

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDA  
TRATADOS CON INMUNOGLOBULINAS PARA LA  
PREVENCIÓN DE LA COCCIDIOSIS AVIAR.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO  
ZOOTECNISTA

PRESENTA

GABRIELA GUTIÉRREZ PÉREZ

Asesores:

MVZ. M. en C. Ernesto Ávila González

MVZ. M. en C. Daniel Marrufo Villa

Ciudad Universitaria, D. F.

Enero 2015.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## DEDICATORIA

A mi esposo: Jesús Munguía Rosas. Por tu invaluable apoyo y confianza, por tu amor incondicional, por tu paciencia ante mis arranques, por no hacerme desistir con este trabajo y por querer seguir volando en nuestro cielo. TE AMO.

A mis padres: Lucio Miguel Gutiérrez Gutiérrez e Isabel Pérez Torres. Por haberme criado con el más profundo amor y dedicación. Por mostrarme el camino de la vida y darme las herramientas necesarias para defenderme y ser una buena persona, sin ustedes no sería lo que soy ahora, LOS AMO.

A mi hermano: Rafael Gutiérrez Pérez. Por todas y cada una de tus palabras de aliento, por todas las risas y momentos felices que hemos pasado hasta ahora y por hacer que me esfuerce para ser un buen ejemplo para ti. TE AMO.

A la familia Pérez Torres: por ayudar a mi crecimiento y formación personal, por su amor y todos los momentos que me han dado.

A la familia Gutiérrez Gutiérrez: por ser parte de su clan y por las enseñanzas que he obtenido.

A la familia Munguía Rosas: por haberme adoptado y brindarme su cariño y paciencia.

A mis amigos de la FMVZ-UNAM: Maribel (Tía), Cinthya (Güera), Alejandro (Compadre) y Eunice (Nuez) porque compartimos grandes momentos y nunca dudaron de mis capacidades y siempre estuvieron (y están) para mí en todo momento.

A mis amigos de la vida: porque sin los momentos a su lado, no sabría lo que realmente significa estar en este planeta.

A mis amigos de IASA, por la infinidad de consejos, la paciencia y el tiempo que me han permitido pasar con ustedes.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por nunca haber soltado mi mano y por haberme permitido crecer rodeada de Él y descubrir día a día que la vida es un regalo maravilloso que debo disfrutar y seguir en Su camino.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y su Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme cobijado durante estos años de estudio y por haberme dado a los mejores amigos del mundo y a mi esposo, pero sobre todo, porque gracias a ella comprendí la importancia de ser una buena profesionista y el importante papel que tenemos que desempeñar en la sociedad para crear un mejor lugar para todos nosotros.

A mis asesores:

M. en C. Ernesto Ávila González. Por su apoyo y paciencia.

M. en C. Daniel Marrufo Villa. Por su apoyo, amistad y exigencia.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) por el apoyo recibido para la realización de este trabajo y por todos los consejos y excelentes momentos que pasamos:

- Dr. Arturo Cortés
- MVZ. Lázaro Herrera (Jefesito)
- MVZ. Jorge Miguel Iriarte (Yorch)
- MVZ. Badhí Morales Linares (B)
- MVZ. Elizabeth Posadas
- MVZ. Ezequiel Sánchez Ramírez
- MVZ. Alma Selene Vázquez Delgado (Alma Luna)
- A los chicos de Servicio Social: Rebe, Monse y Albino

A Investigación Aplicada S.A. de C.V. por la confianza que tuvieron en mí y por todo el conocimiento que han compartido conmigo:

- MVZ. Rodrigo Cascante Pérez.
- MVZ. Donají García López.
- MVZ. Alberto Guadarrama Jiménez.
- IBQ. Ruth Isabel Larios Castillejos.
- MVZ. Eduardo Lucio Decanini.
- MVZ. Marcela Grisell Nieto Olvera.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	1
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN .....	2
1.1. Importancia de la coccidiosis en el sector productivo. ....	2
1.2. Características de las coccidias que afectan al pollo de engorda.....	3
1.2.1. Etiología y taxonomía .....	3
1.2.2. Morfología.....	4
1.2.2.1. <i>Eimeria acervulina</i> . ....	4
1.2.2.2. <i>Eimeria maxima</i> . ....	5
1.2.2.3. <i>Eimeria tenella</i> .....	5
1.2.3. Ciclo evolutivo.....	5
1.2.4. Patogenia.....	7
1.2.5 Lesiones. ....	9
1.2.5.1. <i>Eimeria acervulina</i> . ....	9
1.2.5.2. <i>Eimeria maxima</i> . ....	10
1.2.5.3. <i>Eimeria tenella</i> . ....	11
1.3 Diagnóstico. ....	12

1.3.1. Parasitológico.....	12
1.3.2. Examen posmortem.....	13
1.3.3. Técnicas moleculares.....	14
1.4 Epidemiología y control de la coccidiosis aviar.....	15
1.4.1. Coccidiostatos.....	17
1.4.1.1. Ionóforos.....	18
1.4.1.2. Compuestos químicos-sintéticos (carbanilidas y triazinas).....	19
1.4.2. Vacunación.....	21
1.4.3 Inmunoterapia.....	23
1.4.3.1 Inmunoglobulinas Y.....	24
1.4.3.2 Uso de IgY para la inmunización pasiva.....	26
1.4.4. Sustancias de origen natural.....	27
1.4.4.1. Betaína.....	27
1.4.4.2. Aceites esenciales y hojas.....	28
1.5 Justificación.....	30
1.6 Hipótesis.....	31
1.7. Objetivo.....	31
CAPÍTULO 2: MATERIAL Y MÉTODOS.....	32
2.1 Tratamientos.....	33
2.2. Manejo de las inmunoglobulinas en premezcla.....	33

2.3 Manejo de las inmunoglobulinas líquidas. ....	34
2.4 Manejo de la betaína en premezcla. ....	34
2.5 Manejo de los coccidiostatos. ....	35
2.6 Manejo de la vacuna comercial.....	35
2.7 Dieta y fases de alimentación. ....	36
2.8 Manejo y alojamiento. ....	37
2.8.1 Alojamiento.....	37
2.8.2 Temperatura. ....	37
2.8.3 Equipo. ....	38
2.8.4 Medicina preventiva.....	38
2.9 Recolección y análisis de muestras. ....	39
2.9.1 Excretas.....	39
2.9.2 Lesiones intestinales. ....	39
2.10 Desafío.....	41
2.11 Medición de pigmento.....	41
2.12. Análisis estadístico. ....	41
2.13 Parámetros a evaluar.....	42
CAPÍTULO III. RESULTADOS .....	43
Peso corporal.....	43
Consumo de alimento.....	44

Conversión alimenticia.....	45
Mortalidad.....	46
Índice de productividad.....	47
Pigmentación de la piel.....	48
Conteo de ooquistes por gramo de heces (ophg).....	49
<i>Eimeria acervulina</i> (cuadro 9).....	49
<i>Eimeria maxima</i> (cuadro 10).....	50
<i>Eimeria tenella</i> (cuadro 11).....	51
Lesiones intestinales.....	52
<i>Eimeria acervulina</i> (cuadro 12).....	52
<i>Eimeria maxima</i> (cuadro 13).....	53
<i>Eimeria tenella</i> (cuadro 14).....	54
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN.....	55
Peso corporal.....	55
Consumo total de alimento.....	56
Conversión alimenticia.....	56
Porcentaje de mortalidad semanal y final.....	57
Índice de productividad.....	57
Pigmentación de la piel.....	58
Conteo de ooquistes por gramo de heces para <i>Eimeria acervulina</i> .....	58



Conteo de ooquistes por gramo de heces para <i>Eimeria maxima</i> . .....	59
Conteo de ooquistes por gramo de heces para <i>Eimeria tenella</i> . .....	59
Lesiones intestinales provocadas por <i>Eimeria acervulina</i> .....	60
Lesiones intestinales provocadas por <i>Eimeria maxima</i> . .....	61
Lesiones intestinales provocadas por <i>Eimeria tenella</i> . .....	62
CAPÍTULO 5: CONCLUSIÓN .....	63
ÍNDICE DE IMÁGENES Y CUADROS.....	64
LITERATURA CITADA.....	65

## RESUMEN

**GUTIÉRREZ PÉREZ GABRIELA.** Comportamiento productivo de pollos de engorda tratados con Inmunoglobulinas para la prevención de la coccidiosis aviar (bajo la dirección de M.V.Z., M.Sc. Ernesto Ávila González y M.V.Z., M.C. Daniel Marrufo Villa).

El objetivo del presente trabajo fue la evaluación del nivel de protección ante un desafío contra coccidiosis aviar así como el comportamiento productivo de pollos de engorda que reciben en la dieta inmunoglobulinas y betaína en premezcla, e inmunoglobulinas en premezcla y en agua de bebida en comparación con un calendario tradicional con coccidiostato y una vacuna comercial contra la coccidiosis.

Después de llevar a cabo el diseño experimental, se concluyó que el uso de inmunoglobulinas en premezcla y en presentación líquida, así como el uso de inmunoglobulinas con betaína en la dieta, no tuvo la capacidad de controlar la presentación de la enfermedad -eliminación de ooquistes y desarrollo de lesiones- bajo condiciones experimentales en pollo de engorda, sin embargo, dicho programa tuvo un impacto positivo en los parámetros productivos –mayor ganancia de peso corporal, disminución en el índice de conversión, así como excelentes índices de productividad-.

# **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**

## **1.1. Importancia de la coccidiosis en el sector productivo.**

La industria avícola durante su desarrollo ha tenido que hacer frente a una serie de inconvenientes que le han provocado y siguen produciendo grandes pérdidas económicas. Uno de estos inconvenientes son las enfermedades, dentro de las cuales los avicultores reconocen a las parasitarias como una de las que más pérdidas producen. Dentro de estas se encuentra la coccidiosis. <sup>1</sup>

En años recientes, la crianza avícola intensiva ha permitido un incremento en el estrés animal y en la incidencia de enfermedades. Las infecciones intestinales, como la coccidiosis, salmonelosis y criptosporidiosis se han vuelto altamente prevalentes en la cría comercial de pollos y causan severas pérdidas económicas en la industria avícola. <sup>2</sup>

La coccidiosis aviar se caracteriza clínicamente por ocasionar diarrea, afectar la digestión, propiciar menor ganancia de peso, mala conversión alimenticia y reducción de la pigmentación cutánea, lo que obliga a la incorporación de grandes dosis de pigmento en el alimento, aumento en los días de permanencia de la parvada en la caseta e incrementa sustancialmente el costo de la producción<sup>3</sup>, sin mencionar los gastos por medicación.

El costo anual de la coccidiosis para la avicultura mundial se estima en 2.4 billones de dólares, de los cuales el 76% representan las pérdidas por incumplimiento de

los parámetros y el 24% por costos de medicación.<sup>4</sup> Actualmente, la quimioterapia se usa en extenso para controlar la coccidiosis, pero la resistencia de las cepas de campo demanda el desarrollo de métodos alternativos para controlar esta enfermedad. Las estrategias moleculares e inmunológicas para su control parecen ser aptas para lograr este objetivo.<sup>2</sup>

## **1.2. Características de las coccidias que afectan al pollo de engorda.**

La coccidiosis aviar es una enfermedad causada por protozoarios del género *Eimeria* que afecta el intestino de las aves, ocasiona daño tisular y predispone a otras enfermedades.<sup>5</sup>

Afecta generalmente a animales jóvenes entre las primeras tres y seis semanas de vida.<sup>6</sup>

### **1.2.1. Etiología y taxonomía**

Las coccidias que afectan a las aves pertenecen a la siguiente clasificación:

Phylum: *Protozoa*

Subphylum II: *Sporozoa*

Clase I: *Telesporea*

Subclase II: *Coccidia*

Orden: *Eucoccida*

Suborden: *Eimeriina*

Familia: Eimeriidae.

Género: *Eimeria*.

Especie(s): *Eimeria acervulina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria hagani*, *Eimeria mitis*, *Eimeria mivati*, *Eimeria maxima*, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox* y *Eimeria tenella*.<sup>7</sup>

Cada una de estas especies parasita una región particular del intestino.<sup>5</sup> Entre las especies de *Eimeria* se describen cinco patógenas: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix* y *E. tenella* ya que éstas provocan manifestaciones clínicas.<sup>8</sup> Las especies de mayor relevancia en el pollo de engorda son *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella*.

