



**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

de la

**Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista**

por

Velya Ruth Tejeda Gil

Asesores

**M.V.Z., M.C. Xóchitl Hernández Velasco.
M.V.Z., M.C. Víctor Manuel Petrone García.
M.V.Z., M.C. Benjamín Fuente Martínez.**

México, D.F., 2002.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

TÍTULO

EFFECTO DEL TOLTRAZURIL EN LA ABSORCIÓN DE PIGMENTO, EL NÚMERO DE OOQUISTES DE *EIMERIA* spp. EN LAS HECES Y LESIONES ENTÉRICAS DE POLLOS DE ENGORDA VACUNADOS CONTRA *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* Y *E. tenella*.

DEDICATORIA

A mis padres que me han sabido conducir por el camino de la verdad a través de sus invaluables consejos y de su incondicional apoyo.

A mi hermano Román y su esposa Eugenia.

A mis tíos Carlos Augusto y Román.

A mis tías Edith, Josefina, Juana y Micaela.

A mis primos Alejandro, Erick, Carlos, Marco Tulio, Ángel, Miranda, Valeria, Diana, Adrián, Yessica, Aline y Eloisa.

A mis amigos Norma, Omar, Didier, Diana, Ana Cristina, Miriam, Edgar, Tania, Roxana, Paulina, Vanessa, Marco Aurelio, Eustolia, David, Sara, Moisés y César Augusto.

AGRADECIMIENTOS

A Dios que nunca me deja solo y siempre me acompaña en todo momento.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y a sus académicos que me han formado profesionalmente.

A mis asesores con cariño MVZ Xóchitl Hernández, MVZ Víctor M. Petrone y MVZ Benjamín Fuente por su apoyo, su tiempo, sus conocimientos, su amistad y sobre todo por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo.

A los miembros de mi jurado MVZ Ma. Teresa Quintero, MVZ Juan Montaña, MVZ Gabriela Gómez, MVZ Rubén Merino y MVZ Xóchitl Hernández por su valiosa orientación en este trabajo.

Al Laboratorio Bayer de México S.A. de C.V. México, D.F. por los apoyos brindados para el desarrollo de este trabajo.

Al Laboratorio Shering Plough México, D.F. por la donación del material biológico.

A la Dra. Gabriela Gómez Verduzco por su confianza y su apoyo.

Al Dr. Rubén Merino por sus enseñanzas y su amistad en el Laboratorio.

A mis amigos: Libia G., Ulises R., Rodrigo C., Mireya J., Juan Carlos B., Natanael M., Mireya N., Esmeralda C., José María P., Ivonne P., Armando E., Sandra G., Daniel O., Cristian C., Mónica A., José G., Elizabeth A., Bernardo P., Marcelo P., Sr. Adelfo, Sr. Rodrigo, MVZ Daniel C., Ing. José B., MVZ Manuel Q., MVZ Ramón O., MVZ Edmundo B., que sin su valiosa participación no habría sido posible este trabajo.

A los académicos del DPA: Aves: MV Tamas Fehervari, MVZ Guillermo Téllez, MVZ Luz María Charles, MVZ José Antonio Quintana, MVZ Carlos López Coello, MVZ Norma Calderón, MVZ Cecilia Rosario, MVZ Magdalena Escorcía, MVZ Marco Juárez, MVZ Gerardo Nava, MVZ Odette Urquiza, MVZ Reynaldo Moreno, MVZ Néstor Ledesma, MVZ Teresa Casaubón.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
TÍTULO.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CONTENIDO.....	IV
LISTA DE CUADROS	V
ABREVIATURAS	VI
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	5
OBJETIVOS	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	17
LITERATURA CITADA	23
CUADROS	27
FIGURA	32

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1. Edad en días a la vacunación, desafío con <i>Eimerias</i> y el tratamiento con toltrazuril en pollo de engorda.	<u>Página 27</u>
CUADRO 2. Pigmento en plasma.	<u>Página 28</u>
CUADRO 3. Número de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. por gramo de heces.	<u>Página 28</u>
CUADRO 4. Lesiones entéricas macroscópicas.	<u>Página 29</u>
CUADRO 5.1 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el duodeno.	<u>Página 30</u>
CUADRO 5.2 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el yeyuno.	<u>Página 30</u>
CUADRO 5.3 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el ciego.	<u>Página 31</u>
FIGURA 1 Diseño de grupos experimentales.	<u>Página 32</u>

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 1. Edad en días a la vacunación, desafío con <i>Eimerias</i> y el tratamiento con toltrazuril en pollo de engorda.	<u>Página 27</u>
CUADRO 2. Pigmento en plasma.	<u>Página 28</u>
CUADRO 3. Número de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. por gramo de heces.	<u>Página 28</u>
CUADRO 4. Lesiones entéricas macroscópicas.	<u>Página 29</u>
CUADRO 5.1 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el duodeno.	<u>Página 30</u>
CUADRO 5.2 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el yeyuno.	<u>Página 30</u>
CUADRO 5.3 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el ciego.	<u>Página 31</u>
FIGURA 1 Diseño de grupos experimentales.	<u>Página 32</u>

LISTA DE ABREVIATURAS

- **CA** **Coccidiosis aviar.**
- **PBS** **Solución buferada de fosfatos.**
- **LIE** **Linfocitos intraepiteliales.**
- **EDTA** **Etilendiaminotetracetato de Sodio al 2%.**
- **HE** **Hematoxilina y eosina.**

RESUMEN

TEJEDA GIL, VELYA RUTH. Efecto del toltrazuril en la absorción de pigmento, el número de ooquistes de *Eimeria* spp. en las heces y lesiones entéricas de pollos de engorda vacunados contra *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* y *E. tenella*. (bajo la dirección de MVZ MC Xóchitl Hernández Velasco, MVZ MC Víctor Manuel Petrone García, MVZ MC Benjamín Fuente Martínez).

