

01621
68



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE UN COMPLEJO ENZIMÁTICO (amilasa, xilanasas
y proteasa) Y HARINA DE *Aspergillus* spp., EN LA RESPUESTA A
LA COCCIDIOSIS AVIAR**

T E S I S

**que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista**

Presenta:

Agustín Horacio Peña Romero

Asesores:

MVZ MC Marco Antonio Juárez Estrada

MVZ MC Rubén Merino Guzmán



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

PAGINACION DISCONTINUA

El presente artículo se refiere a la paginación discontinua, un tipo de paginación que se utiliza en algunos libros y documentos para facilitar la navegación entre secciones o capítulos que no están necesariamente consecutivos en el índice. Este tipo de paginación permite que el lector encuentre rápidamente la información que necesita, sin tener que pasar por todas las páginas de un capítulo o sección.

DEDICATORIA

A mi padre Andrés N. Peña Hinojosa, por su ejemplo, y dedicación, que marco mi vida por el camino del bien.

A mi madre Ma. Esther Romero Trejo, que ha estado conmigo siempre en cuerpo y alma en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis hermanos Andrés y José Antonio que me han apoyado en todo momento, sea para bien o para mal.

A mis tíos Noemí y Lauro que gracias a su apoyo hoy obtengo un sueño y que ellos son parte importante del mismo.

Al Ing. Rodolfo J. Guerrero Zúñiga, que con su ejemplo de honestidad y perseverancia marco en mi la forma de conseguir mis objetivos y metas.

A mi esposa Ivette y a mis hijos Néstor Alexis y Katia Esmeralda, que son la motivación de mis sueños y mis logros.

A todas las personas que estuvieron apoyándome en el transcurso de mi educación mis tíos, primos, sobrinos, amigos, conocidos que confiaron en mi para la culminación de este proyecto.

Esta tesis se las dedico a todos ustedes.....

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia por haber sido participe de mi formación profesional.

Al Departamento de Producción Animal: Aves, por permitirme establecer el vinculo entre la aprendido y lo aplicable en el desarrollo de mi profesión.

Al Dr. Guillermo Téllez Isaías por su apoyo dentro y fuera del departamento, como ejemplo de perseverancia.

Al Dr. Gerardo Manuel Nava Morales, por su amistad y ejemplo de dedicación y apoyo en la elaboración del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Néstor Ledesma Martínez por sus consejos y atención prestada al trabajo realizado.

En especial quiero agradecer al Dr. Marco Antonio Juárez Estrada, por que más que un profesor o tutor es un amigo al que admiro y respeto.

A mi jurado le agradezco las formas y comentarios que me servirán para mi mejor desempeño en la vida profesional.

A Químicos Agropecuarios S.A. de C.V. México.

A Pet Ag Inc, Hampshire IL USA.

A la Fundación Dr. Elías J. Brito.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	19
CONCLUSIONES.....	33
LITERATURA CITADA.....	34
ANEXOS.....	40
TABLAS.....	41
FIGURAS.....	46

RESUMEN

PEÑA ROMERO AGUSTÍN HORACIO. Evaluación de un complejo enzimático (amilasa, xilanasa y proteasa) y harina de *Aspergillus* spp., en la respuesta a la coccidiosis aviar (bajo la asesoría de Marco Antonio Juárez Estrada y Rubén Merino Guzmán).