## **1.2.2. Morfología.**

### **1.2.2.1. *Eimeria acervulina*.**

Los ooquistes de *Eimeria acervulina* tienen forma ovoide, son de pared lisa, miden de 17-22 por 13-17 micras y son incoloros.<sup>9,10</sup>

Comúnmente, *E. acervulina* invade el asa duodenal del intestino y en infecciones graves puede extenderse hacia el yeyuno e inclusive al íleon.<sup>11</sup>

*E. acervulina* es la responsable de la disminución de la absorción de zinc, ácido oleico, metionina, histidina, calcio, glucosa y xantofilas, de ahí la importancia que tiene en cuanto al impacto sobre la pigmentación.<sup>12</sup>

#### **1.2.2.2. *Eimeria maxima*.**

Los ooquistes tienen forma ovoide, son relativamente grandes, de pared gruesa lisa o algunas veces rugosa y son amarillentos; miden 26-49 por 22-31 micras.<sup>9,10</sup>

El daño por la infección con *E. maxima* se localiza a la mitad del área intestinal, en el yeyuno, pero en infecciones graves las lesiones pueden extenderse desde el duodeno hasta la unión ileo cecal.<sup>11</sup>

#### **1.2.2.3. *Eimeria tenella***

Los ooquistes son casi esféricos, raramente ovoides, además son amarillentos o incoloros; miden 18-26 por 16-22 micras.<sup>9,10</sup>

Las lesiones causadas por *E. tenella* se localizan en ambos sacos ciegos y se caracterizan por producir la llamada coccidiosis hemorrágica.<sup>11</sup>

#### **1.2.3. Ciclo evolutivo.**

Las coccidias son parásitos de ciclo directo y la transmisión se realiza por el suelo, por medio de alimentos contaminados y fómites.

El ciclo de vida de las coccidias se conoce desde hace muchas décadas, pero algunos detalles son mejor conocidos ahora. Este es muy productivo, corto, directo, y complejo. El ciclo de vida de este parásito dura de 4 a 7 días según la especie y se lleva a cabo en tres fases.<sup>13,7</sup>

*Esporogonia:* marca el inicio de la infección, los ooquistes maduros se transformarán a ooquistes esporulados en un periodo de 12 a 30 horas según la especie, continúa después la ingestión del ooquiste en fase infectante por parte del ave, el cual es un cigoto ovoide con 4 esporocistos, estos a la vez con 2 esporozoitos cada uno, liberándose en el lumen intestinal por efecto de las enzimas digestivas y movimientos de maceración de la molleja, penetrando a los enterocitos de la cúpula de las vellosidades, muchos esporozoitos invaden linfocitos intraepiteliales y son transportados a los enterocitos de las criptas formando los trofozoitos.<sup>14</sup>

*Esquizogonia:* que es donde se llevará a cabo la reproducción asexual del parásito y forman la primera generación de esquizontes<sup>15</sup> que al madurar, estallan y liberan cientos de merozoitos (1° generación); los cuales penetran a una nueva célula y repiten la reproducción asexual una o dos veces más según la especie, algunos merozoitos desarrollan para formar una nueva o más generaciones de esquizontes, según la patogenicidad de la cepa y especie de *Eimeria* de que se trate, muchos de ellos penetran células epiteliales y realizan la fase de reproducción sexual.<sup>16</sup>

*Gametogonia*: es la última generación de merozoitos los cuales penetran a otras células intestinales para dar lugar a la fase sexual, formándose microgametos y macrogametos; donde los microgametos salen de la célula que parasitan para fertilizar al macrogameto y así formar el ooquiste de pared gruesa, que bajo cierto estado de maduración se libera de la célula que parasita hacia la luz intestinal, eliminándose por las heces como ooquiste no esporulado, iniciándose nuevamente la fase de esporogonia.<sup>17</sup>

#### **1.2.4. Patogenia.**

La mayoría de los parásitos entéricos incluyendo a las coccidias, invaden la mucosa intestinal e inducen determinados grados de daño en las células epiteliales.

El daño causado por una misma coccidia difiere con la edad, raza, estado nutricional y estado fisiológico del huésped; también es importante considerar la localización tisular del daño y el estado inmunitario del ave.

Existen otros factores que pueden incrementar la severidad de la infección, como la presencia de micotoxinas en el alimento, ya que la micotoxicosis es un factor que inmunodeprime al ave y le impide reaccionar de modo adecuado frente a cualquier patología, así como la estación del año sobre todo, la época de lluvias ya que la humedad relativa aumenta y esto es un factor determinante para la esporulación de los ooquistes.



La coccidiosis produce cambios fisiológicos en el huésped debido a las lesiones intestinales ya que disminuyen la capacidad de absorción de nutrientes; las lesiones varían según la intensidad de la infección y la especie predominante.

Las alteraciones fisiológicas y bioquímicas se generan a partir de alteraciones digestivas que explican el desarrollo de los mecanismos mencionados a continuación:

*Deterioro de la digestión o ingesta:* anorexia dentro de los primeros cuatro a seis días postinfección, lo que se refleja en la disminución de la ganancia de peso.<sup>18</sup>

*Aumento de la motilidad intestinal:* se debe a varios factores, como lo son la disminución del pH, pérdida de la integridad intestinal y la presencia de células inflamatorias que tienen como consecuencia el aumento de la velocidad de paso del contenido intestinal, lo que disminuye la absorción de nutrientes y altera la eficiencia alimenticia.

*Aumento de la permeabilidad de la pared intestinal:* provoca disminución en la absorción de fluidos, lo que produce debilidad y deshidratación por la pérdida de proteínas plasmáticas, agua y electrolitos.

*Variaciones en el pH intestinal:* provoca alteración en la degradación de proteínas alimenticias, en la acción enzimática y desequilibrio en la flora intestinal, provocando que ésta disminuya y que el intestino quede susceptible a otros patógenos.<sup>18</sup>

La coccidiosis aviar puede manifestarse de dos formas: clínica y subclínica. La presentación subclínica o coccidiasis es provocada por la ingestión de una dosis baja de ooquistes esporulados o bien, por la ingestión de ooquistes de especies que no provocan signología clínica, como *E. mitis* o *E. praecox*. La importancia de esta presentación radica en que a pesar de no haber signos clínicos, hay disminución en la ganancia de peso y en la eficiencia alimenticia, lo que representa pérdidas económicas.<sup>19</sup>

Por el contrario, en la presentación clínica o coccidiosis están presentes otros factores, como la especie de *Eimeria* que esté involucrada, pues cada una afecta diferentes porciones del intestino. Las especies que producen coccidiosis clínica son: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix* y *E. tenella*.<sup>7</sup> La edad de las aves, manejo y la época del año también son otros factores a considerar.

### **1.2.5 Lesiones.**

Las lesiones al igual que los signos, varían de acuerdo a la especie presente, así como al grado de infección y al estado nutricional, fisiológico e inmunológico del ave. Las lesiones más características de cada una de las especies del género *Eimeria* que afectan a los pollos de engorda se describen a continuación.

#### **1.2.5.1. *Eimeria acervulina*.**

Las lesiones ocasionadas por esta especie consisten en puntos blancos sobre la mucosa en el primer tercio del intestino delgado (duodeno), que corresponden a nidos de esquizontes y que se aprecian a simple vista a través de la serosa y en

casos más severos, confluyen formando bandas transversales que en cantidad abundante dan la apariencia de escalera. Por lo general las lesiones se localizan en el duodeno, pero en ocasiones se pueden extender hasta el yeyuno. El contenido intestinal puede ser acuoso y la mucosa intestinal, en casos severos, puede estar adelgazada.<sup>19,11</sup>

Microscópicamente, se observa ruptura del extremo apical de las vellosidades intestinales, fusión de éstas y engrosamiento de la mucosa.<sup>20</sup>

#### **1.2.5.2. *Eimeria maxima*.**

Las lesiones se localizan principalmente en la parte media del intestino delgado (yeyuno e íleon). Esta especie se asocia a la presencia de líquido amarillento o naranja en cantidad abundante en la luz intestinal. Este material contiene moco, células de descamación y pigmento. El color amarillo a anaranjado sugiere falta de absorción y permanencia del pigmento en la luz del intestino debido a un aumento en la producción de moco como secuela de la lesión causada por el parásito.<sup>19,11</sup>

Histopatológicamente, se observa congestión, edema, infiltrado celular, aumento del número de células caliciformes, hiperplasia y necrosis del epitelio; en algunas ocasiones pueden observarse hemorragias en la porción apical de las vellosidades y ruptura con descamación de la mucosa.<sup>20</sup>

### 1.2.5.3. *Eimeria tenella*.

Esta especie afecta los sacos ciegos y las lesiones que se observan corresponden a hemorragias petequiales en la mucosa, exudado sanguinolento en cantidad abundante, con ciegos pletóricos como resultado de la ruptura de glándulas cecales y destrucción de la mucosa y de su capa muscular. En casos crónicos el contenido cecal se deshidrata, endurece y forma un exudado caseoso que comúnmente se excreta en las heces mientras que la mucosa se recupera.<sup>20,11</sup>

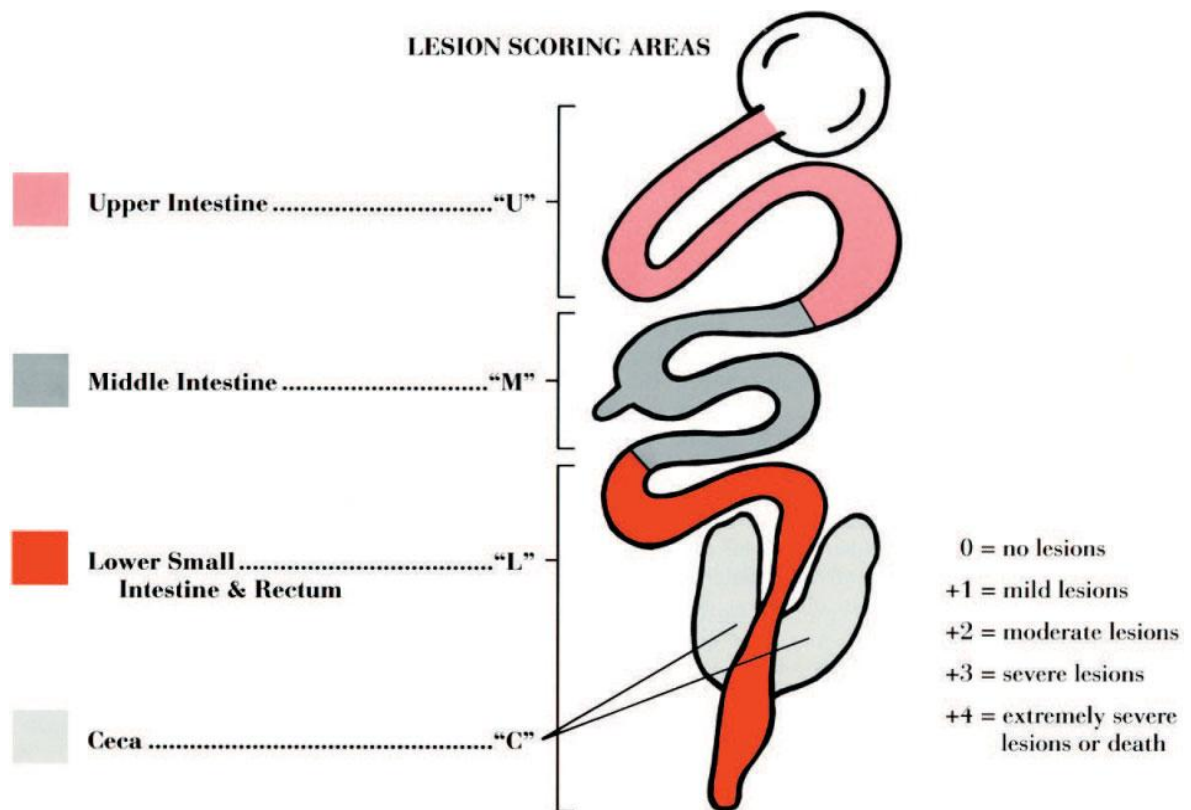


Imagen 1. Áreas para el puntaje de lesiones

### **1.3 Diagnóstico.**

Para el diagnóstico de la coccidiosis, debe considerarse la historia clínica, los parámetros productivos, la signología, las lesiones a la necropsia y la histopatología.