La coccidiosis aviar (CA) es la parasitosis de mayor importancia en el pollo de engorda, debido a que produce una mala absorción de nutrientes y pigmentos, lo que ocasiona retraso en el crecimiento, alta conversión alimenticia, bajos niveles séricos de carotenos en el plasma, mala pigmentación cutánea, y grandes pérdidas al productor. Para el control de la CA se puede usar el toltrazuril, que no tiene ninguna relación con otros agentes anticoccidianos, por lo que hasta la fecha no se han informado de Eimerias resistentes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la cantidad de pigmento sintético en plasma, la cantidad de ooquistes de *Eimeria* spp. liberados en las heces y las lesiones entéricas en pollo de engorda después de la vacunación contra *Eimeria* spp. y tratados con toltrazuril. Los resultados muestran que el toltrazuril fue eficaz para el control de CA y no interfirió con la inmunidad obtenida previamente en los pollos ya sea por vacunación o por un desafío, debido a que los pollos tratados con toltrazuril tuvieron menor cantidad de ooquistes liberados en las heces, menor cantidad de lesiones en el intestino y similar cantidad de linfocitos en el intestino a los 46 días de edad. Además el toltrazuril y la vacunación no afectan el pigmento plasmático a los 45 días de edad.

INTRODUCCIÓN

El toltrazuril es un coccidicida que pertenece al grupo químico de las triazinonas simétricas y no tiene ninguna relación con otros agentes anticoccidianos por lo que hasta la fecha no se han informado de *Eimerias* resistentes.⁽¹⁾ La manera de actuar del toltrazuril es provocar tumefacción del retículo endoplásmico en todos los estadios evolutivos intracelulares de la coccidia. La vía de aplicación del toltrazuril es el agua de bebida y es efectivo para el tratamiento de brotes de coccidiosis aviar (CA) con lesiones intestinales severas,⁽¹⁻³⁾ disminuye las pérdidas de peso y mortalidad en la parvada, además de que puede ser usado como terapia y tratamiento intermitente en infecciones por *Eimeria*.⁽³⁻⁵⁾

Durante la CA existe una reducción en la absorción de nutrientes y de carotenoides por el daño directo provocado por el parásito en el tracto intestinal del ave, debido a que las *Eimerias* son parásitos intracelulares que provocan cambios morfofisiológicos importantes en la mucosa del intestino y una marcada reducción en la producción de las lipoproteínas responsables del transporte de los carotenoides plasmáticos de la mucosa intestinal al hígado y de ahí a los tejidos.^(7, 8)

La CA es una enfermedad de distribución mundial que produce mala absorción de nutrientes y pigmentos, lo que ocasiona retraso en el crecimiento, alta conversión alimenticia, bajos niveles séricos de carotenos en el plasma, mala pigmentación cutánea y pérdidas económicas al productor.^(9, 10)

La pigmentación cutánea es un elemento importante de calidad de la carne y es determinante en el precio ya que el consumidor asocia la salud del ave con un color que va de amarillo a naranja y que es agradable a la vista; mientras que la palidez y la baja

pigmentación generalmente lo relaciona con signos de desnutrición, enfermedad y mala calidad de la canal.^(7, 11, 12) Por ello la preocupación de tener una buena pigmentación amarilla de la piel del pollo.

El proceso de pigmentación cutánea es un fenómeno acumulativo, siendo la grasa subcutánea y la epidermis donde se depositan la mayor parte de los carotenoides que darán color a la piel del pollo. El color de la piel está en función de la estirpe del ave, su alimentación, las condiciones en que se maneje, el tipo, el tiempo de administración y la dosis de pigmento que se utilice; y por supuesto la salud del ave durante su desarrollo.⁽¹¹⁾

Las lesiones de CA con mayor frecuencia observadas en las aves son en el caso de *Eimeria acervulina*, adelgazamiento de la mucosa y placas blanquecinas que tienden a acomodarse transversalmente y con apariencia de escalera en duodeno, además en la histopatología se observan gametocitos ovoides que parasitan las células de la mucosa sobre las vellosidades del duodeno; en el caso de *E. maxima* existe flacidez (abalonamiento) y en la luz presencia de moco amarillo anaranjado y líquido abundante en la parte media del intestino, las lesiones se desarrollan por la congestión y edema, la infiltración celular y engrosamiento de la mucosa. Las células huéspedes infectadas se agrandan y empujan hacia la zona subepitelial. Existen hemorragias cerca de los extremos de las vellosidades del yeyuno; en el caso de *E. tenella* los ciegos se observan aumentados de tamaño y distendidos con coágulos de sangre y porciones de mucosa cecal en la luz, la infección puede verse desde la superficie serosa de los ciegos como petequias oscuras y la pared engrosada debido al edema e infiltración celular. La maduración de los parásitos de segunda generación causa hemorragias y ruptura de las glándulas cecales y en ocasiones destrucción completa de la mucosa y de la capa muscular de la mucosa; en el caso de *E. mivati* las lesiones tempranas

se presentan en el duodeno y más tarde en la parte media de intestino y en intestino delgado posterior. *E. mivati* provoca lesiones semejantes a las ocasionadas por *E. acervulina*, sin embargo, *E. mivati* necesita mayor cantidad de ooquistes esporulados.⁽¹⁰⁾

Un método de control de CA es el uso de vacunas. Existen dos tipos de vacunas, "atenuadas" y "no atenuadas". Las vacunas vivas atenuadas contienen especies de *Eimeria* spp. que fueron seleccionadas por no presentar patogenicidad. Las vacunas vivas no atenuadas contienen especies de *Eimeria* spp. que son patógenas.^(13, 14)

La vacuna viva no atenuada Coccivac B® se utiliza para reemplazar a las cepas patógenas de campo, ya que contiene las especies más importantes de *Eimeria* en pollo de engorda y éstas nunca han tenido contacto con ningún tipo de droga anticoccidiana, y por lo tanto, las coccidias son totalmente susceptibles a estas drogas. Se administra en la planta incubadora por medio de un gabinete de aspersión con gota gruesa o durante los primeros días de edad en el alimento o en el agua de bebida. Aproximadamente 6 días después de la vacunación los oocistos son excretados en las heces. Una ventaja en el uso de este tipo de vacuna es que las lesiones intestinales no se observan si se utiliza la dosis vacunal recomendada y no hay factores complicantes, y una desventaja es que su margen de seguridad es muy estrecho. La CA se puede manifestar si las aves se encuentran expuestas a un gran número de oocistos antes de haber adquirido una adecuada inmunidad y es necesario tratarlas con fármacos anticoccidianos.^(13, 14) El toltrazuril puede ser usado para el tratamiento de aves que manifiesten CA clínica.^(5, 13)

En la CA el reconocimiento del parásito es por fagocitosis y la inmunidad celular juega un papel esencial en el control de la infección. La vacuna induce una inmunidad sólida después de 2-3 ciclos de replicación del parásito en el ave. Los linfocitos intraepiteliales