Con la finalidad de evaluar la harina de *Aspergillus* spp., (HA) o un complejo enzimático (CE) ante un desafío con *Eimeria* spp., se efectuó un experimento con pollos de engorda de un día de edad criados en baterías eléctricas. Se utilizaron cuatro grupos de 25 pollos con una réplica por grupo. El grupo uno fue el testigo negativo al desafío únicamente recibió la dieta base (DBT) (con 60% de trigo), al grupo dos en la DBT se le agregó 0.2 % de HA, el grupo tres recibió la DBT con 0.1% de CE y el grupo cuatro con la DBT fue el testigo positivo al desafío. Al día trece de edad los grupos 2, 3 y 4 recibieron un desafío con *Eimeria acervulina* (5×10^4), *E. maxima* (2×10^3) y *E. tenella* (2×10^4)/ml/ave. A los 5, 12, 19 y 26 días de edad se pesaron todas las aves. El día 20 y 26 se midió el pH del ileon y sacos ciegos. En estas fechas se determinó el número más probable de enterobacterias coliformes, hongos-levaduras, enterobacterias no coliformes y clostridios presentes en el intestino. Al día 26 se efectuó una cuantificación hemática. Al día 15 y 22 se midió el tiempo de tránsito gastrointestinal (TTG). Los días 20 y 26 se pesó el tracto intestinal completo (PTC). Al día 21 se efectuó la calificación de lesiones de coccidia y la cuantificación de oocistos en heces. Existió únicamente diferencia de peso al día 26, el grupo dos (con HA) fue el más pesado. El pH fue más alcalino en el grupo con HA y en el grupo testigo positivo comparado con el pH del grupo CE o el del testigo negativo. Al día 20 de edad el grupo HA mostró mayor proliferación bacteriana, sin embargo, al día 26 de edad el grupo CE presentó una gran cantidad de *Clostridium* spp. Este mismo grupo presentó mayor porcentaje de lisis leucocitaria. No hubo diferencia en TTG. El grupo CE presentó menor PTC al día 20 de edad, al día 26 no hubo diferencia. Los grupos HA y CE presentaron mayor grado de lesiones por coccidia que el grupo testigo positivo. Estos dos grupos presentaron una mayor cantidad de oocistos eliminados en heces. La harina de *Aspergillus* spp., ejerció un efecto fisiológico benéfico sobre el tracto gastrointestinal, el cual no se alteró por el desafío con las coccidias patógenas. Después del desafío la HA protegió contra los efectos detrimentales inducidos por *Clostridium* spp. El complejo enzimático en dietas con 60% de trigo no protege contra un desafío moderado de coccidias patógenas, potencialmente puede inducir enteritis necrótica.

INTRODUCCIÓN

La coccidiosis aviar afecta seriamente los parámetros productivos de una parvada, causa retraso en el crecimiento, baja la conversión alimenticia y ocasiona un pobre rendimiento a la finalización, con pérdidas económicas graves.¹ La coccidiosis es causada por un protozoo intracelular perteneciente a diferentes especies del género *Eimeria*.² La enfermedad se previene eficazmente con la inclusión de drogas anticoccidianas en la dieta.³ Sin embargo, se ha observado que pueden ocurrir problemas de coccidiosis subclínica en condiciones ambientales nocivas, por ejemplo: cama húmeda, altas temperaturas, sobrepoblación y otros errores de manejo^{1,2}.

La enteritis necrótica (EN) es una enfermedad enterotoxémica causada por *Clostridium perfringens* de los tipos A y C.⁴ Su patogénesis se caracteriza por la proliferación de *C. perfringens* en las vellosidades intestinales del duodeno, yeyuno e ileon. La producción de toxinas α y β conducen al desarrollo de lesiones necróticas en la pared del intestino, así como a un aumento de la mortalidad.⁴ *C. perfringens* es un colonizador habitual del tracto intestinal, se menciona que llega a ser parte de hasta el 30% de la microbiota que normalmente se encuentra en el tracto digestivo de las aves sanas.⁴ Si bien las condiciones que conducen al desarrollo de EN no se encuentran aún bien dilucidadas, se ha observado que las enfermedades entéricas primarias, como la disbiosis y la coccidiosis predisponen a la EN.⁵

Algunos otros factores que predisponen a la presentación de EN descritos en la literatura son la utilización de dietas ricas en Polisacáridos no amiláceos viscosos y solubles (PNAV), como los que contienen el trigo, la cebada y la avena.^{6,7} La EN puede prevenirse eficazmente si se impide la proliferación de *C. perfringens* y al mismo tiempo se logra mantener la integridad de la mucosa intestinal.^{5,8} La coccidiosis puede llegar a afectar ésta integridad intestinal debido a las lesiones que produce^{9, 10, 11, 12}. En este caso, una rápida recuperación es crítica para prevenir infecciones secundarias^{10, 13, 14}.