#### **1.3.1. Parasitológico.**

Las muestras de heces diluidas en dicromato de potasio en una solución del 2-4% se pueden conservar por periodos prolongados, al igual que muestras de cama y contenido intestinal para el aislamiento e identificación de coccidias.<sup>21</sup>

Para la técnica coproparasitoscópica se emplean procedimientos de flotación ya sea en su forma cuantitativa o cualitativa. La técnica de Mc Master utiliza cámaras de conteo que posibilitan el examen microscópico de un volumen conocido de suspensión fecal. Por lo tanto, si se usa un peso de heces y un volumen de líquido de flotación conocidos para preparar la suspensión, entonces el número de ooquistes por gramo de heces (o.p.g.) puede ser calculado.<sup>22</sup>

En lo referente a técnicas cualitativas, se puede hacer un frotis de la mucosa intestinal, el cual consiste en realizar varios raspados a la mucosa en cada uno de los segmentos del intestino; posterior a esto, se coloca una muestra por sección del intestino diluida en agua en una laminilla y se observa al microscopio.<sup>20</sup>

Este método es el elegido para el diagnóstico de la coccidiosis subclínica ya que posee una gran eficiencia por su sensibilidad y especificidad; además permite

detectar formas de desarrollo y oquistes y, así, ratificar o descartar lesiones intestinales.<sup>23</sup>

### **1.3.2. Examen posmortem.**

La necropsia constituye el conjunto de procedimientos que se realizan en el cadáver que permiten evaluar principalmente las alteraciones morfológicas que ocurren en el ave y que son producto de la enfermedad.<sup>24</sup>

Se han desarrollado varias técnicas para el examen posmortem. Los procedimientos básicos de dichas técnicas son los siguientes:

- Colocar al ave en decúbito dorsal y cortar la piel que se encuentra entre las piernas a lo largo del abdomen.
- Desarticulación de las piernas a nivel del acetábulo.
- Desprendimiento de la piel desde el abdomen hasta el pico.
- Remoción de la pechuga cuidando de no dañar ninguno de los órganos ni los vasos de la cavidad.
- Finalmente, se exponen todos los órganos de la cavidad.<sup>25</sup>

Una vez realizados estos procedimientos, el intestino debe liberarse del mesenterio en toda su longitud. La superficie serosa del intestino debe ser examinada bajo luz intensa con la finalidad de encontrar lesiones en forma de puntilleo.

Dichas lesiones pueden variar en color ya que pueden ir del rojo brillante, al café o incluso blanco. Las placas blanquecinas pueden corresponder a nidos de esquizontes en la mitad superior del intestino. Las placas escalonadas o transversales son características del desarrollo de ooquistes de *E. acervulina*. Debe hacerse una inspección para encontrar petequias y la inflamación y abalonamiento característico de *E. maxima*.

Cuando el intestino se incide, debe examinarse la pared para identificar zonas de engrosamiento, petequias, necrosis coagulativa (aunque las lesiones antes mencionadas son más frecuentes en la porción baja del intestino y el recto en infecciones por *E. brunetti*); enrojecimiento, puntos blanquecinos y hemorragias.<sup>11</sup>

### **1.3.3. Técnicas moleculares.**

El diagnóstico y la caracterización genética de las diferentes especies de *Eimeria* son fundamentales para la prevención, vigilancia y control de la coccidiosis, particularmente ahora que los problemas de resistencia a los coccidiostatos están ampliamente distribuidos, así como los problemas de efecto residual de estos compuestos. Mientras que los métodos tradicionales han tenido limitaciones mayores en el diagnóstico específico de la coccidiosis, se han dado avances significativos en el desarrollo de herramientas para el diagnóstico molecular.<sup>26</sup>

Resulta difícil distinguir morfológicamente los ooquistes de algunas de las siete especies reconocidas de *Eimeria*, por lo que los laboratorios de diagnóstico han incrementado el uso de tecnologías basadas en ADN para la identificación

específica de *Eimeria*. El PCR en tiempo real provee tanto sensibilidad como rapidez para el análisis de muestras de ADN, además de que este método tiene la capacidad de cuantificar las moléculas.<sup>27</sup>

En conjunto con protocolos de extracción de ADN directamente de muestras fecales, los ensayos de PCR en tiempo real se han establecido para la detección y cuantificación de siete especies de *Eimeria* que afectan a los pollos. En una prueba de monitoreo en parvadas comerciales se identificaron más pollos infectados que los que se detectaron por exámenes coproparasitológicos. Estos ensayos moleculares también pueden ser utilizados para el control de calidad en vacunas con especies mixtas.<sup>27</sup>

#### **1.4 Epidemiología y control de la coccidiosis aviar.**

La coccidiosis aviar es una enfermedad de distribución mundial, que se ve favorecida por condiciones inadecuadas de alojamiento como hacinamiento, camas húmedas y mala ventilación. Esta enfermedad puede restringir de forma severa el desarrollo de las aves ya sea en condiciones de granja habituales o en instalaciones más modernas.<sup>11</sup>

Dentro de los factores que predisponen a esta enfermedad se pueden mencionar los siguientes:

- Especie de *Eimeria* involucrada.
- Edad de las aves.
- Dosis infectiva.



- Función zootécnica.
- Tiempo de exposición.
- Grado de inmunidad específica.
- Factores inmunodepresores.
- Tipo de cama.
- Ventilación.
- Condiciones del equipo.
- Densidad de población.
- Época del año y ubicación de la granja.
- Suministro de productos anticoccidiales: ausencia, fallas en la dosificación y resistencia.

Durante más de 50 años la coccidiosis aviar ha sido controlada mediante la administración de coccidiostatos que dicho sea de paso, ha permitido un rápido incremento en la producción de aves para consumo. A pesar de las ventajas que brindan estas drogas en el control de la coccidiosis no están exentas de la resistencia que estos parásitos desarrollan a las mismas, lo que obliga a la búsqueda constante de nuevas drogas que presenten un buen efecto y que económicamente sea posible su utilización.<sup>28</sup>

Este panorama ha estimulado el desarrollo de fármacos antiparasitarios, lo que en teoría debería inclinar la balanza hacia una mayor producción, una menor pérdida

económica, la optimización de la producción, la contribución benéfica en la salud pública y la contención de posibles zoonosis.<sup>29</sup>

Los países pobres buscan la forma de producir carne a bajo costo para satisfacer las necesidades alimenticias de su población, sin embargo, en los países ricos la preocupación es otra.

En los países desarrollados existe una creciente preocupación sobre los efectos secundarios de los productos químicos y farmacológicos utilizados en la producción de alimentos. La demanda de carne de animales alimentados sin productos farmacológicos ha obligado a la Unión Europea a considerar el cambio de denominación de los coccidiostatos. Dicha resolución No. 1831/2003 establece que a partir del 31 de enero de 2012 todos los coccidiostatos serán considerados como medicamentos y por lo tanto no se podrán utilizar como aditivos en el alimento balanceado de las aves.<sup>30</sup>

Es por esto que resulta de interés desarrollar estrategias alternas para el control de la coccidiosis.<sup>31</sup>

#### **1.4.1. Coccidiostatos.**

En los sistemas de producción comercial, la coccidiosis es controlada en su mayoría con el uso de coccidiostatos en el alimento.<sup>32, 33</sup> Por lo que desde que la sulfonamida fuera usada para controlar la coccidiosis en la década de los 40, han surgido más de treinta drogas.<sup>34</sup> Estos coccidiostatos se utilizan ampliamente en las granjas avícolas, proporcionando excelentes parámetros de desarrollo para la

avicultura. El tratamiento y prevención de la coccidiosis aviar recae en la disponibilidad y uso efectivo de los coccidiostatos, por lo que éstos últimos juegan un papel importante en la prevención de la enfermedad.<sup>35</sup>

#### **1.4.1.1. Ionóforos.**

Son fármacos utilizados como antiparasitarios con acción protozoacida y algunos son útiles como promotores del crecimiento. Se obtienen a partir de la fermentación de *Streptomyces sp.* Lo que además le confiere una propiedad antibiótica. Algunos de ellos son: monensina, maduramicina, naracina, salinomycin y lasalocida.

Los ionóforos actúan en las primeras fases del ciclo evolutivo de la coccidia, permitiendo que alguno continúe su ciclo, provocando un pequeño nivel de lesiones para que se eliminen ooquistes en el intestino.<sup>36</sup>

##### *Mecanismo de acción.*

Alteran la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo, lo que facilita el flujo de cationes hacia el interior de la célula, provocando un desbalance electrolítico, elevando el K<sup>+</sup> extracelular y el Ca<sup>2+</sup> intracelular; este efecto obliga al microorganismo a consumir grandes cantidades de energía para corregir el desequilibrio, provocando su muerte. Por otro lado, estimulan la glucólisis y, por lo tanto agotan las reservas energéticas del parásito.<sup>29</sup>

#### **1.4.1.2. Compuestos químicos-sintéticos (carbanilidas y triazinas).**

La coccidiosis se comenzó a controlar con productos químicos en la década de los 50; estos compuestos que se obtienen por síntesis, se han empleado de formas diferentes; al principio en programas únicos con rotaciones y posteriormente en combinación con otros coccidiostatos químicos o ionóforos, una vez que al utilizarlos como productos únicos, comenzaron los problemas de resistencia.

Estos compuestos tienen actividad coccidicida y coccidiostática, lo cual depende del químico que se utilice y la especie de coccidia predominante. Actúan en las primeras fases del ciclo evolutivo del parásito y al tener efecto coccidicida permiten la formación de muy pocas lesiones intestinales, además de disminuir el nivel de desafío al tener una potente eficacia.<sup>36</sup>

Sin embargo, dadas las características anteriormente planteadas, este grupo de compuestos ejercen una fuerte presión selectiva sobre la población de coccidias, promoviendo la proliferación de cepas resistentes, lo que limita la respuesta inmunitaria de las aves ante un desafío.

Algunos de estos compuestos son: amprolio, etopabato, robenidina, clopidol, quinolonas, sulfonamidas, nicarbazina, toltrazuril y diclazuril.

La nicarbazina -que es una carbanilida- salió al mercado como el primer anticoccidial de amplio espectro<sup>29</sup> si bien su mecanismo de acción no se conoce por completo, se piensa que inhibe la reducción de Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD) ligado a succinato y de la transhidrogenasa dependiente de

energía. La nicarbazina es tóxica para las gallinas ponedoras: causa manchas en las yemas, la producción se ve disminuida y en el caso del huevo rojo, éste se torna pálido.

Una característica importante es que carecen de efectos secundarios sobre el emplume, no deprimen el consumo de alimento y no es preciso tomar ninguna medida especial en formulación para su empleo.<sup>36</sup>

Las triazinas se utilizan en la prevención y el tratamiento de la coccidiosis en aves; cuando las cepas de coccidias no han sido expuestas al fármaco, el efecto es excelente. Algunos ejemplos son: toltrazuril y diclazuril.

#### *Mecanismo de acción.*

Su efecto radica en que inhiben la división nuclear de los esquizontes y microgametos. Actúa sobre el desarrollo a nivel intracelular en las fases asexual y sexual del ciclo. Por su efecto, se puede usar como terapéutico y como profiláctico.

Los coccidicidas se pueden administrar solamente en ciertas concentraciones en las dietas durante un periodo de tiempo específico y a menudo se deben retirar del alimento un tiempo antes del sacrificio.<sup>29</sup>

Es importante considerar que el uso de estos compuestos debe estar limitado a ciertos periodos de tiempo, ya que su extenso uso durante los últimos cincuenta años ha resultado en el desarrollo de resistencia por parte de los protozoarios del

género *Eimeria* sp. Lo que ha contribuido a reducir su eficacia para controlar la coccidiosis aviar.<sup>37, 38, 39, 40</sup>

### **1.4.2. Vacunación.**

Desde que el profesor Pincus Philip Levine demostró la actividad anticoccidial de la sulfanilamida en 1939, todos los avances en investigación se centraron en la quimioterapia anticoccidial, sin embargo, en 1940, Edgar comenzó a formular la idea de una vacuna comercial.<sup>41</sup> Para la década de 1950 y gracias a los trabajos de Johnson, Tyzzer, Becker, Mayhew, Dickinson, Farr y Edgar ya era ampliamente reconocido el hecho de que la inmunidad era estimulada de forma efectiva por una serie de reinfecciones a partir de pequeñas dosis de ooquistes.