(LIE) intestinales junto con los macrófagos, en las etapas iniciales de la infección, transportan esporozoítos invasivos de la superficie del epitelio al sitio de evolución de las criptas.⁽¹⁵⁾

Los linfocitos CD4+ y CD8+ participan en la respuesta celular. Las células CD8+ son el mediador primario de la inmunidad celular local en la CA. Los LIE son importantes en la defensa de la superficie de la mucosa, especialmente en su capacidad citotóxica.⁽¹⁵⁾

En la cantidad total de células linfoides que se encuentran en el intestino de las aves, el 80% es de LIE, donde aproximadamente el 10% de estas son linfocitos B y 90% son linfocitos T.⁽⁸⁾ En los pollos, la actividad intestinal de los LIE es capaz de cambiar durante la infección con *Eimeria* spp.,⁽¹⁵⁾ pero es posible que incremente su número, evidentemente después del final de una primo infección, contribuyendo a su control.⁽⁸⁾

JUSTIFICACIÓN

Existen numerosos coccidiostatos que son utilizados para el control y tratamiento de la CA; sin embargo, no existen estudios que infieran el efecto del toltrazuril sobre la absorción de pigmento, el número de ooquistes de *Eimeria* spp. liberados en heces y las lesiones entéricas en pollos de engorda vacunados contra *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*.

OBJETIVOS

- a) Evaluar el efecto de la vacunación contra *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*, y del tratamiento con toltrazuril sobre la cantidad de pigmento en el plasma de pollo de engorda.
- b) Evaluar el efecto del tratamiento con toltrazuril sobre el número de ooquistes liberados en las heces.
- c) Evaluar el grado de severidad de las lesiones macroscópicas en el intestino de pollos de engorda vacunados contra *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*, tratados con toltrazuril y desafiados con *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*.
- d) Evaluar el grado de severidad de las lesiones microscópicas en el intestino de pollos de engorda vacunados contra *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*, tratados con toltrazuril y desafiados con *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mivati*.

MATERIAL Y METODOS

1. INSTALACIONES.

Se utilizó una unidad de aislamiento con jaulas en batería con calefacción eléctrica en el Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.

2. ANIMALES PARA EXPERIMENTACIÓN.

Se utilizaron 210 pollos de engorda sin sexar de un día de edad, provenientes de una planta incubadora comercial.

3. ALIMENTO Y PIGMENTO.

Los pollos consumieron durante 3 semanas alimento iniciador con base en soya y sorgo. A partir de la semana 4, los pollos consumieron alimento finalizador con base soya y sorgo con 65 ppm de pigmento sintético éster C30 (etil éster del ácido β -apo-8'-carotenóico) (Lucantín Amarillo al 10% [®]BASF Mexicana; México, D.F.) y agua a libre acceso.

4. VACUNA E INOCULO DE DESAFÍO.

Vacuna con un título de 426,000 ooquistes esporulados y viables/ml con 50% *E. acervulina*, 11% *E. maxima*, 24% *E. tenella* y 15% *E. mivati* (Coccivac B[®], Laboratorio Shering Plough, México D.F.).

La dosis 1x equivale a 1,000 ooquistes esporulados y se administró en un volumen de 1 ml de solución buferada de fosfatos (PBS) vía oral por medio de una sonda esofágica.

5. FÁRMACO.

Toltrazuril (Baycox[®], Laboratorio Bayer de México S.A de C.V, México D.F.). Fue diluido en agua destilada a dosis de 7 mg/kg de peso corporal y administrado vía oral por medio de una sonda esofágica en un volumen total de 1 ml por día por pollo.

6. DISEÑO DE GRUPOS.

Los pollos fueron distribuidos de manera aleatoria en 2 grupos hasta los 20 días de edad: "A" y "B".

6.1 Grupo "A".

El grupo "A" incluyó 120 pollos y se dividió en cuatro subgrupos con 30 aves cada uno (A1, A2, A3 y A4). Los subgrupos A1, A2, A3 y A4 recibieron cuatro aplicaciones por vía oral de la vacuna con dosis de 1x, 2x, 3x y 4x los días 5, 10, 15 y 20 de edad respectivamente.

Los subgrupos A1, A2 y A3 fueron desafiados con dosis 80x de la vacuna a los 25 días de edad.

El subgrupo A1 fue tratado con toltrazuril vía oral los días 32 y 33 de edad.

El subgrupo A1 y A2 tuvieron un segundo desafío con 160x de la vacuna a los 39 días de edad. Figura 1

6.2 Grupo "B".

El grupo "B" incluyó 90 pollos y se dividió en tres subgrupos con 30 aves cada uno (B1, B2 y B3).

El subgrupo B1 fue desafiado con dosis 80x de la vacuna aplicada vía oral a los 25 días de edad; tratado con toltrazuril por vía oral los días 32 y 33 de edad y tuvo un segundo desafío con 160x de la vacuna a los 39 días de edad.

El subgrupo B2 fue desafiado con dosis 160x de la vacuna a los 39 días de edad.

El subgrupo B3 no tuvo vacunación, desafío o tratamiento (Testigo negativo) (Cuadro 1)

Figura 1.

7. TOMA DE MUESTRAS.

7.1 Pigmento en plasma.

Semanalmente a partir de los 24 días de edad se obtuvo una muestra de 1.5 ml de sangre de 10 pollos de cada grupo seleccionados de manera aleatoria simple, a partir de la vena radial con etilendiaminotetracetato de sodio al 2% (EDTA), en una proporción de 1:10. La muestra fue tomada tres horas después de haber iniciado la ingesta de alimento. Las muestras de sangre se centrifugaron a 1,500 g durante 15 min. Posteriormente se extrajo 0.5 ml de plasma y se mezcló con 4.5 ml de acetona por medio de un agitador tipo "vortex", esta mezcla fue centrifugada a 500 g durante 10 min.

7.2 Cantidad de ooquistes de *Eimeria* spp. liberados en heces.

A partir de 10 pollos de cada grupo seleccionados de manera aleatoria simple y semanalmente a partir de los 25 días de edad, se obtuvo una muestra de heces por pollo. De cada muestra de heces se tomó 2 g y se conservaron en solución de dicromato de Potasio al 2.5% en una proporción 1:10.