Actualmente el uso de ionóforos poliésteres en el alimento de las aves domésticas es la medida más efectiva para el control de coccidias y clostridios durante la crianza. Los coccidiostatos del tipo ionóforo tienen un efecto antibacteriano importante especialmente contra bacterias Gram-positivas (como *Clostridium perfringens*), además poseen un efecto

de promoción del crecimiento en las aves domésticas, siempre y cuando haya ausencia de los parásitos del tipo *Eimeria* spp., este efecto posiblemente se debe a la reducción de la carga bacteriana.¹⁵

El efecto antibacteriano de los coccidiostatos de tipo ionóforo es de sobremanera importante si en el alimento no se están utilizando aditivos antibacterianos (Ej. bacitracina, avoparcina, avilamicina, flavomicina, etc.), este tipo de aditivos de naturaleza antibiótica se ha empleado en la industria del pollo de engorda por lo menos durante 50 años y consecuentemente ha habido poco interés o poca necesidad de efectuar estudios sobre el desarrollo inicial de la microbiota intestinal de las aves domésticas bajo estas circunstancias.^{13,14,15}

El incremento de bacterias del género *Clostridium* spp., en el intestino se encuentra correlacionado negativamente con la ganancia de peso, sin embargo, actualmente esta apreciación se mantiene en duda y no se encuentra aún bien esclarecido si algún método de sustitución del efecto de promoción de crecimiento y antibacteriano ejercido por parte de los ionóforos va a ser compensado satisfactoriamente por estas nuevas metodologías. Por lo cual, es una necesidad urgente incrementar nuestros conocimientos acerca de la influencia de varios nutrientes, aditivos y estrategias de manejo sobre el desarrollo de una microbiota balanceada en el intestino de las aves domésticas.^{15,16}

Ante la posible e inminente futura revocación del uso de los anticoccidianos de tipo antibiótico-ionóforo del alimento bajo la presión de las legislaturas de varios países incluyendo la WHO, debe considerarse la sustitución de estos productos en su efecto anticoccidiano y anticlostridial, por métodos alternativos que sean por lo menos igual o más efectivos que el que poseen los ionóforos actualmente.¹⁶

Los recientes hallazgos sobre los beneficios de las dietas funcionales en humanos han orientado a formular el concepto de que la dieta modula varias funciones importantes del organismo, modificando el antiguo concepto de la nutrición, el cual definía que los principales objetivos de una dieta eran que además de proporcionar los nutrientes necesarios para el desarrollo de los individuos, ésta no debía tener efectos fisiológicos adversos. Concepto que recientemente ha cambiado, ya que la dieta además de cubrir

estos dos importantes aspectos debe promover también el bienestar, una mejor salud y disminuir la incidencia de enfermedades de origen gastrointestinal.^{13,14}

Si bien este concepto se ha desarrollado recientemente, ya existían precedentes de esta aseveración, el mismo padre de la medicina moderna, Hipócrates, resumía toda su obra médica en la premisa "Que tu alimento sea tu medicina". Lo cual indica que el retorno a esta conceptualización clásica de más de 2,300 años no se encuentra errada, si no más bien se trata de un redescubrimiento afortunado.

