de Histamina, según Prueba t de Student.

Día	Promedio $\pm$ Desvíos estándar		T(10g.l)	Significación
	Histamina Baja (N=6)	Histamina Alta (N=6)		
7	138,9 $\pm$ 5,63	139,4 $\pm$ 14,3	-0,075	0,94 NS
14	536,4 $\pm$ 24,3	522,5 $\pm$ 32,3	0,84	0,42 NS
21	1154,2 $\pm$ 45,5	1045,2 $\pm$ 38,5	4,48	0,001 **
28	2097,1 $\pm$ 48,4	1924,10 $\pm$ 71,5	4,91	0,001 **
35	3351,5 $\pm$ 102,8	3124,2 $\pm$ 96,1	3,96	0,002 **
42	4824,6 $\pm$ 225,3	4484,9 $\pm$ 108,2	3,33	0,007 **

NS: Indica diferencias no significativas ( $p > 0,05$ )

\*\* Indica diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ )

Comparación de la conversión de Alimento entre Broilers alimentados con concentrados de Bajo y Alto contenido de Histamina, según Pruebas t de Student.

Día	Promedio $\pm$ Desvíos estándar		T(10g.l)	Significación
	Histamina Baja (N=6)	Histamina Alta (N=6)		
7	1,05 $\pm$ 0,06	1,21 $\pm$ 0,13	-2,7	0,022 *
14	1,43 $\pm$ 0,08	1,65 $\pm$ 0,14	-3,4	0,006 **
21	1,46 $\pm$ 0,06	1,50 $\pm$ 0,09	-0,9	0,383 NS
28	1,57 $\pm$ 0,04	1,58 $\pm$ 0,07	-0,3	0,803 NS
35	1,70 $\pm$ 0,07	1,73 $\pm$ 0,06	-0,8	0,442 NS
42	1,90 $\pm$ 0,08	1,89 $\pm$ 0,06	0,2	0,813 NS

NS: Indica diferencias no significativas ( $P > 0,05$ ).

\* : Indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

\*\* : Indica diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ).

## ANEXO 4

### Ensayo biotóxico para el control Delas Harinas de Pescado

#### 1.- Muestro de las harinas de pescado:

Al momento de la descarga de cada camión que se recepciona con harina de pescado en la fábrica de alimento se muestrea un 20% de los sacos, al azar. De cada camionada se obtienen 8 kg. de muestra independiente a la cantidad recepcionada, la cual se envía al Laboratorio.

#### 2.- Preparación de las dietas de ensayo:

La muestra de 8 kg. de harina de pescado correspondiente a cada camión que ingresa a la fábrica de alimento, se homogeniza en el laboratorio. Una vez homogeneizada, se obtienen dos submuestras de 1,5 kg. cada una (muestra y contramuestra), de este modo cada harina se evalúa por duplicado. Con cada una de estas submuestras se prepara la siguiente dieta.

<b>DIETA</b> Ingredientes	<b>CANTIDAD</b>	
	%	kg
Harina de pescado	60	1,5
Maíz	34	0,85
Trigo, afrechillo	5	0,125
Premescla <sup>1</sup>	1	0,025
Total	100	2,5

<sup>1</sup> Corresponde a una premezcla normalmente utilizada en pollos broiler, e incluye básicamente vitaminas, minerales, promotor de crecimiento y anticoccidial.

(Continuación Anexo 4)

### 3.-Dieta inicial:

La ración que se utiliza durante el período inicial corresponde a una dieta sin harina de pescado, en base a maíz, afrecho de soya y afrechillo de trigo, con 17% de proteína y 2800 kcal de EM/kg.

### 4.- Metodología de Ensayo:

Las aves utilizadas son pollos broiler del día, sin sexar originados de reproductoras de 45 a 50 semanas de edad. Estos pollos son recepcionados en baterías en piso de alambre y se alojan 20 pollitos por corral. Entre los 0 y 4 días de edad se alimentan con la dieta inicial, especificada anteriormente *ad libitum*. Los pollos tienen acceso al agua en forma permanente durante el ensayo. Al cuarto día, las aves son distribuidos en corrales, con 10 aves cada una, realizando el ensayo en duplicado y se les entrega el alimento que contiene harina de pescado para ser consumido en forma *ad libitum*, por un período de siete días (día 5 a 11). Al finalizar el período, los pollos son sacrificados por dislocación cervical. Los pollos que mueren durante el ensayo son pesados individualmente, se les realiza una necropsia y se evalúa el grado de lesión de molleja.