7.3 Lesiones entéricas.

- a) **Macroscópicas.** Se expuso la mucosa intestinal de 5 pollos que fueron sacrificados por dislocación cervical de cada grupo de manera aleatoria simple y semanalmente a partir de los 25 días de edad.⁽¹⁶⁾
- b) **Microscópicas.** De cada pollo sacrificado se tomó una muestra de 1 cm de largo del duodeno (parte media), intestino medio (2 cm antes del divertículo vitelínico) y de los sacos ciegos (parte media) que fueron fijadas en formalina al 10%. Las muestras fueron procesadas por la técnica de inclusión en parafina y tinción de rutina HE (hematoxilina y eosina).⁽¹⁷⁾

8. EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS.

8.1 Pigmento en plasma.

Al sobrenadante de cada muestra centrifugada se le midió la densidad óptica por medio de un espectrofotómetro con una longitud de onda de 478 nm según la técnica descrita por Allen y col.⁽⁹⁾

8.2 Cantidad de ooquistes de *Eimeria* spp. liberados en heces.

Se realizó un conteo de ooquistes de *Eimeria* spp. por gramo de heces por medio del método de Mc Master.⁽¹⁸⁾

8.3 Lesiones entéricas.

- a) **Macroscópicas.** Las lesiones entéricas se evaluaron por el método de Johnson y Reid.⁽¹⁹⁾
- b) **Microscópicas.** La evaluación se realizó por medio de un microscopio fotónico con lente de medición reticular y el objetivo seco fuerte (40x), para aumento total de 400x, se cuantificaron las células epiteliales y extraepiteliales inflamatorias de 5 campos, además se calculó el porcentaje de las células extraepiteliales inflamatorias con respecto al total de células, se utilizó un cuadro de 241 μm x 241 μm (área = 0.0581 mm^2). El cuadro midió sobre la membrana basal las células extraepiteliales inflamatorias (macrófagos, linfocitos, heterófilos y células dendríticas) de cada corte histológico de duodeno, yeyuno y ciego. Además en cada corte histológico se contó el número de coccidias presentes en duodeno, yeyuno y ciego.

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados de pigmento plasmático, así como el número de coccidias en las heces y el porcentaje de células inflamatorias entéricas, fueron transformados logarítmicamente. A los datos transformados y a la cantidad absoluta de coccidias se les aplicó análisis de varianza y las diferencias entre las medias fueron evaluadas mediante la prueba de Tukey. Los resultados de las lesiones macroscópicas se analizaron por medio de la prueba de U de Mann Whitney.⁽²⁰⁾ La significancia mínima estadística se consideró con $P < 0.05$.

RESULTADOS

1. PIGMENTO EN PLASMA

24 días de edad.

Los subgrupos A4 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) en la densidad óptica de pigmento en plasma (Cuadro 2).

31 días de edad.

El subgrupo B3 mostró mayor densidad óptica de pigmento en plasma ($P<0.05$) que el resto de los subgrupos, seguido por los subgrupos A3 y A4 que no presentaron diferencias entre ellos ($P>0.05$), pero sí fueron mayores significativamente ($P<0.05$) al subgrupo B1 (Cuadro 2).

38 días de edad.

Los subgrupos A1 y B3 mostraron mayores densidades ópticas de pigmento en plasma y no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos. Los subgrupos A1, A3, A4 y B1 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos (Cuadro 2).

45 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos en la densidad óptica de pigmento en plasma (Cuadro 2).

2. NÚMERO DE OOQUISTES DE *EIMERIA* SPP. POR GRAMO DE HECES

25 días de edad

El subgrupo A4 fue significativamente mayor ($P<0.05$) al subgrupo B3 en la cantidad de *Eimeria* spp. por gramo de heces (Cuadro 3).

32 días de edad.

El subgrupo B1 es significativamente mayor ($P < 0.05$) que los otros subgrupos que no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ellos, en la cantidad de *Eimeria* spp. por gramo de heces (Cuadro 3).

39 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ellos en la cantidad de *Eimeria* spp. por gramo de heces (Cuadro 3).

46 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ellos, excepto el subgrupo B2, que fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en la cantidad de *Eimeria* spp. por gramo de heces (Cuadro 3).

3. LESIONES ENTÉRICAS**A) Macroscópicas****25 días de edad**

Los subgrupos A4 y B3 no presentaron lesiones (Cuadro 4).

32 días de edad.

El subgrupo A3 presentó lesiones en el duodeno de 93%, calificación = +1; en el yeyuno 40% calificación = +1; y en los ciegos 33% calificación = +1. El subgrupo A4 presentó lesiones en el duodeno 60% calificación = +2; en el yeyuno 60% calificación = +1; y en los ciegos 20% calificación = +1. El subgrupo B1 presentó lesiones en el duodeno 60% calificación = +1; en el yeyuno 80% calificación = +1 y en los ciegos 60% calificación = +3 (Cuadro 4).

39 días de edad.

El subgrupo A1 presentó lesiones en el yeyuno de 60% calificación = +1. El subgrupo A3 presentó lesiones en el duodeno 20% calificación = +1, con moda = 0; en el yeyuno 30% calificación = +1, con moda = 0; y en los ciegos 40% calificación = +1, con moda = 0. El subgrupo B1 presentó lesiones en el duodeno 40% calificación = +1,+2, con moda = 0; en el yeyuno 100% calificación = +1; y en los ciegos 20% calificación = +1, con moda = 0 (Cuadro 4).

46 días de edad.

El subgrupo A1 presentó lesiones en el duodeno 20% calificación = +1, con moda = 0; y en el yeyuno 60%, calificación = +1. El subgrupo B1 presentó lesiones en el duodeno 20% calificación +1, con moda = 0; y en el yeyuno 40% calificación = +1, con moda = 0. El subgrupo B2 presentó lesiones en el duodeno de 20% calificación = +1, con moda = 0; en el yeyuno 100% calificación = +1, y en los ciegos 60%, calificación = +4 (Cuadro 4).

B) Microscópicas**1. Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias****1.1 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en duodeno.*****25 días de edad.***

Los subgrupos A4 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.1).

32 días de edad.

Los subgrupos no mostraron diferencia significativa ($P>0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.1).

39 días de edad.

El subgrupo A4 fue significativamente mayor ($P<0.05$) que el subgrupo A1 y B1, que no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos. Los subgrupos A3 y B3 fueron significativamente menores que los demás subgrupos ($P<0.05$) y no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos, en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.1).