Sin embargo, el mayor problema era el desarrollo de un método controlado para administrar los ooquistes, sin el riesgo de que ocurriera la manifestación clínica de la enfermedad mientras se adquiría inmunidad.<sup>41</sup> Conforme la investigación al respecto fue avanzando, se logró el cometido y ahora se cuenta con vacunas atenuadas para la prevención de la coccidiosis aviar.

La vacunación con parásito vivo atenuado es una alternativa a los coccidiostatos como método para controlar la enfermedad.<sup>42</sup> Sin embargo, no es fácil hacer vacunas atenuadas con todas las especies de *Eimeria* patógenas, ya que los ciclos son diferentes y la inmunidad se produce en la mayoría de los casos durante los primeros días del ciclo durante la fase asexual y en otras –como en el caso de *E. tenella*– durante las dos primeras generaciones de esquizontes.<sup>36</sup>

Sin embargo y siguiendo la premisa inicial de que pequeñas dosis de ooquistes provocan inmunidad en el huésped, los procedimientos de vacunación a nivel comercial han mostrado una efectividad limitada y el control de la enfermedad parece que seguirá siendo mediante el uso de drogas anticoccidiales.<sup>43, 44</sup> Ya que la efectividad de dichas vacunas está limitada por la falta de protección cruzada frente a otras especies de *Eimeria* y por la aparición constante de nuevas variaciones antigénicas.<sup>42</sup>

Las diferentes vacunas registradas en el mercado se diferencian por el nivel y alternativas de atenuación de los ooquistes y, además, por las especies de *Eimeria* que contienen.

En las vacunas con cepas vivas virulentas con diferentes variantes según los tipos de cepas y las características de aplicación, su principal desventaja es el riesgo de introducir especies de exóticas. La baja generación de inmunidad por parte de *E. tenella*, junto con la alta variabilidad inmunogénica por parte de diferentes cepas de *E. maxima* y *E. acervulina*, aisladas de distintos sitios geográficos, indican que la vacunación con ooquistes vivos de un solo tipo no siempre es efectiva para proteger contra cepas de campo de diferentes sitios geográficos.

Para conocer la eficacia de las vacunas, los inmunógenos anticoccidiales se han evaluado ampliamente con el objetivo de determinar las diferencias antigénicas de las coccidias aisladas de campo y los ooquistes de las vacunas empleadas, con énfasis especial en las cepas de *E. maxima* y *E. tenella*. A su vez, se debe

considerar otro aspecto fundamental para la evaluación de la efectividad de las vacunas coccidianas, que es la viabilidad de los oocistos.

Así mismo, resultaría benéfico que además de medir la ganancia de peso, se considere la posibilidad de medir la velocidad de tránsito gástrico y el porcentaje relativo de la especie de *Eimeria* presente en las heces después del desafío. Lo anterior permitiría tener un criterio único y útil para hacer comparativos de protección entre aislamientos de campo de *Eimeria spp.* y los inmunógenos anticoccidiales del futuro.

### **1.4.3 Inmunoterapia.**

Por más de cincuenta años, se han utilizado antibióticos como promotores de crecimiento (a dosis sub terapéuticas), como preventivos (a dosis profilácticas) y para el tratamiento de enfermedades.<sup>45</sup> Sin embargo, el uso y sub uso de estas sustancias en el alimento de los animales ha causado problemas de residuos en los productos animales, sin mencionar el incremento en la resistencia bacteriana y parasitaria.<sup>46</sup> Como resultado de esto, el uso sub terapéutico de antibióticos ha sido totalmente prohibido en los países europeos desde 2006.<sup>47</sup> Mientras que otros países están considerando seriamente hacer la misma prohibición. Es por esto que se requieren urgentemente alternativas al uso de los antibióticos.

Se han probado una amplia gama de productos que puedan suplir el uso de antibióticos: ácidos orgánicos e inorgánicos<sup>48</sup>, oligosacáridos<sup>49, 50</sup> extractos herbales<sup>51</sup> y anticuerpos.<sup>52</sup> Respecto a esto, la inmunoterapia oral (inmunización



pasiva) con anticuerpos es una alternativa atractiva y efectiva debido a su alta especificidad.<sup>53</sup> La administración oral de anticuerpos derivados de suero de mamíferos y de calostro e incluso los anticuerpos monoclonales se ha utilizado exitosamente.<sup>54</sup> Sin embargo, esta técnica resulta demasiado costosa ya que se requieren grandes cantidades de anticuerpos para prevenir y tratar las enfermedades.

#### **1.4.3.1 Inmunoglobulinas Y.**

Recientemente, las inmunoglobulinas obtenidas a partir de yema de huevo, referidas como IgY han llamado la atención como un medio para la prevención y el control de enfermedades ya que poseen muchas ventajas sobre las IgG de origen mamífero, ventajas que incluyen relación costo-beneficio, comodidad y alto rendimiento para su producción<sup>55</sup> ya que no se requieren grandes cantidades de animales para producir una cantidad considerable de inmunoglobulinas, como resulta en el caso de los mamíferos. Además, de las implicaciones de bienestar animal aplicables hoy en día pues mediante los métodos tradicionales para la obtención de los anticuerpos se produce estrés en los animales de laboratorio.<sup>56</sup>

La inmunoglobulina IgY es el anticuerpo que se produce en mayor cantidad en las aves. Después de su diferenciación en las células B, las IgY son sintetizadas continuamente, secretadas en sangre y transferidas a la yema de huevo que es donde se almacenan. Las IgY son producidas por las gallinas para transferirlas a su progenie y proveerla de una buena inmunidad humoral contra los antígenos

aviares más comunes hasta que el sistema inmune de los pollitos esté completamente maduro.<sup>57</sup>

En 1893, Klemperer fue el primero en demostrar que la inmunización de gallinas resultaba en la transferencia de anticuerpos específicos desde el suero hacia la yema. Por más de cien años, no hubo aplicación científica de este conocimiento. Pero cuando el bienestar animal cobró importancia a principios de la década de 1980, los resultados de Klemperer atrajeron la atención.<sup>56</sup>

En el sentido del bienestar animal, el uso de gallinas de postura para la producción de anticuerpos representa refinamiento y reducción en el uso de animales. Se torna refinado en el aspecto de que en vez de sangrar y provocar dolor, únicamente se recolectan huevos. También implica la reducción en el uso de animales pues la producción de anticuerpos con aves de postura es dieciocho veces más alta que en conejos.<sup>58</sup>

Adicionalmente y gracias a la alta concentración de anticuerpos en la yema, se pueden obtener más de 100 mg. de anticuerpos a partir de un solo huevo.<sup>59</sup> Una gallina produce aproximadamente veinte huevos por mes, por lo tanto, se pueden obtener 2 g. de anticuerpos al mes a partir de esa misma gallina.<sup>56</sup>

La administración oral de IgY ha mostrado ser efectiva contra una gran variedad de patógenos intestinales, como rotavirus humano y bovino, *Escherichia coli* enterotoxigénica, coronavirus bovino, *Salmonella sp.*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia ruckeri*, *Staphylococcus sp* y *Pseudomonas sp.*<sup>60</sup>

Las casi extremas propiedades de los anticuerpos para reconocer pequeñas estructuras específicas en otras moléculas, han hecho de ellos una herramienta indispensable en el laboratorio, así como en la investigación, el diagnóstico y la terapia.

#### **1.4.3.2 Uso de IgY para la inmunización pasiva.**

La inmunidad pasiva es la transferencia de un individuo a otro de inmunidad humoral activa en forma de anticuerpos ya preformados. La inmunidad pasiva puede ocurrir de forma natural cuando los anticuerpos maternos son transferidos a la progenie.<sup>56</sup>

Los anticuerpos pueden administrarse por vía intravenosa u oral y es ésta última vía la que se prefiere para el tratamiento de infecciones en el tracto gastrointestinal.<sup>56</sup>

La inmunidad que se deriva de la inmunización pasiva dura sólo un corto periodo de tiempo, sin embargo, la protección es inmediata.<sup>56</sup> Las IgY específicas se pueden producir a gran escala a partir de los huevos de gallinas inmunizadas con antígenos seleccionados.<sup>61</sup>

En este caso, los anticuerpos se administran en el alimento de varias formas: liofilizado del huevo completo, liofilizado de yema y liofilizado de la fracción soluble del purificado de anticuerpos.<sup>56</sup>

#### **1.4.4. Sustancias de origen natural.**

Recientemente la industria farmacéutica ha mostrado interés en el desarrollo de nuevos productos antiparasitarios y es un hecho que se tendrán sustitutos para los productos disponibles actualmente.<sup>5</sup>

##### **1.4.4.1. Betaína.**

La betaína es una sustancia natural que se extrae de la remolacha y que puede sustituir parte de la metionina y/o la colina en las dietas para pollos. Además tiene propiedades osmorreguladoras y contrarresta algunos de los efectos negativos de la coccidiosis y de los coccidiostatos que se incluyen en las dietas para prevenir esta enfermedad.<sup>62</sup>

La betaína, o trimetilglicina, es un producto natural producido por organismos vivos. La remolacha concentra grandes cantidades de betaína y es extraída por un proceso industrial.

En los organismos, la betaína es producida a partir de la colina, la cual dona un grupo metilo a la homocisteína para formar la metionina. Tanto la colina como la metionina son nutrientes esenciales para los pollos y son añadidos a la dieta si los ingredientes no proveen los niveles adecuados. La adición de betaína a la dieta puede sustituir parcialmente parte de esta adición de colina y metionina. Las interacciones de la betaína, colina y metionina se entienden desde hace muchos años.<sup>63</sup>

La naturaleza bipolar de la betaína la hace importante para la osmoregulación, que es el control de agua en las células, provocado por el cambio de concentración de electrolitos en solución. Esta propiedad ha hecho que recientemente se investigue el uso de betaína en la reducción de los efectos negativos de la coccidiosis. La infección cambia la morfología del intestino, reduciendo el tamaño de sus células y limitando las vellosidades intestinales. La coccidiosis cambia también la osmolaridad del intestino provocando diarrea, y por tanto reduce la absorción de nutrientes.<sup>64</sup>

#### **1.4.4.2. Aceites esenciales y hojas.**

Los aceites esenciales son sustancias olorosas obtenidas a partir de plantas mediante destilación en corriente de vapor o por expresión del material vegetal. Proviene fundamentalmente del metabolismo secundario de los vegetales superiores en los que ejercen funciones de defensa y atracción. Los aceites esenciales se caracterizan por ser una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles pertenecientes a diferentes clases de la química orgánica: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles. Dichos aceites se obtienen de la canela (cinamaldehído), clavo (eugenol), orégano (carvacrol), eucalipto (cineol), tomillo (timol) entre otros.<sup>65</sup>

Algunos estudios demuestran que los componentes de menor proporción tienen un papel crítico en la actividad antimicrobiana, posiblemente debido a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite esencial entero tiene una mayor actividad que la mezcla de sus principios activos mayoritarios.<sup>65</sup>

Generalmente, los aceites esenciales poseen notables propiedades antimicrobianas, aunque su mecanismo de acción aún no está bien definido; sin embargo, diversos estudios determinan que los aceites de clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo son los que poseen actividad más acentuada.<sup>66</sup>

El efecto anticoccidial ha sido demostrado en varios estudios comparado con los coccidiostatos convencionales y con vacunas. En esos estudios, los pollos administrados con aceites esenciales en la dieta, presentan reducción en los signos clínicos, así como disminución de las lesiones y una disminución en la excreción de ooquistes.<sup>67, 68, 69</sup>

Otros estudios muestran una reducción en el conteo de ooquistes por gramo de heces de aproximadamente un 50%, gracias a la utilización de un liofilizado de hojas de papaya (*Carica papaya*), vernonia (*Vernonia amigdalina*) y de lilia india (*Azadiratcha indica*).<sup>70</sup>

## **1.5 Justificación.**

El control de la coccidiosis se ha logrado gracias al uso de coccidiostatos en el alimento, además del uso de vacunas con ooquistes vivos atenuados. Sin embargo, debido al uso prolongado de los coccidiostatos, los parásitos del género *Eimeria sp.* han desarrollado resistencia y se requieren calendarios rotativos cada vez más específicos para controlar este problema parasitario, adicionalmente algunos coccidiostatos tienen un efecto negativo corporal sobre el peso de las aves y en dosis altas pueden ser tóxicos.