### 5. - Score biotóxico

Las lesiones de las mollejas son evaluadas de 0 a 3, según la misma clasificación que se indica en el material y métodos, luego de analizar los 10 estómagos y asignarle un puntaje a cada uno, se utiliza la siguiente fórmula para calcular la puntuación de cada harina. Fórmula para calcular el puntaje del Score Biotóxico.

$$S.B.= \frac{2 * N^{\circ} \text{ Categoría 2} + 3 * N^{\circ} \text{ Categoría 3}}{\text{Total N}^{\circ} \text{ Categorías 0 a 3 (10)}}$$



## ANEXO 5

### Análisis de HPLC

#### Análisis de HPLC muestras harina de pescado.

Harina de Pescado	Pu	Ca	Hi	Ti
A	40,35	86,49	9,45	15,46
B	277,14	762,29	5.649	83,37*

\*: Valores expresados en partes por millón (ppm).

#### Análisis de HPLC alimento Inicial Broiler (0-21).

DIETA	Pu	Ca	Hi	Ti
HB-I	6,82	16,35	2,80	**
HA-I	42,71	121,22	672,43	12,89

\*\* : Valores traza no es posible su determinación.

#### Análisis de HPLC alimento Mediano (22-30).

Alimento	Pu	Ca	Hi	Ti
HB-M	3,66	9,02	8,31	33,06
HA-M	30,99	72,45	441,90	33,34

#### Análisis de HPLC alimento Terminal (31-36).

Alimento	Pu	Ca	Hi	Ti
HB-T	2,03	8,11	4,75	32,02
HA-T	17,65	49,21	263,32	3,39

#### Análisis de HPLC alimento Final (37-42).

Alimento	Pu	Ca	Hi	Ti
HB-F	1,97	7,02	2,06	30,07
HA-F	15,37	42,14	246,91	25,57

Pu: Puírescina, Ca: Cadaverina, Hi: Histamina, Ti: Tiramina.

## ANEXO 6

Esquema de vacunación utilizado durante el ensayo de crianza.

Edad (días)	Vacuna
1	Solvay Mass
9	Gumboro
9	Newcastle
14	Bronquitis B 1

## ANEXO 7

### Resultado del Análisis Químico Proximal de las raciones utilizadas

RACION	NUTRIENTES					
	Proteina	Calcio	Fósforo	NaCl	Sodio	Humedad
<b>INICIAL - HB</b>	19.48	0.84	0.52	0.38	0.15	15.23
<b>INICIAL - HA</b>	18.72	0.92	0.61	0.30	0.12	15.44
<b>MEDIANA - HB</b>	18.36	0.70	0.47	0.40	0.16	14.22
<b>MEDIANA - HA</b>	18.40	0.74	0.49	0.38	0.15	14.26
<b>TERMINAL - HB</b>	17.02	0.75	0.46	0.22	0.09	15.53
<b>TERMINAL - HA</b>	17.29	0.66	0.49	0.17	0.07	15.32
<b>FINAL - HB</b>	17.13	0,59	0.45	0.20	0.08	14.52
<b>FINAL - HA</b>	17.86	0.61	0.46	0.18	0.07	14.79

**HB: HISTAMINA BAJA**

**HA: HISTAMINA ALTA**

## ANEXO 8

### ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LAS HARINAS DE PESCADO

NUTRIENTES	HARINA DE PESCADO	
	A	B
Humedad (%)	8,23	9,98
Mat. Seca (%)	91,77	90,02
Proteína Total (%)	66,8	64,44
E. Etéreo (%)	12,17	10,55
Ceniza (%)	13,18	15,32
Calcio (%)	2,798	3,84
Fósforo (%)	1,982	2,304
Cloruro (%)	2,729	1,957
Sodio (%)	1,074	0,77
Prot. Digestible (%)	91,24	93,71
Energía Metabolizable (KcaL/Kg)	3.355,17	3.151,27

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que colaboraron y apoyaron mi trabajo de tesis...

A mi familia, por permitirme salir adelante y conseguir las metas trazadas.

A mi patrocinante, Dra. Aída Cubillos por apoyar y alentar este trabajo.

A la Empresa Agrícola Super Ltda., por financiar éste trabajo de tesis y por todas las facilidades técnicas y humanas otorgadas, especialmente :

A los Médicos Veterinarios, Señores José Miguel Torres y Javier González por el conocimiento y consejo entregado.

Al Señor Jorge Orestes, por la realización de los Análisis de Laboratorio.

Al personal del Pabellón de Ensayos, Señores Aquiles Pérez e Iván Salgado, por su ayuda diaria.

Al personal de la Fábrica de Alimentos, por la buena disponibilidad y colaboración prestada

Al personal de la Planta Faenadora, especialmente a la Dra. Patricia Landaida, Dra. Paula Sepúlveda y al Sr. Juan Lira, por las facilidades y apoyo otorgados.

A la Sra. Ingrid Bidermann, por colaborar en la búsqueda del material bibliográfico

Al Sr. Víctor Díaz, por su amistad y desinteresada colaboración.

A Patricio, por ser mi compañero y brindarme siempre su consejo certero.

A mis amigos: Viviana, María Teresa, Loreto, Ricardo y Marcelo.