46 días de edad.

Los subgrupos no mostraron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos; excepto el subgrupo A2, que es significativamente mayor ($P<0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.1).

1.2 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en veyuno.***25 días de edad***

El subgrupo A4 fue significativamente mayor ($P<0.05$) al subgrupo B3 en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.2).

32 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.2).

39 días de edad.

Los subgrupos A4 y B1 fueron mayores que los demás subgrupos en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias y no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos. Los subgrupos A1, B1 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$)

entre ellos; y los subgrupos A1, A3 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.2).

46 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.2).

1.3 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el ciego.

25 días de edad.

El subgrupo A4 fue significativamente mayor ($P<0.05$) al subgrupo B3 en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.3).

32 días de edad.

Los subgrupos no mostraron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos, excepto el subgrupo B1, que es significativamente mayor ($P<0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.3).

39 días de edad.

Los subgrupos no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.3).

46 días de edad.

Los subgrupos A1, A3 y B2 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) entre ellos en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias.

Los subgrupos A1, A2, A3, B1 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias.

Los subgrupos A2, A3, A4, B1 y B3 no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$) en el porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias (Cuadro 5.3).

2. Cantidad de coccidias promedio en cortes histológicos.

25 días de edad.

No se observaron coccidias en el duodeno, en el yeyuno y en el ciego de todos los subgrupos.

32 días de edad.

No se observaron coccidias en el duodeno de todos los subgrupos. La cantidad promedio de coccidias observadas en el yeyuno fue de 0.6 para todos los subgrupos, excepto el subgrupo B3 (0%). En el ciego, la cantidad promedio de coccidias observadas en el subgrupo A4 fue de 0.5 y en el subgrupo B1 de 500.

39 días de edad.

No se observaron coccidias en el duodeno, en el yeyuno y en el ciego de todos los subgrupos.

46 días de edad.

La cantidad promedio de coccidias observadas en el duodeno, en el subgrupo B1 fue de 0.6, y en el subgrupo B2 fue de 1.2. En el yeyuno del subgrupo A2 fue de 14, y en el subgrupo B2 fue de 19.25. En el ciego, el subgrupo A2 fue de 14, y en el grupo B2 de 78.4.

En el duodeno, en el yeyuno y en el ciego de los demás subgrupos no se observaron Eimerias.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

PIGMENTO SINTÉTICO EN PLASMA.

El pigmento plasmático a los 31 días de edad disminuyó en los pollos infectados con *Eimeria* spp., siendo aún menor en los pollos desafiados. Resultados similares reporta Allen en aves inoculadas con Eimerias, donde el pigmento plasmático se reduce hasta un 90%⁽⁷⁾. Esta reducción se puede deber al daño directo en la mucosa intestinal provocado principalmente por *Eimeria maxima*. Esta coccidia causa lesiones en el yeyuno donde se absorbe mayor cantidad de carotenos.^(21, 22) Además la infección con Eimerias causa una disminución en el pH que provoca la desnaturalización de la proteína transportadora A-I, la disminución de esta proteína reduce la absorción de carotenos.⁽²²⁾ La reducción de pigmento plasmático se puede agravar por la fuga de carotenos sanguíneos durante las hemorragias cecales causadas por la infección con *E. tenella* como lo reporta Ruff en aves inoculadas con esta especie de Eimeria.⁽²²⁾

Los pollos vacunados + desafiados (A3), no mostraron diferencia significativa con los pollos sólo vacunados; estos hallazgos sugieren que la vacuna evitó de manera anticipada (31 días de edad) la reducción en el pigmento plasmático ante un desafío. Sin embargo, los mismos pollos presentaron menor pigmento plasmático que los pollos no vacunados, ni desafiados (testigo negativo) (B3). Este efecto se repitió a los 38 días de edad. Estos hallazgos no pueden ser comparados con otros estudios debido a la ausencia de información relacionada con el comportamiento del pigmento plasmático en aves vacunadas con Coccivac B®.

También a los 38 días de edad, no hubo diferencia estadística significativa en la cantidad de pigmento en plasma entre los pollos vacunados + desafiados + tratados con toltrazuril (A1) y en los pollos no inoculados (testigo negativo) (B3). Mientras que en los pollos vacunados (A4), los pollos vacunados + desafiados (A3) y los pollos desafiados + tratados con toltrazuril (B1) la cantidad de pigmento en plasma es menor respecto a los pollos no inoculados (testigo negativo) (B3). La disminución en el pigmento plasmático se puede deber a que los epitelocitos necróticos de las vellosidades, por efecto de la infección de coccidias, se reemplazan por células inmaduras provenientes de las glándulas entéricas. Sin embargo, los epitelocitos inmaduros tienen menor capacidad de absorción según estudios realizados por Ferguson y Jarret.⁽²³⁾

En los pollos de 45 días de edad todos los grupos tuvieron cantidades similares de pigmento plasmático, lo que sugiere que los pollos vacunados o desafiados con *Eimeria* spp. controlan la infección por la inmunidad adquirida debido a la exposición previa del parásito, lo que permite la regeneración de las vellosidades y recuperar su capacidad de absorción.

Este estudio reporta por primera vez el comportamiento del pigmento plasmático en aves vacunadas contra *Eimeria* spp. y tratadas con toltrazuril.

CANTIDAD DE OOQUISTES DE *EIMERIA* SPP. LIBERADOS EN LAS HECES Y LESIONES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS ENTÉRICAS.

A los 25 días de edad los pollos vacunados no presentaron lesiones macroscópicas en el intestino; sin embargo, se observaron ooquistes en las heces que demuestran la replicación de las coccidias en el intestino. Esto concuerda con Rebollo⁽²⁴⁾ quien observó el mismo efecto en pollos de 2 días de edad vacunados con *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* y *E. tenella*. Además los pollos presentaron mayor cantidad de células inflamatorias en la mucosa del yeyuno y del ciego comparados con los testigos negativos (B3); el aumento de células inflamatorias se puede deber a la respuesta inmune en el reconocimiento de *E. maxima* y *E. tenella*. Esto contrasta con lo reportado por Ridell⁽²⁵⁾ quien menciona que *E. acervulina* produce infiltrado linfocítico severo. Esta discrepancia se puede explicar porque la respuesta linfocítica se presenta en pollos infectados con *E. acervulina* después de la reacción inflamatoria producida por *E. maxima* y *E. tenella*.