Se han desarrollado estrategias de vacunación pensadas para prevenir y reducir los costos de medicación ante la coccidiosis, sin embargo, dichas estrategias no han resultado del todo efectivas dado que no hay protección cruzada en el caso de que la infección involucre varias especies de coccidias y debido a la variación antigénica de las cepas de los parásitos.

Además de los aspectos antes mencionados, existe un creciente interés por la obtención de alimentos que durante su proceso no involucren el uso de sustancias químicas que puedan tener repercusión en la salud de los consumidores y que el impacto ambiental durante esa producción sea reducido.

Principalmente es por esto que surge la necesidad de idear estrategias que sean capaces de cubrir con estas expectativas. Es por esto, que en el presente estudio se evaluó el desempeño de inmunoglobulinas de origen aviar, de inmunoglobulinas con betaína, de coccidiostatos y de la vacunación ante un

desafío con un inóculo mixto de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* y *Eimeria tenella*.

## **1.6 Hipótesis.**

La utilización del programa de inmunoglobulinas y el de inmunoglobulinas con betaína tiene la capacidad de controlar el desarrollo y evolución de la coccidiosis aviar bajo condiciones experimentales en pollo de engorda, con la obtención de mejores pesos corporales, así como de parámetros productivos.

## **1.7. Objetivo.**

Evaluar el nivel de protección ante un desafío contra coccidiosis aviar así como el comportamiento productivo de pollos de engorda que reciben en la dieta inmunoglobulinas y betaína en premezcla, e inmunoglobulinas en premezcla y en agua de bebida en comparación con un calendario tradicional con coccidiostato y una vacuna comercial contra la coccidiosis.



## **CAPÍTULO 2: MATERIAL Y MÉTODOS**

La prueba se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se localiza en la calle de Manuel M. López S/N, Colonia Santiago Zapotitlán, Delegación Tláhuac en México Distrito Federal.

El lugar se encuentra a una altitud de 2250 msnm, entre los paralelos 19°15' latitud oeste. El clima es templado húmedo (Cw), con una temperatura mínima promedio de 8.2° y la máxima de 22.8°. La precipitación pluvial promedio es de 533.8 mm al año; durante junio y agosto se registran las mayores precipitaciones.<sup>71</sup>

Se utilizaron 816 pollitos de un día de edad de la estirpe Ross 308. Se empleó un diseño experimental completamente al azar, de seis (6) tratamientos con cuatro (4) réplicas de 34 pollitos cada una: dos réplicas de hembras y dos réplicas de machos.

## 2.1 Tratamientos.

Los tratamientos para la prevención de la coccidiosis se describen a continuación:

**Cuadro 1. Tratamientos**

	<b>0-21 días de edad</b>	<b>22-49 días de edad</b>
<b>Tratamiento 1: N/S</b>	Nicarbazina	Salinomicina
<b>Tratamiento 2: IgYPL/IgYP</b>	Inmunoglobulinas en premezcla + Inmunoglobulinas líquidas	Inmunoglobulinas en premezcla
<b>Tratamiento 3: IgYPL/S</b>	Inmunoglobulinas en premezcla + Inmunoglobulinas líquidas	Salinomicina
<b>Tratamiento 4: V/S</b>	Vacuna comercial (ATD-1 Coccivac B)	Salinomicina
<b>Tratamiento 5 IgYPB/IgYPB</b>	Inmunoglobulinas en premezcla + Betaína	Inmunoglobulinas en premezcla + Betaína

## 2.2. Manejo de las inmunoglobulinas en premezcla.

Para el experimento se utilizó una premezcla que contiene liofilizado de yema de huevo con anticuerpos IgY, que se obtuvieron a partir de aves libres de patógenos específicos que fueron inmunizadas con ooquistes vivos de las tres especies más importantes de *Eimeria* que afectan al pollo de engorda: *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* y *Eimeria tenella*.<sup>72</sup>

El título de las inmunoglobulinas en esta presentación fue de 1:16. La premezcla se administró a una dosis de 3 kg/tonelada de alimento en el caso del tratamiento 2 para las dos fases de alimentación; en el caso del tratamiento 3, la premezcla se

utilizó sólo en el alimento iniciador y en el caso del tratamiento 5, la premezcla se utilizó en ambas fases de alimentación.

Las inmunoglobulinas en premezcla se incluyeron en la premezcla de minerales y vitaminas a fin de que estuviera distribuida de manera uniforme en el alimento terminado.

### **2.3 Manejo de las inmunoglobulinas líquidas.**

Las inmunoglobulinas en presentación líquida se obtuvieron a partir de aves libres de patógenos específicos que fueron inmunizadas con ooquistes vivos de las tres especies más importantes de *Eimeria* que afectan al pollo de engorda: *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima* y *Eimeria tenella*.

El título de las inmunoglobulinas en esta presentación fue de 1:8. La dosis suministrada a los tratamientos 2 y 3 fue a razón de 2 ml/ave/día en el agua de bebida, los días 21, 22 y 23 de edad.

### **2.4 Manejo de la betaína en premezcla.**

La betaína en premezcla se administró a una dosis de 1 kg/tonelada de alimento para las dos fases de alimentación del tratamiento 5 y al igual que las inmunoglobulinas en premezcla, se incluyó en la premezcla de minerales y vitaminas para que estuviera distribuida uniformemente en alimento terminado.  
100 ppm.

## **2.5 Manejo de los coccidiostatos.**

Se incluyeron 0.500 kg/tonelada de alimento de nicarbazina en la premezcla del alimento iniciador del tratamiento 2.

Mientras que para el alimento finalizador de los tratamientos 3 y 4, se incluyeron 0.500 kg/tonelada de alimento de salinomicina.

## **2.6 Manejo de la vacuna comercial.**

La vacuna contra coccidiosis aviar se administró por medio del alimento al día de edad del pollito, únicamente para el tratamiento 4. La vacuna se preparó diluyendo el equivalente de 132 dosis en 92.4 ml de agua, mezcla que se agregó a 0.600 kg de alimento, mismo que fue repartido en las cuatro réplicas del tratamiento 4 (0.150 g/réplica).

El nombre del producto es ATD-1 Coccivac B<sup>®</sup> contiene ooquistes vivos de *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria mivati* y *Eimeria tenella* y es fabricado por el laboratorio MSD Animal Health.

Al día veintiuno de edad de las aves del tratamiento 4, se administró un tratamiento inmunomodulador con 25 ml de toltrazuril al 2.5% en 50 litros de agua con el fin de impedir el desarrollo de distintos estadios intracelulares de las coccidias.

## 2.7 Dieta y fases de alimentación.

El programa de alimentación fue de la siguiente manera:

Alimento iniciador: 0-21 días de edad.

Alimento finalizador: 22-49 días de edad.

Las aves fueron alimentadas con una dieta a base de sorgo-pasta de soya en harina, cubriendo las recomendaciones de nutrientes.<sup>73</sup> Tanto el alimento como el agua fueron proporcionados *ad libitum*.

### Cuadro 2. Ingredientes de la dieta.

Alimento iniciador	Alimento finalizador
Sorgo 9%	Sorgo 9%
Soya 48%	Soya 48%
Aceite de segunda	Aceite de segunda
Ortofosfato 1621	Ortofosfato 1820
Carbonato de calcio	Carbonato de calcio
Sal	Avelut polvo 15
Metionina 98	Sal
L-lisina HCL	Metionina 98
Vitaminas pollo-E	Vitaminas pollo-E
Cloruro de colina 60%	Cloruro de colina 60%
Minerales CEIEPAv	Minerales CEIEPAv
Nicarbazina: tratamiento 2	Salinomicina: tratamientos 2, 4 y 5
Virginiamicina	Virginiamicina

Antioxidante	L-lisina HCL
Supracox premezcla 10%: tratamientos 3,4 y 5	Antioxidante
Supracox líquido: tratamientos 3 y 4	Supracox premezcla 10%: tratamientos 3 y 6
Betaína: tratamiento 6	Betaína: tratamiento 6
Vacuna comercial ATD-1 Coccivac B: tratamiento 5	

## **2.8 Manejo y alojamiento.**

### **2.8.1 Alojamiento.**

Las aves fueron alojadas en una caseta de ambiente natural de 152 metros de largo por 8.10 metros de ancho.

Los corrales correspondientes a cada una de las réplicas de los tratamientos tenían una dimensión de 1.75 metros X 1.75 metros, dando un área total de 3.06 m<sup>2</sup> en cada corral. El material de cama proporcionado fue de viruta de aserrín.

### **2.8.2 Temperatura.**

La temperatura requerida para la primera semana de edad de los pollitos fue de 32°C, posteriormente, se redujo 2°C cada semana hasta que cumplieron 28 días de edad y a partir de esta edad, se mantuvo una temperatura ambiente, es decir alrededor de 20-22°C.<sup>74, 75, 76</sup>

Con el objeto de medir la temperatura, se colocaron termómetros digitales a la altura de los pollos y mediante un formato específico se registraron las temperaturas máximas y mínimas durante todo el ciclo productivo.

### **2.8.3 Equipo.**

Para la etapa de iniciación se utilizaron bebederos tipo vitrolero, así como comederos de plato (un vitrolero y un comedero por réplica).

Para la etapa de finalización se colocaron bebederos de campana y comederos de tolva (un bebedero de campana y un comedero de tolva por réplica).

### **2.8.4 Medicina preventiva.**

Las aves fueron vacunadas contra la Enfermedad de Marek al día de edad en la incubadora por vía subcutánea. A los diez días de edad fueron vacunadas vía ocular contra la Enfermedad de Newcastle y con una vacuna emulsionada vía subcutánea contra la Enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar. Al día veinticuatro de edad, se revacunó contra la Enfermedad de Newcastle por vía ocular.

## **2.9 Recolección y análisis de muestras.**

### **2.9.1 Excretas.**

Se colectaron excretas de diez aves por réplica a los siete días de edad para descartar que existiera eliminación de ooquistes sugerentes a una infección previa al desafío.

Posteriormente, se tomaron muestras de excretas a los catorce, veintiuno, veintiocho y treinta y cinco días de edad para realizar el conteo e identificación de ooquistes. La toma de estas muestras fue de forma directa, es decir, presionando el abdomen de las aves<sup>77</sup> y colocando las excretas en bolsas con la identificación correspondiente a cada réplica.

Dichas muestras fueron remitidas en refrigeración al Laboratorio de Desarrollo de Nuevos Productos de Investigación Aplicada S. A. en Tehuacán, Puebla para la debida identificación y cuantificación de ooquistes.

### **2.9.2 Lesiones intestinales.**

A los catorce días de edad de las aves se seleccionaron cinco pollos al azar por réplica y fueron sacrificados mediante dislocación cervical<sup>78, 11, 79</sup> para observar la integridad intestinal pre inoculación y así descartar que existieran lesiones sugerentes a una infección previa al desafío.

Al día veintiuno y veintiocho de edad de las aves, se seleccionaron cinco pollos al azar por réplica para evaluar las lesiones intestinales post inoculación. Dichas aves fueron sacrificadas mediante dislocación cervical.<sup>78, 11, 79</sup>



Para el propósito de la evaluación de la integridad intestinal se utilizó el *score* de lesiones a través del método Johnson y Reid, el cual fue desarrollado para proporcionar una clasificación numérica de las lesiones macroscópicas - observación de la serosa, mucosa y contenido intestinal- causadas por coccidias.<sup>80, 11</sup>

Dicha clasificación numérica se describe a continuación:

+0: normal

+1: infección ligera

+2: infección moderada

+3: infección grave

+4: infección muy grave, con mortalidad.

### **2.9.3 Necropsias.**

Se realizó la necropsia a toda la mortalidad con el fin de conocer la causa de muerte y así descartar cualquier patología que pudiera interferir con el resultado de la prueba.

## **2.10 Desafío**

A los catorce días de edad de las aves se realizó el desafío con un inóculo mixto (30 ml.) de ooquistes de *Eimeria acervulina* (200 000 ooquistes/ml.), *E. maxima* (10 000 ooquistes/ml.) y *E. tenella* (30 000 ooquistes/ml.).

El inóculo fue proporcionado por el Departamento de Desarrollo de Nuevos Productos de Investigación Aplicada S.A. y fue homogeneizado en el 10% del alimento que consume una réplica al día quince de edad, según lo indicado en el manual de manejo de la estirpe.