A los 32 días de edad, los pollos vacunados + desafiados (A3) no mostraron diferencia significativa en la cantidad de ooquistes en las heces con los pollos vacunados y con los pollos no vacunados (testigo negativo) (B3), lo que demuestra que la vacuna confiere inmunidad a los pollos y los protege en una nueva exposición.^(8, 24, 26) También los pollos vacunados + desafiados (A3) presentaron mayor número de lesiones macroscópicas en el duodeno (93%, calificación = +1) que el resto de los pollos en el estudio y no mostraron diferencia significativa con los otros grupos de pollos en la cantidad de células infiltradas en el duodeno, en el yeyuno y en el ciego. Los pollos de todos los grupos no presentaron diferencias entre ellos en el porcentaje de linfocitos infiltrados tanto en el duodeno como en

el yeyuno. Además, no se encontró una relación directa entre la cantidad de ooquistes encontrados en las heces, el grado de lesiones macroscópicas y la cantidad de lesiones microscópicas entéricas; estos hallazgos concuerdan con el estudio hecho por Idris⁽²⁷⁾ en pruebas de rutina para CA en granjas de pollos comerciales de 2-3 semanas de edad. Los pollos vacunados (A4), vacunados + desafiados (A3) no presentaron diferencias con los pollos no inoculados (B3) en el número de ooquistes en las heces; sin embargo, presentaron lesiones macroscópicas y no tuvieron diferencias significativas en el porcentaje de linfocitos en el intestino, de esta manera las aves pudieron estar cursando la enfermedad presentando lesiones macroscópicas y no teniendo diferencias significativas en las lesiones microscópicas con los pollos no inoculados; por lo tanto, es importante hacer un estudio macroscópico del intestino, un examen parasitológico (Mc Master) y un examen microscópico para saber el estado de salud de las aves con respecto a la CA como sugiere Idris.⁽²⁷⁾ A esta misma edad, los pollos desafiados y no vacunados tienen mayor cantidad de ooquistes en las heces, mayor cantidad de lesiones macroscópicas entéricas y mayor cantidad de linfocitos infiltrados en el ciego que el resto de los pollos de este estudio, esto se pudiera deber a que los pollos sólo desafiados no habían tenido contacto con *Eimeria* spp.; por lo tanto, se presentó una proliferación de coccidias e infiltración abundante de linfocitos debido a una respuesta inflamatoria contra *Eimeria tenella*. En los pollos que fueron vacunados, la infiltración linfocitaria se observó a los 25 días de edad en el yeyuno y en el ciego; tal efecto se perdió en el ciego debido a que a los 39 y 46 días de edad el porcentaje de células infiltradas fueron similares en todos los grupos.

A los 39 días de edad los pollos vacunados (A4) presentaron mayor cantidad de linfocitos en el duodeno y en el yeyuno por la exposición con las *Eimeria* spp. Estos pollos (sólo

vacunados) y los pollos no inoculados (testigo negativo) no presentaron lesiones en el intestino. No existe diferencia significativa entre los grupos en la cantidad de ooquistes liberados, incluidos los pollos vacunados + desafiados (A3) y los pollos vacunados + desafiados + tratados con toltrazuril (A1); por lo tanto, el toltrazuril, no interfirió en la inmunidad producida por la vacuna, lo que concuerda con los estudios hechos por Haberkom⁽⁶⁾ en pollos de 2-3 semanas de edad criados en batería con una infección mixta masiva por *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* principalmente y tratados con toltrazuril entre el día 1 y 6 post inoculación. También concuerda con lo hecho por Victoria⁽²⁸⁾ en parvadas vacunadas con Coccivac B[®] y tratadas con toltrazuril 10 días post inoculación y desafiados con *E. tenella*. Sin embargo, las aves tratadas con toltrazuril presentaron lesiones macroscópicas en menor cantidad que las aves que no fueron tratadas con toltrazuril como sugiere Vázquez⁽²⁹⁾ y lo encontrado por Ramadan⁽¹⁾ en pollos de engorda inoculados con *E. tenella* (15,000 oocistos) a los 21 días de edad y tratados con toltrazuril entre 5-6 días post inoculación.

A los 46 días de edad, los pollos de todos los grupos no presentaron lesiones macroscópicas y tuvieron similar cantidad de ooquistes excretados en las heces, lo que sugiere que el toltrazuril tuvo efecto antes de esta edad tanto en la cantidad de ooquistes liberados en las heces como en las lesiones macroscópicas entéricas ya que no se presentaron diferencias significativas con las aves no inoculadas (B3), excepto en los pollos que fueron desafiados (B2) por que aún no habían desarrollado inmunidad contra coccidias.

La cantidad de Eimerias en el intestino fue mínima, debido a que el ciclo de vida de *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* y *E. tenella* es de entre 4 y 5 días, y que el alojamiento de las aves fue en jaulas en batería y esto no permitió una reinfección en forma natural;

además, la toma de muestras se realizó 7 días después de la inoculación debido a que se evaluó el efecto del toltrazuril en la cantidad de pigmento en plasma y el número de ooquistes liberados en las heces semanalmente como se realiza comúnmente en evaluaciones de rutina en granjas comerciales.

Los resultados demuestran que el toltrazuril es eficaz en el control de CA y no interfiere con la inmunidad obtenida previamente en los pollos ya sea por vacunación o por un desafío, debido a que los pollos tratados con toltrazuril tuvieron menor cantidad de ooquistes liberados en las heces, menor cantidad de lesiones en el intestino 7 días post tratamiento y similar cantidad de linfocitos en el intestino a los 46 días de edad. Además el toltrazuril y la vacunación no afectaron el pigmento plasmático a los 45 días de edad.