## **2.11 Medición de pigmento.**

A los treinta y cinco, cuarenta y dos y cuarenta y nueve días de edad de las aves, se seleccionaron al azar cinco pollos por réplica para la medición del pigmento en la zona aptérica del ala derecha.

La medición se hizo con un colorímetro de reflectancia de la marca Konica Minolta, modelo CR-400.

## **2.12. Análisis estadístico.**

Las variables de estudio se analizaron conforme a un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 2x6 en donde un factor es el sexo (H y M) y el otro

factor son los tratamientos (1,2,3,4 y 5) y se realizó la prueba de Tukey cuando se encontró diferencia estadísticamente significativa.

### **2.13 Parámetros a evaluar.**

- Peso corporal semanal
- Consumo total de alimento
- Conversión alimenticia
- Porcentaje de mortalidad semanal y final
- Índice de productividad
- Pigmentación de la piel
- Conteo de ooquistes: de la segunda a la quinta semana de edad.
- Grado de lesiones.

## CAPÍTULO III. RESULTADOS

### **Peso corporal.**

Los tratamientos 3 y 5, tuvieron los mayores pesos corporales comparados con el resto de los tratamientos (cuadro 3).

El tratamiento 4, tuvo el menor peso corporal comparado con el resto de los tratamientos.

### **Cuadro 3. Peso corporal a los 49 días de edad.**

Tratamiento	Peso corporal g/ave
1 N/S	3 087 B
2 IgYPL/IgYP	3 060 B
3 IgYPL/S	3 145 A
4 V/S	2 987 C
5 IgYPB/IgYPB	3 177 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

### **Consumo de alimento.**

El tratamiento 2 fue el que tuvo el mayor consumo comparado con los tratamientos 1 y 3. El resto de los tratamientos no muestra diferencia estadísticamente significativa (cuadro 4).

**Cuadro 4. Consumo de alimento acumulado**

<b>Tratamiento</b>	<b>Consumo de alimento g/ave acumulado</b>
1 N/S	5 452 B
2 IgYPL/IgYP	5 591.79 A
3 IgYPL/S	5449.29 B
4 V/S	5530 AB
5 IgYPB/IgYPB	5504.79 AB

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas p <0.05**

### **Conversión alimenticia.**

Los tratamientos 2 y 4 resultaron iguales al no encontrarse diferencia estadísticamente significativa, teniendo conversiones alimenticias altas (cuadro 5).

En los tratamientos 1, 3 y 5 no se observó diferencia estadísticamente significativa en la conversión alimenticia, siendo ésta adecuada dentro de los parámetros de referencia (cuadro 5).

**Cuadro 5. Conversión alimenticia**

<b>Tratamiento</b>	<b>Conversión alimenticia</b>
1 N/S	1.79 B
2 IgYPL/IgYP	1.87 A
3 IgYPL/S	1.77 B
4 V/S	1.88 A
5 IgYPB/IgYPB	1.77 B

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas p <0.05**

## **Mortalidad.**

No se hizo comparación de medias (cuadro 6) al no haber diferencia significativa entre tratamientos. Sin embargo, se aprecia que los tratamientos 3 y 5 resultaron menos homogéneos en esta variable.

**Cuadro 6. Mortalidad**

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
1 N/S	25.56 A	3.63	0.14
2 IgYPL/IgYP	19.39 A	8.97	0.46
3 IgYPL/S	12.13 A	10.27	0.85
4 V/S	24.49 A	5.12	0.21
5 IgYPB/IgYPB	10.11 A	11.93	1.18

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

## Índice de productividad.

En el cuadro 7 se muestran los datos obtenidos del índice de productividad, donde se aprecia que los mejores tratamientos fueron el 3 y el 5.

**Cuadro 7. Índice de productividad**

Tratamiento	Índice de productividad	Criterio
1 N/S	285.15	Bueno
2 IgYPL/IgYP	292.16	Bueno
3 IgYPL/S	338.59	Excelente
4 V/S	266.98	Bueno
5 IgYPB/IgYPB	349.55	Excelente

Criterios para la determinación del índice de productividad:

>300: excelente.

260-299: bueno

200-259: regular

<200: malo



## Pigmentación de la piel.

Para la pigmentación amarilla (b) de la piel de la pechuga in vivo, que se realizó con el colorímetro de reflectancia, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (cuadro 8).

**Cuadro 8. Pigmentación de la piel**

Tratamiento	Pigmentación de la piel
1 N/S	19.43 A
2 IgYPL/IgYP	17.36 A
3 IgYPL/S	17.24 A
4 V/S	17.13 A
5 IgYPB/IgYPB	16.91 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

## Conteo de ooquistes por gramo de heces (ophg).

### *Eimeria acervulina* (cuadro 9).

Para *E. acervulina* el tratamiento 5 tuvo el mayor conteo de ophg comparado con el resto de los tratamientos. Los tratamientos 2, 3 y 4 no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre ellos. El tratamiento 1 tuvo el menor conteo de ophg comparado con el resto de los tratamientos.

**Cuadro 9. Conteo de ooquistes por gramo de heces *Eimeria acervulina***

Tratamiento	OPGH <i>Eimeria acervulina</i>
1 N/S	19687.59 D
2 IgYPL/IgYP	76875.20 BC
3 IgYPL/S	101875 B
4 V/S	55313 BC
5 IgYPB/IgYPB	344532 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

***Eimeria maxima* (cuadro 10).**

Para *E. maxima*, el tratamiento 5 tuvo el mayor conteo de opgh comparado con el tratamiento 1 que tuvo el menor conteo. Entre los tratamientos 2, 3, 4 y 5 no existe diferencia estadísticamente significativa. Entre los tratamientos 1, 2, 3 y 4 no existe diferencia estadísticamente significativa.

**Cuadro 10. Conteo de ooquistes por gramo de heces *Eimeria maxima***

<b>Tratamiento</b>	<b>OPGH <i>Eimeria maxima</i></b>
1 N/S	156.20 B
2 IgYPL/IgYP	5000.20 AB
3 IgYPL/S	3437.60 AB
4 V/S	2021.20 AB
5 IgYPB/IgYPB	7813 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas p <0.05**

***Eimeria tenella* (cuadro 11).**

Para *E. tenella*, no hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

**Cuadro 11. Conteo de ooquistes por gramo de heces *Eimeria tenella***

<b>Tratamiento</b>	<b>OPGH <i>Eimeria tenella</i></b>
1 N/S	3906.39 A
2 IgYPL/IgYP	2812.39 A
3 IgYPL/S	1875 A
4 V/S	1718.80 A
5 IgYPB/IgYPB	312.40 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

## Lesiones intestinales.

### *Eimeria acervulina* (cuadro 12).

No hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

**Cuadro 12. Lesiones intestinales *Eimeria acervulina***

Tratamiento	Lesiones intestinales <i>Eimeria acervulina</i>
1 N/S	0.56 A
2 IgYPL/IgYP	0.50 A
3 IgYPL/S	0.83 A
4 V/S	0.80 A
5 IgYPB/IgYPB	0.66 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

***Eimeria maxima* (cuadro 13).**

No hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

**Cuadro 13. Lesiones intestinales *Eimeria maxima***

<b>Tratamiento</b>	<b>Lesiones intestinales <i>Eimeria maxima</i></b>
1 N/S	0.13 A
2 IgYPL/IgYP	0.16 A
3 IgYPL/S	0.20 A
4 V/S	0.16 A
5 IgYPB/IgYPB	0.33 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

***Eimeria tenella* (cuadro 14).**

El tratamiento 5 tuvo el mayor grado de lesiones comparado con el resto de los tratamientos, pero éstos a su vez, no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

**Cuadro 14. Lesiones intestinales *Eimeria tenella***

<b>Tratamiento</b>	<b>Lesiones intestinales <i>Eimeria tenella</i></b>
1 N/S	1.10 B
2 IgYPL/IgYP	1.16 B
3 IgYPL/S	1.16 B
4 V/S	1.20 B
5 IgYPB/IgYPB	3.60 A

**Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $p < 0.05$**

## CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

### **Peso corporal.**

En el presente estudio el tratamiento 3 al igual que el tratamiento 5 tuvieron los mejores pesos corporales en comparación con el resto de los tratamientos, resultados que coinciden con el estudio realizado por Lee *et al*<sup>72</sup> quienes reportan que los pollos que fueron alimentados con inmunoglobulinas tuvieron un incremento significativo en la ganancia de peso comparados con aquéllos pollos que no fueron alimentados con inmunoglobulinas.

Así mismo, Waldenstedt *et al*<sup>64</sup> encontraron que existe cierto efecto benéfico de la betaína en la ganancia de peso en pollos de engorda cuando existe un desafío con coccidias en general, conclusión que coincide con lo obtenido en el presente trabajo.

Por otro lado y en este estudio, el tratamiento 4 mostró el menor peso corporal en comparación con el resto de los tratamientos, resultado que se contrapone con el estudio de Lee *et al*<sup>81</sup> en donde se reporta que la vacuna contra coccidiosis aviar - Pfizer Polutry Health Inovocox, que contiene ooquistes de *Eimeria acervulina* y *Eimeria tenella*, así como una cepa de *Eimeria maxima* y que en el estudio se aplicó al día de edad de los pollitos- puede ser más efectiva en comparación con una dieta con salinomicina para incrementar el peso corporal de las aves, ya que en el presente estudio, el tratamiento 4 fue vacunado con una vacuna comercial que contiene ooquistes vivos de *E. acervulina*, *E. maima*, *E. mivati* y *E. tenella*,



que se administró al día uno de edad de los animales, igual que en el estudio citado.

La eficacia de la vacunación contra la coccidiosis aviar depende de un factor importante, como lo mencionan Juárez *et al*<sup>82</sup> quienes concluyen que antes de optar por la vacunación de las parvadas en pollo de engorda en México, es recomendable determinar las diferencias antigénicas entre los aislamientos de coccidias en campo y los ooquistes de las vacunas empleadas, con especial énfasis en las cepas de *Eimeria maxima* y *Eimeria tenella*. Se menciona lo anterior ya que en el presente estudio, el tratamiento 4 que fue vacunado, tuvo el menos peso corporal de todos los tratamientos.

### **Consumo total de alimento.**

El tratamiento 2 tuvo el mayor consumo de alimento comparado con los tratamientos 1 y 3.

### **Conversión alimenticia.**

Los tratamientos 2 y 4 fueron los que mostraron las conversiones alimenticias más altas, resultados que coinciden con los altos consumos de alimento en el tratamiento 2 pero no con los mejores pesos, lo que puede indicar que estos tratamientos no resultaron efectivos en la conversión alimenticia, lo que se contrapone con lo descrito por Evans *et al.*<sup>83</sup>, Tamasaukas<sup>84</sup> y Kanu<sup>85</sup>, quienes coinciden en que los pollos de engorda que fueron vacunados contra coccidiosis - cepas de *Eimeria acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella*- presentan una mejor conversión alimenticia, lo anterior en el caso del tratamiento 4, que fue al que se le administró la vacuna.

Sin embargo, para el tratamiento 2 que tuvo un programa suplementado con inmunoglobulinas, estos resultados sugieren que dicho programa puede no ser efectivo en la conversión alimenticia.

En el caso de los tratamientos 1,3 y 5 se obtuvieron mejores conversiones, lo que indica que los programas con coccidiostatos, inmunoglobulinas y coccidiostato e inmunoglobulinas con betaína respectivamente, tienen un efecto benéfico sobre la conversión alimenticia.

### **Porcentaje de mortalidad semanal y final.**

Al no encontrarse diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre los porcentajes de mortalidad entre los tratamientos, no se hizo la comparación de medias.

En ninguno de los tratamientos la causa de mortalidad se atribuyó a la coccidiosis.

El 60% de la mortalidad fue atribuible al síndrome ascítico.

### **Índice de productividad.**

Los tratamientos 3 y 5 mostraron un índice de productividad excelente, de acuerdo al cálculo realizado. Lo que indica que el programa de inmunoglobulinas y coccidiostato que se utilizó para el tratamiento 3 y que el programa de inmunoglobulinas y betaína utilizado para el tratamiento 5 en este trabajo, fueron las mejores combinaciones respecto a los otros tratamientos.

### **Pigmentación de la piel.**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, sin embargo, los niveles de pigmentación fueron bajos, en comparación con lo referido por Vicente <sup>86</sup> quien reporta que los niveles de pigmentación promedio para el pollo finalizado oscilan entre 20-25 unidades delta en amarillo en aves vivas.