LITERATURA CITADA

1. Ramadan, K, El-Sooud A, El-Bahy MM, Anticoccidial efficacy of toltrazuril and halofuginone against *Eimeria tenella* infection in broiler chickens in Egypt. Research in Veterinary Science 1997; 62:175-178.
2. Laczay P, Gabor V, Gabor S. Comparative studies on the efficacy of Sulphachlorpyrazine and Toltrazuril for the treatment of cecal coccidiosis in chickens. International Journal for Parasitology 1995; 25 (6): 753-756.
3. Vázquez MR. Uso de toltrazuril en reacciones postvacunales contra coccidia en reproductoras pesadas y pollo de engorda. Memorias de IV Seminario de Producción Animal y II Simposium Avícola. 1995; 28 al 30 de septiembre. Saltillo (Coahuila), México 1995:138-143.
4. Lechuga MML. Coccidiosis y Coccidiostatos. Avicultores y su Entorno. Diciembre 2000-Enero 2001:33-37.
5. Sumano LH. y Ocampo CL. Farmacología Veterinaria. Segunda Edición. México, D.F.; Mc Graw Hill, 1997.
6. Haberkorn A. y Stoltefuss J. Estudios sobre el espectro de actividad del toltrazuril, nuevo preparado anticoccidiósico. Not. Med. Vet. 1986:22-32.
7. Piracés SF, Cortés CR. Factores que afectan la pigmentación del pollo de carne. X Ciclo de conferencias Internacionales sobre la avicultura. AMENA 1991:103-127.
8. Lillehoj H.S. and Lillehoj E.P. Avian Coccidiosis. A review Acquired Intestinal Immunity and Vaccination Strategies. Avian Diseases 2000; 44: 408-425.

9. Allen CP. Physiological Responses of Chicken Tissue to Coccidial Infection: Comparative Effects of *Eimeria acervulina* and *Eimeria mitis* on Mucosal Mass, Carotenoid Content, and Brush Border Enzyme Activity. *Poultry Science* 1987;66:1306-1315.
10. McDougal RL and Reid MW. Coccidiosis In Diseases of Poultry. Edited by Calnek BW, Barnes HJ, Reid MW and Yoder HW: 9th ed. Iowa State University Press. Ames Iowa, 1991.
11. Tirado AFJ. Pigmentos y pigmentación. X Ciclo de conferencias Internacionales sobre Avicultura. AMENA 1991:181-196.
12. Viliesid AF, Nivón BC. Sobre la composición de los pigmentos naturales de uso avícola. Memorias de la XV Convención Nacional ANECA. Tomo II. Cancún (Quintana Roo), México 1990:119-128.
13. Chapman, HD. Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. *World's Poultry Science Journal* 2000; 56: 7-20.
14. Newman LJ. Vacuna contra la coccidiosis en pollo de engorda. Schering-Plough Animal Health / ASL. Acontecer Avícola. Septiembre-Octubre 2000; 18-25.
15. Rothwell L, Gramzinsky RA, Rose ME, Kaiser P. Avian coccidiosis: changes in intestinal lymphocyte populations associated with the development of immunity to *Eimeria maxima*. *Parasite Immunology* 1995;17:525-533.
16. Andrews EJ, Bennett BT, Clark JD, Houpt KA, Pascoe PJ, Robinson GW, Boyce JR. Report of the AVMA Panel on Euthanasia: American Veterinary Medical Association. *JAVMA* 1993; 202: 229 – 249.

17. Allen TC: Hematoxilina y Eosina. IN: Prophet EB, Millis B, Arrington JB, Sobin LH. Editores. Métodos histotecnológicos. Washington, D.C.: Instituto de Patología de las fuerzas armadas de los EUA, 1995.
18. Doxey DL. Patología Clínica y Procedimientos de Diagnóstico en Veterinaria. México D.F.: Manual Moderno, 1987.
19. Conway D, McKenzie M. Poultry Coccidiosis. Diagnostic and Testing Procedures. Second Edition. Pfizer Inc. July 1991.
20. Dawson SB., Trapp RG. Bioestadística Médica. México, D.F.- Santafé de Bogotá.: Manual Moderno, 1993.
21. Aceves AM. Cinética de la absorción, transporte y deposición de luteína en pollo de engorda. (tesis de Licenciatura). México (D.F.) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2002. En prensa.
22. Ruff MD. and Fuller HL. Some Mechanisms of Reduction of Carotenoid Levels in Chickens Infected with *Eimeria acervulina* or *E. tenella*. Journal Nutrition 1975; 105: 1447-1456.
23. Long LP. Coccidiosis of Man and Domestic Animals. Boca Raton, Florida, US. Ed. CRC Press, Inc. 1990.
24. Rebollo M., Trejo L., Greif G. Evaluation of anticoccidial immunity conferred by toltrazuril treatment after coccidia vaccine application. Animal Health. Bayer de México S.A. de C.V. Trial Report. January 11, 1999.
25. Riddell C. Avian Histopathology. Second edition. Published by American Association of Avian Pathologists, Inc. Saskatchewan, Canada. Printed by Rose Printing, Tallahassee, Florida: 1996.

26. Sosa JJ., Espinoza R., Rebollo MA. Efecto del Toltrazuril sobre la protección contra coccidiosis en gallinas reproductoras pesadas; prueba de campo. In Proceedings of the forty five Western Poultry Disease Conference. Cancún (Quintana Roo), México 1996: 438-440.
27. Idris BA., Bounous ID., Goodwin AM., Brown J., Krushinskie EA. Lack of correlation between microscopic lesion scores and gross lesion scores in commercially grown broilers examined for small intestinal *Eimeria* spp. coccidiosis. Avian Diseases 1997; 41:388-391.
28. Victoria G., Pavón E., Rebollo M., Torres de CA., Vázquez R. Efecto del Toltrazuril como tratamiento post vacunal de Coccidiosis aviar en el pollo de engorda en comparación con Amprolio, y su consecuencia sobre la inmunidad. In Proceedings of the forty five Western Poultry Disease Conference. Cancún (Quintana Roo), México 1996: 112-115.
29. Vázquez MR., Vázquez RF., y Padilla PM. Perfil y utilidad del nuevo anticoccidiano toltrazuril. Memorias de la XIII Convención Nacional ANECA. México 1989: 225-228.

CUADRO 1. EDAD EN DÍAS A LA VACUNACIÓN, DESAFÍO CON EIMERIAS Y EL TRATAMIENTO CON TOLTRAZURIL EN POLLO DE ENGORDA.

		<i>Edad (en días)</i>						
<i>Subgrupo</i>		<i>5</i> <i>(Vacunación 1)</i>	<i>10</i> <i>(Vacunación 2)</i>	<i>15</i> <i>(Vacunación 3)</i>	<i>20</i> <i>(Vacunación 4)</i>	<i>25</i> <i>(Desafío 1)</i>	<i>32-33</i> <i>(Toltrazuril)</i>	<i>39</i> <i>(Desafío 2)</i>
"A"	A1	1x [†]	2x	3x	4x	80x	1r [‡]	160x
	A2	1x	2x	3x	4x	80x		160x
	A3	1x	2x	3x	4x	80x		
	A4	1x	2x	3x	4x			
"B"	B1					80x	1r	160x
	B2							160x
	B3							

† Dosis 1 000 ooquistes = 50% *E. acervulina*, 11% *E. maxima*, 24% *E. tenella* y 15% *E. mivati*. (1x)

‡ 2 Dosis de 7 mg de toltrazuril /kg de peso corporal. (1r)

CUADRO 2. DENSIDADES OPTICAS DE PIGMENTO EN PLASMA.