### **Conteo de ooquistes por gramo de heces para *Eimeria acervulina*.**

El tratamiento 5 fue el que mostró el mayor conteo de ooquistes por gramo de heces para *Eimeria acervulina* en comparación con el resto de los tratamientos, resultado que es contrario a lo descrito por Lee *et al* <sup>72</sup>, quienes concluyen que los pollos que fueron alimentados con una dieta suplementada con inmunoglobulinas tuvieron una reducción en la eliminación de ooquistes en comparación con los pollos que no recibieron dicha suplementación. A pesar de esto, los pesos que obtuvieron los pollos de este tratamiento están entre los dos mejores de este estudio.

El tratamiento 1 fue el que resultó con el menor conteo de ooquistes por gramo de heces para *Eimeria acervulina*, lo que sugiere que este tratamiento fue capaz de controlar la eliminación del parásito, aun cuando se ha reportado que el beneficio de manejar un programa anticoccidiano es bajo cuando este es permanente y las coccidias han desarrollado resistencia a los dichos fármacos, como lo refieren Blenter y Mitchell. <sup>87</sup>

### **Conteo de ooquistes por gramo de heces para *Eimeria maxima*.**

El tratamiento 5 fue el que tuvo el mayor conteo de ooquistes por gramo de heces de *Eimeria maxima* en comparación con el resto de los tratamientos; el resultado obtenido es contrario al estudio realizado por Lee *et al.*<sup>88</sup> en donde se reporta una menor excreción de ooquistes en las aves que fueron suplementadas con inmunoglobulinas y posteriormente desafiadas con un inóculo de *Eimeria maxima* y *Eimeria tenella* en dicho estudio, a pesar de haber manejado la misma *Eimeria* para el desafío, se utilizaron tres diferentes dosis de inmunoglobulinas (1%, 2% y 5%), mientras que para el estudio presentado, la dosis fue de 3%

El tratamiento 1 fue el que tuvo el menos conteo de ooquistes por gramo de heces, lo que sugiere que el programa utilizado en este tratamiento (nicarbazina/salinomicina) fue el mejor en el caso de este estudio.

### **Conteo de ooquistes por gramo de heces para *Eimeria tenella*.**

En ninguno de los tratamientos se encontró diferencia estadísticamente significativa en el conteo de ooquistes por gramo de heces de *Eimeria tenella*, con lo cual puede asumirse que todos los tratamientos son efectivos para controlar la eliminación del parásito, específicamente *E. tenella*.

En este aspecto y en referencia a los tratamientos que recibieron inmunoglobulinas en la dieta, estos resultados no coinciden con lo descrito por Lee *et al.*<sup>88</sup> –que es el mismo estudio anterior, en donde el desafío se realizó con un inóculo de *Eimeria maxima* y *E. tenella*- donde el grupo que recibió la alimentación

suplementada con inmunoglobulinas mostró una reducción significativa en el conteo de ooquistes fecales después de la infección con *E. tenella*, en comparación con los pollos infectados que no recibieron una dieta suplementada.

### **Lesiones intestinales provocadas por *Eimeria acervulina*.**

En ninguno de los tratamientos hubo diferencia estadísticamente significativa. El grado de lesión intestinal fue menor a 1 según la escala propuesta por Johnson y Reid.<sup>80</sup>

A pesar de que el tratamiento 5 fue el que tuvo el mayor conteo de ooquistes de *E. acervulina* por gramo de heces, el grado de lesión intestinal no fue severo y esto se vio reflejado en el hecho de que este tratamiento estuvo entre los dos que mostraron los mejores pesos corporales al final de la prueba.

Se asume que todos los tratamientos fueron igual de efectivos para controlar las lesiones intestinales provocadas por *Eimeria acervulina*.

En un estudio realizado por Assis *et al.*<sup>89</sup> en donde a un grupo de pollos infectados de forma natural con *Eimeria acervulina* les fue administrado diclazuril, se observó que el grado de lesiones intestinales fue menor en este grupo, lo que sugiere que este compuesto puede tener un efecto inhibitor sobre las diferentes fases del ciclo de vida del parásito, lo cual se ve reflejado en la integridad intestinal. Lo anterior concuerda con las observaciones de El-Banna *et al.*<sup>90</sup> y Amer *et al.*<sup>91</sup> ya que en ambos trabajos se concluye que la infección por coccidias se puede controlar con

la administración de diclazuril soluble en agua, pues también encontraron que el grado de lesión intestinal se vio reducido.

En el presente estudio, el tratamiento 4 recibió toltrazuril en el agua de bebida al día veintiuno de edad y los resultados en el puntaje de lesiones fueron menores a 1 en la escala propuesta por Johnson y Reid.<sup>80</sup> Todo lo anterior sugiere que estos compuestos tienen un efecto benéfico en el control del grado de lesiones causado por *Eimeria acervulina*.

### **Lesiones intestinales provocadas por *Eimeria maxima*.**

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los tratamientos. El grado de lesión intestinal fue menor a 1 según la escala propuesta por Johnson y Reid.<sup>80</sup>

Se asume que todos los tratamientos resultaron eficaces para el control de las lesiones intestinales provocadas por *E. maxima*.

En el caso del tratamiento 4, al que se le administró toltrazuril se hace referencia al punto anterior en donde este compuesto puede tener un efecto benéfico sobre el grado de lesión intestinal. En el caso de los tratamientos 2, 3 y 5 se puede inferir que la suplementación con inmunoglobulinas en la dieta, también tiene un efecto benéfico sobre el grado de lesión intestinal de los pollos, tal y como lo refieren Lee *et al* en su trabajo.<sup>88</sup>

## **Lesiones intestinales provocadas por *Eimeria tenella*.**

El tratamiento 5 tuvo el mayor grado de lesión comparado con el resto de los tratamientos, con un puntaje de 3 en la escala propuesta por Johnson y Reid.<sup>80</sup>

En el trabajo de Lee *et al*<sup>88</sup>, se menciona que los pollos que recibieron una dieta suplementada con inmunoglobulinas, tuvieron una reducida eliminación de ooquistes de *E. tenella* sin embargo, no se mencionan datos relacionados con las lesiones causadas por esta coccidia, pero sí se hace mención de que las lesiones fueron menores en el caso de *E. maxima*, por lo que el resultado de este parámetro no puede compararse con dicho trabajo.

## **CAPÍTULO 5: CONCLUSIÓN**

El uso de inmunoglobulinas en premezcla y en presentación líquida, así como el uso de inmunoglobulinas con betaína en la dieta, no tuvo la capacidad de controlar la presentación de la enfermedad -eliminación de ooquistes y desarrollo de lesiones- bajo condiciones experimentales en pollo de engorda, sin embargo, dicho programa tuvo un impacto positivo en los parámetros productivos –mayor ganancia de peso corporal, disminución en el índice de conversión, así como excelentes índices de productividad-.



## ÍNDICE DE IMÁGENES Y CUADROS

Imagen 1. Áreas para el puntaje de lesiones .....	11
Cuadro 1. Tratamientos .....	33
Cuadro 2. Ingredientes de la dieta. ....	36
Cuadro 3. Peso corporal a los 49 días de edad. ....	43
Cuadro 4. Consumo de alimento acumulado .....	44
Cuadro 5. Conversión alimenticia .....	45
Cuadro 6. Mortalidad.....	46
Cuadro 7. Índice de productividad.....	47
Cuadro 8. Pigmentación de la piel .....	48
Cuadro 9. Conteo de ooquistes por gramo de heces <i>Eimeria acervulina</i> .....	49
Cuadro 10. Conteo de ooquistes por gramo de heces <i>Eimeria maxima</i> .....	50
Cuadro 11. Conteo de ooquistes por gramo de heces <i>Eimeria tenella</i> .....	51
Cuadro 12. Lesiones intestinales <i>Eimeria acervulina</i> .....	52
Cuadro 13. Lesiones intestinales <i>Eimeria maxima</i> .....	53
Cuadro 14. Lesiones intestinales <i>Eimeria tenella</i> .....	54

## LITERATURA CITADA

- 1.- Alcaíno H, González JP, Fredes F y Gorman T. Coccidias aviares de gallineros industriales de Chile. *Parasitología latinoamericana* 2002; 57: 1-2.
- 2.- Yun CH, Lillehoj HS, Lillehoj EP. Intestinal immune responses to coccidiosis. *Developmental and Comparative Immunology* 2000; 24: 303-324.
- 3.- Tirado AF. Pigmentos y pigmentación. X Ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura. *Memorias de la ANECA*; 1991 abril 10-11; México D.F. Asociación Nacional de Especialistas en Nutrición Animal A.C. 1991: 181-197.
- 4.- Shirley MW, Smith AL, Tomley FM. The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination. *Advances in Parasitology* 2005; 60: 285–330.
- 5.- McDougald et al. *Diseases of poultry*. 11th Ed. Ames Iowa: Iowa State University Press, 2003.
- 6.- Pérez V. Control de la coccidiosis aviar. *Memorias del VII Magno evento de la AVECA-G*; 2005 Octubre 13-14; Manzanillo, Colima México. México (Jalisco): Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Ciencias Avícolas de Guadalajara A.C., 2005.
- 7.- Calnek B. W. *Enfermedades de las aves*. 2ª edición. México: Manual Moderno, 2000.
- 8.- Cordero CM, Rojo VFA, Martínez FAR, Sánchez AMC, Hernández R, Navarrete LC, Díez BP, Quiroz RH, Carvalho VM. *Parasitología Veterinaria*. España: McGraw Hill Interamericana, 1999.
- 9.- Martínez de Chirinos NI, Arcar de Peraza L, Chirinos RAR. Estudio de coccidia en pollos de engorde del municipio Maracaibo: I. Identificación de especies. *Revista Científica FCV-Luz*. 1995; 5: 199-206.
- 10.- Duszynsky DW, Wilber PG. A guideline for the preparation of species description in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology* 1997; 83: 333-336.
- 11.- Conway PD, McKenzie E. *Poultry coccidiosis*. 3rd ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007.
- 12.- Quiroz RH. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Limusa, 2011.
- 13.- Martínez AA. Coccidiosis aviar. *Avances en Medicina Veterinaria* 1987; 3: 110-124.

- 14.- Rojo ME. Enfermedades de las aves. 2ª edición. México: Trillas, 1999.
- 15.- Rose M, Lawn A, Millard B. 1984. The effect of immunity on the early events in the life-cycle of *Eimeria tenella* in the caecal mucosa of the chicken. *Parasitology* 1984; 88:199-210.
- 16.- Shirle MW, Millard BJ. Studies on the immunogenicity of seven attenuated lines of *Eimeria* given as a mixture to chickens. *Avian Pathology* 1986; 15: 629-638.
- 17.- Jordan FT, Parttison M. Enfermedades de las aves. 3ª edición. México: Manual Moderno, 1998.
- 18.- Ruíz H. Coccidiosis aviar. Universidad Central de Venezuela. Caracas: Consejo de Desarrollo Científico, 1990.
- 19.- Montiel AM. Evaluación del efecto protector de dos vacunas comerciales para el control de la coccidiosis aviar en pollos de engorda. (Tesis de Licenciatura) Cuautitlán (Estado de México) México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán- UNAM, 2009.
- 20.- Petrone GV. Sistema de Producciónn Animal I. Introducción a la Estadística: Aves. Vol. II. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. División del Sistema de Universidad Abierta y Educación a Distancia, 2002.
- 21.- McDougald LR. Importancia del recuento de ooquistes en la cama. USA: Iowa State Press, 1991
- 22.- Gibbons LM, Jacobs DE, Fox MT, Hansen J. La Guía RVC/FAO para el diagnóstico parasitológico veterinario: examen fecal para determinación de helmintos parásitos. Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas. Disponible en [http://www.rvc.ac.uk/Review/Parasitology\\_Spanish/Index/Index.htm](http://www.rvc.ac.uk/Review/Parasitology_Spanish/Index/Index.htm). Consultado el 16 de septiembre de 2013.
- 23.- De Francesichi ME. Aspectos generales e inmunológicos de la coccidiosis aviar. *Albítar* 2014; 15: 103.
- 24.- Colas CM, García FAJ, Merino LA, Sánchez PA, Corea de la Rosa A, Bacallao ME, Mojena SK, Reyes LI. Estudio de la anamnesis epizoótica y de la necropsia de aves domésticas en la base asistencial veterinaria. *Revista electrónica de Veterinaria* 1695-7504 2010 Volumen 11 Número 11B. Disponible en: REDVET Rev. electrón. vet. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://revista.veterinaria.org> Vol. 11, N° 11B Noviembre/2010 <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111110B.html>.