Edad en días				
24	31	38	45	
A4 0.92 ^a ±0.22	A3 0.384 ^a ±0.14	A1 0.31 ^{ab} ±0.13	A1 0.162 ^a ±0.08	
		A3 0.257 ^a ±0.09	A2 0.182 ^a ±0.05	A3 0.130 ^a ±0.06
	A4 0.44 ^{ab} ±0.14	A4 0.242 ^a ±0.04	A4 0.154 ^a ±0.05	
B3 0.90 ^a ±0.30	B3 0.532 ^b ±0.16	B3 0.377 ^b ±0.136	B3 0.119 ^a ±0.05	
			B2 0.109 ^a ±0.08	
	B1 0.205 ^c ±0.15	B1 0.249 ^a ±0.117	B1 0.115 ^a ±0.03	

Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

CUADRO 3. NÚMERO DE OOQUISTES DE *EIMERIA* SPP. POR GRAMO DE HECES.

Edad en días				
25	32	39	46	
A4 510 ^a ±1009	A3 559 ^b ±1696	A1 2 ^a ±6.32	A1 0 ^b	
		A3 3 ^a ±9.79	A2 0 ^b	A3 56 ^b ±72.3
	A4 12 ^b ±16.87	A4 56 ^a ±177	A4 17 ^b ±21.4	
B3 0 ^b	B3 0 ^b	B3 0 ^a	B3 0 ^b	
			B2 4984 ^a ±7318	
	B1 10494 ^a ±13828	B1 6 ^a ±13.5	B1 6 ^b ±13.5	

Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

CUADRO 4. LESIONES ENTÉRICAS MACROSCÓPICAS.

	Duodeno	% *	Yeyuno	%	Ciego	%
25 días						
A4	0/6 (0)	0	0/6 (0)	0	0/6 (0)	0
B3	0/6 (0)	0	0/6 (0)	0	0/6 (0)	0
32 días						
A3	14/15(+1)	93	6/15(+1)	40	5/15(+1)	33
A4	3/5 (+2)	60	3/5 (+1)	60	1/5 (+1)	20
B3	0/10 (0)	0	0/10 (0)	0	0/10 (0)	0
B1	3/5 (+1)	60	4/5 (+1)	80	3/5 (+3)	60
39 días						
A1	0/5 (0)	0	3/5 (+1)	60	0/5 (0)	0
A3	2/10 (0)	20	3/10 (0)	30	4/10 (0)	40
A4	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0
B3	0/10 (0)	0	0/10 (0)	0	0/10 (0)	0
B1	2/5 (0)	40	5/5 (+1)	100	1/5 (0)	20
46 días						
A1	1/5 (0)	20	3/5 (+1)	60	0/5 (0)	0
A2	0/5 (0)	0	2/5 (0)	40	0/5 (0)	0
A3	2/5 (0)	40	2/5 (0)	40	0/5 (0)	0
A4	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0
B3	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0	0/5 (0)	0
B2	1/5 (0)	20	5/5 (+1)	100	3/5 (0)	60
B1	1/5 (0)	20	2/5 (0)	40	0/5 (0)	0

Moda de la evaluación por el método Johnson y Reid entre paréntesis. ()

* Porcentaje de pollos con lesiones macroscópicas.

CUADRO 5. PORCENTAJE DE CÉLULAS EXTRAEPITELIALES INFLAMATORIAS.

Cuadro 5.1 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el duodeno.

		Edad en días					
25		32		39		46	
A4	27.03 ^a ±18.45	A3	23.88 ^a ±8.3	A1	38.48 ^b ±15.64	A1	22.55 ^b ±10.23
				A3	28.07 ^c ±13.14	A2	49.12 ^a ±25.67
		A4	28.47 ^a ±14.77	A4	69.22 ^a ±14.25	A3	25.80 ^b ±13.6
B3	30.7 ^a ±19.28	B3	23.16 ^a ±16.66	B3	25.09 ^c ±8.79	B3	28.59 ^b ±19.12
				B2	31.30 ^b ±15.31		
		B1	30.18 ^a ±21.55	B1	41.90 ^b ±18.60	B1	30.33 ^b ±15.7

Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Cuadro 5.2 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el yeyuno.

		Edad en días					
25		32		39		46	
A4	25.45 ^a ±8.05	A3	30.38 ^a ±13.13	A1	26.40 ^{bc} ±14.3	A1	32.54 ^a ±22.89
				A3	21.43 ^c ±8.34	A2	25.57 ^a ±9.99
		A4	37.57 ^a ±25.79	A4	42.79 ^a ±25.33	A3	21.69 ^a ±11.01
B3	20.10 ^b ±4.84	B3	27.09 ^a ±13.41	B3	26.94 ^{bc} ±11.52	B3	21.02 ^a ±7.6
				B2	30.74 ^a ±13.93		
		B1	25.74 ^a ±13.17	B1	35.90 ^{ab} ±16.40	B1	24.80 ^a ±14.84

Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Cuadro 5.3 Porcentaje de células extraepiteliales inflamatorias en el ciego.

		Edad en días					
25		32		39		46	
A4	49.38 ^a ±19.62	A3	40.59 ^b ±13.89	A1	40.77 ^a ±21.63	A1	46.58 ^{ab} ±25.88
				A3	42.88 ^a ±14.43	A2	40.97 ^{bc} ±23.37
				A4	38.14 ^b ±17.96	A4	34.73 ^c ±21.71
B3	31.94 ^b ±10.96	B3	31.81 ^b ±11.94	B3	40.76 ^a ±13.19	B3	45.23 ^{abc} ±21.35
				B1	79.81 ^a ±18.62	B2	55.56 ^a ±20.37
				B1	37.68 ^a ±16.24	B1	42.10 ^{bc} ±16.17

Las diferentes literales en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

Figura**FIGURA 1. Diseño de grupos experimentales.**