- 25.- Zander DV, Mallinson ET. 1991. Principles of disease prevention: diagnosis and control in Disease of Poultry, 9th ed. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1991.
- 26.- Morris GM, Gasser RB. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in Eimeria. *Biotechnology Advances* 2006; 6 (24): 590–603.
- 27.- Morgana JAT, Morris GM, Wlodeka BM, Byrnesa R, Jennera M, Constantinoiu CC, Anderson GR, Lew-Tabora AE, Molloya JB, Gasser RB, Jorgensena WK. Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven Eimeria species that cause coccidiosis in chickens. *Molecular and Cellular Probes* 2009; 2 (23): 83-89.
- 28.- León CNC. Diferentes programas de coccidiostatos en el alimento del pollo de engorda sobre los parámetros productivos y mortalidad. (Tesis de Licenciatura). Morelia (Michoacán) México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2010.
- 29.- Sumano LH, Ocampo CL. Farmacología veterinaria. Mc Graw Hill México, 2006.
- 30.- Del Cacho E. Mecanismos inmunológicos de la coccidiosis aviar. XLVI Simposium científico de avicultura Zaragoza, 2009.
- 31.- Lillehoj HS, Kim CH, Keeler CL, Zhang S. Immunogenic approaches to study host immunity to enterogenic pathogens. *Poultry Science* 2007; 86: 1491-1500.
- 32.- Constantinoiu CC, Molloy JB, Jorgensen WK, Coleman, GT. Antibody response against endogenous stages of an attenuated strain of Eimeria tenella. *Veterinary Parasitology* 2008; 154: 193–204.
- 33.- Shirley MW, Smith AL, Tomley FM. The biology of avian Eimeria with an emphasis on their control by vaccination. *Advances in Parasitology* 2005; 60: 285–330.
- 34.- Chapman, HD. Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in Eimeria parasites of the fowl. *Avian Pathology* 1997; 26: 221–244.
- 35.- Zhanga JJ, Wang LX, Ruana WK, Ana J. Investigation into the prevalence of coccidiosis and maduramycin drug resistance in chickens in China. *Veterinary Parasitology* 2013; 191 (1-2): 29-34.
- 36.- Hernández TM. Control de coccidiosis ¿Quimioprofilaxis, planes vacunales? Ventajas e inconvenientes. Jornadas Técnicas de Avicultura Arenys de Mar 10-13 de junio 1996.

- 37.- Berezin VE, Bogoyavlenskiy AP, Tolmacheva VP, Makhmudova NR, Khudyakova SS, Levandovskaya SV, Omirtaeva ES, Zaitceva IA, Tustikbaeva GB, Ermakova OS, Aleksyuk PG, Barfield RC, Danforth HD, Fetterer RH. Immunostimulating complexes incorporating Eimeria tenella antigens and plant saponins as effective delivery system for coccidia vaccine immunization. *Journal of Parasitology* 2008; 94: 381–385.
- 38.- Molan AL, Liu Z, De S. Effect of pine bark (*Pinus radiata*) extracts on sporulation of coccidian oocysts. *Parasitology* 2009; 56: 1–5.
- 39.- Williams RB. Relative virulences of a drug-resistant and a drug-sensitive strain of *Eimeria acervulina*, a coccidium of chickens. *Veterinary Parasitology* 2006; 135: 15–23.
- 40.- Yadav A, Gupta SK. Study of resistance against some ionophores in *Eimeria tenella* field isolates. *Veterinary Parasitology* 2001; 102: 69–75.
- 41.- Williams RB. Fifty years of anticoccidial vaccines for poultry (1952-2002) *Avian Diseases* 2002; 46 (4): 775-802.
- 42.- Inducción de inmunidad frente a infección por *Eimeria tenella*, *Eimeria maxima* y *Eimeria acervulina* utilizando exosomas derivados de células dendríticas. Trabajo de Investigación presentado al premio Enrique Coris Gruart. Modalidad de Sanidad Animal. Convocatoria 2012.
- 43.- Allen PC, Fetterer RH. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical Microbiology* 2002; 15: 58-65.
- 44.- Williams RB. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. *Avian Pathology* 2002; 31: 317-353.
- 45.- Turner JL, Dritz SS, Minton JE. Review: alternatives too conventional antimicrobials in swine diets. *Professional Animal Scientific* 2001; 17: 217-226.
- 46.- Khachatourians GG. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistance bacteria. *Can Med Association Journal*. 1998; 159: 1129-1136.
- 47.- Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52: 150-161.
- 48.- Kim YY, Kil DY, Oh HK, Han IK. Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. *Asian-Aust Journal of Animal Sciences* 2005; 18: 1048-1060

- 49.- Flickinger EA, Van Loo J, Fahey GC. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: a review. *Food Science Nutrition* 2003; 43: 19-60.
- 50.- Kritas SK, Morrison SB. Evaluation of probiotics in a large pig nursery. *Veterinary Research* 2005; 56: 447-448.
- 51.- Windisch WM, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*. 2008; 86: E140-E148
- 52.- Cook ME. Antibodies: alternatives to antibiotics inn improving growth and feed efficiency. *Applied Poultry Research* 2004; 13: 106-119.
- 53.- Xu et al. Applicatios of chicken egg yolk immunoglobuins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. *Biotechnology Advances* 2011; 29: 860-868.
- 54.- Kuhlman et al. Chicken egg antibodies for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases I. Immunization and antibody determination. *Journal of Veterinary Medicine* 1988; 35: 610-616.
- 55.- Carlander D, Kollberg H, Wejaker PE, Larsson A. Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunology research* 2000; 21: 1-6.
- 56.- Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. Henn egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. *Biotechnology and Agronomy Society Environmental* 2009; 13: 295-308.
- 57.- Dias da Silva W, Tambourgi DV. IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2010; 135: 173-180.
- 58.- Schade R., Hlinak A. Egg yolk antibodies, state of the art and future prospects. *ALTEX* 1996; 13: 5-9.
- 59.- Akita EM, Nakai S. Immunoglobulins Fromm egg yolks: isolation and purification. *Journal of Food Science* 1992; 57: 629-634.
- 60.- Mine Y, Kovacs-Nolan J. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: a review. *Journal of Medicine and Food* 2002; 5: 159-169.
- 61.- Hatta et al. Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. *Caries Research* 1997; 31: 268-274.

- 62.- Silversides FG, Remus J, Newcombe M. Betaína, coccidiosis y coccidiostatos en avicultura. 2010. Disponible en: [http://www.porcicultura.com/avicultura/home/articulos\\_int.asp?cve\\_art=565](http://www.porcicultura.com/avicultura/home/articulos_int.asp?cve_art=565) Citado el 13 de octubre de 2013.
- 63.- Kidd, M. T., P. R. Ferdet, and J. D. Garlich, 1997. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. *Worlds Poultry Science Journal* 53:125-139.
- 64.- Waldenstedt L, Elwinger K, Thebo P, Uggla A. Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. *Poultry Science* 1999; 78:182-189.
- 65.- Zekaria D. Los aceites esenciales: una alternativa a los antimicrobianos. Laboratorios Carier, 2008.
- 66.- Deans SG, Ritchie G. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 1987; 5: 165-180.
- 67.- Oviedo-Rondón EO, Clemente-Hernández S, Salvador F, Williams P, Losa R. Essential oils on mixed coccidia vaccination and infection in broilers.. *International Journal of Poultry Science* 5 (8): 723-730. 2006
- 68.- Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamon aldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifer fed a high-concentrated diet. *Journal of Animal Science* 2006; 84: 2801-2808.
- 69.- Giannenas I, Florou PP, Papazahariadou M, Christaki E, Bostoglou NA, Spais AB. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch Tierernahr* 2004; 57: 99-106.
- 70.- Al ZIA . Effect of leaves extract of *Carica papaya*, *Vernonia amigdalina* and *Azadirachta indica* on the Coccidiosis in Free-range Chickens. *Asian Journal of Animal Sciences* 2007; 1: 26-32
- 71.- Tlahuac.df.gob.mx. Distrito Federal: Delegación Tláhuac [actualizado en 2010; citado en 19 de febrero de 2013]. Disponible en [www.tlahuac.df.gob.mx](http://www.tlahuac.df.gob.mx)
- 72.- Lee SH, Lillehoj HS, Park DW, Jang SI, Morales A, García D, Lucio E, Larios R, Victoria G, Marrufo D, Lillehoj EP. Inducción de inmunidad pasiva contra *Eimeria avervulina* en pollos de engorda por medio de inmunoglobulinas de yema de huevo. *Poultry Science* 2009; 88: 562-566.
- 73.- Cuca GM, Ávila GE, Pro MA. Alimentación de las aves. Texcoco: Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario. Departamento de Zootecnia, 2009.

- 74.- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Unidades de Producción de Pollo de Engorda. SENASICA-SAGARPA 2009; 1: 20-23
- 75.- Aviagen. Manual de manejo de pollo de engorde Ross. Aviagen 2009: 16-38.
- 76.- Quintana JA. Avitecnia. Manejo de las aves domésticas más comunes. Trillas 4ª ed. 2011, México.
- 77.- World Organisation for Animal Health. Manual de la OIE sobre animales terrestres. OIE 2008: 4
- 78.- Leary S, Underwood W, Anthony R, Cartner S, Corey D, Grandin T et al. Guidelines for the Eutanasia of Animals: 2013 Edition. Schaumburg: American Veterinary Medical Association, 2013: 38.
- 79.- Norma Oficial Mexicana: NOM-033-ZOO-1995
- 80.- Johnson, Reid. Anticoccidials Drugs: Lesion Scoring Techniques in Battery and Floor-Pen Experiments with Chickens Experimental Parasitology 1970; 28: 30-36.
- 81.- Lee et al. Comparison of live Eimeria vaccination with in-feed salinomycin on growth and immune status in broiler chickens. Research in Veterinary Science 2013, 95: 110-114.
- 82.- Juárez et al. Efecto de una vacuna anticoccidial sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos de pollos de engorda Revista Veterinaria México 38 (3) 2007: 303-318.
- 83.- Evans NR. Coccidiosis control in chickens using a live attenuated vaccine. Experimental Studies. Proceedings of the Vth International Coccidiosis. Institute National de la Recherché Agronomiqué, France, 1989.
- 84.- Tamasaukas R. Evaluación de la eficacia de una vacuna trivalente de cepas atenuadas de Eimeria spp para el control de la coccidiosis aviar en sistemas de producción con pollos de engorde. 2002. Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, CENIAP-INIA. Revista Científica Vol. XII-Suplemento 2, Venezuela.
- 85.- GQ, S Kanu, SM Xiao FY. Responses of chickens vaccinated with a live attenuated multivalent ionophore-tolerant Eimeria vaccine. Veterinary Parasitology 2005; 129 (3-4): 179-186.
- 86.- Vicente SJL. Pigmentación en la industria avícola. En Serrano AR y Hernández VX. Sistemas de producción animal I: Aves Vol. I México: FMVZ-UNAM, 2005
- 87.- Blentner JK Mitchell RP: Tugwell RL. The effect of Eimeria maxima on broiler pigmentation. Poultry Science 1966; 45: 689-694.



88.- Lee SH, Lillehoj HS, Park DW, Jang SI, Morales A, Garcia D, Lucio E, Larios R, Victoria G, Marrufo D, Lillehoj EP. Protective effect of hyperimmune egg yolk IgY antibodies against *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima*. *Veterinary Parasitology* 2009; 163: 123–126.

89.- Assis et al. Histomorphometry and microscopic intestinal lesion in broilers infected with *Eimeria acervulina*. *Veterinary Parasitology* 2010; 168: 185-189.

90.- El-Banna et al. Anticoccidial efficacy of drinking water soluble Diclazuril on experimental and field coccidiosis in broiler chickens. *Journal of Veterinary Medicine* 2005; 52: 287-291.

91.- Amer et al. The efficacy of Diclazuril (liquid formulation) in the prevention and control of coccidiosis in broiler chicken. *BS Veterinary Medicine Journal. 5th Scientific Conference* 2007; 96-101.