Los alimentos funcionales son dietas con la apariencia de un "alimento tradicional o estándar" que son consumidas como parte de una dieta normal, pero se han adaptado mediante diversas estrategias para proporcionar beneficios fisiológicos adicionales.^{14,17}

Para que un alimento pueda ser clasificado como funcional debe cumplir con al menos uno de los dos siguientes criterios, que alguno de sus componentes alimenticios (nutriente o no) genere efectos benéficos en una o varias funciones del organismo o bien que genere un efecto fisiológico, más allá del efecto nutricional tradicional.^{18,19} Algunas estrategias que se emplean actualmente para el desarrollo de alimentos funcionales incluyen la utilización de probióticos, los cuales son microorganismos vivos que proporcionan un efecto benéfico para el huésped. Las investigaciones más recientes se encuentran enfocadas a la selección de probióticos con funciones específicas. Otra estrategia es el empleo de prebióticos, los cuales son ingredientes o componentes de la dieta que tienen un efecto benéfico específico sobre la microbiota intestinal. La combinación de probióticos y prebióticos, llamada simbióticos es otra estrategia que abordan los alimentos funcionales.

El desarrollo de alimentos funcionales se ha basado en la adición de ingredientes específicos que se encuentran dirigidos a ejercer acciones específicas. Los más utilizados son la inclusión de ácidos grasos omega-3, ácidos grasos poli insaturados y enzimas específicas (Fitasas, amilasas, xilanasas, proteasas).^{17,18,20,21,22,23,24} Entre los beneficios más importantes que proporcionan los alimentos funcionales en el organismo, se encuentra la regulación de la función gastrointestinal, dentro de la cual se incluye el control del tiempo de tránsito gastrointestinal, la modificación de la microbiota nativa intestinal (MNI), la modulación de la motilidad y la proliferación celular de la mucosa

intestinal, la modificación en la actividad inmunológica intestinal, además de la regulación de la función endocrina del tracto intestinal, se considera importante también cierto grado de acción sobre algunas funciones sistémicas que podrían ser la clave para el desarrollo de este tipo de alimentos.^{22,23,24,25,26,27,28} Sin embargo, el papel de los prebióticos, probióticos y simbióticos en la nutrición animal, aún requiere ser estudiado con profundidad con la finalidad de entender el balance que existe entre la MNI y el bienestar del huésped; además de considerar como participa ésta en el metabolismo del consumidor bajo condiciones normales o bien bajo el contexto de dietas que inducen estrés por sus componentes (40-60% de trigo) o bien ante la presencia de desafíos constantes con coccidia.⁴

El uso indiscriminado de los antibióticos y el incremento de patógenos bacterianos multi-resistentes, ha incrementado el interés por la utilización de los alimentos funcionales como una alternativa conjunta a la terapia antimicrobiana. El tema acerca de la nutrición eco-inmune (conocidos como nutracéuticos en E.U.A., y como alimentos funcionales en la unión europea) ha surgido como una herramienta nueva y alterna en el tratamiento post-operatorio de pacientes humanos intervenidos quirúrgicamente o que necesitan recobrar su microbiota nativa intestinal después de una prolongada terapia con antibióticos.^{26,27}

La utilización de los alimentos funcionales se ha incrementado en los últimos años, por lo cual el uso de bacterias ácido lácticas empleadas para la elaboración de este tipo de alimentos representa hasta el 25% de los componentes de la dieta humana. La complementación de la dieta con este tipo de microorganismos benéficos, no solo se ha empleado en alimentación humana, sino también para la producción animal.^{16,28}

A través de la alimentación se pueden emplear diferentes métodos e ingredientes que ayudan a madurar el tracto gastrointestinal y contribuyen a un rápido establecimiento de la microbiota benéfica del ave durante los primeros días de vida con la finalidad de evitar la proliferación de agentes patógenos.^{21,22,23,24}

Además existen diferentes suplementos que pueden añadirse a la dieta para ayudar a una rápida recuperación de la mucosa.^{21,22,23,24,25,29} Entre estos se encuentran los promotores de crecimiento antimicrobianos (PCAM), los anticoccidiales ionóforos, los prebióticos, los probióticos, las fibras dietéticas, los complejos enzimáticos y también

materias primas muy digestibles con bajo o casi nulo contenido de factores anti nutricionales.^{22,24,28}

Los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGCC) tienen un efecto regenerador sobre la mucosa en algunos mamíferos; el butirato es más efectivo que el acetato o el propionato.²⁵ Otros ingredientes que pueden utilizarse para regenerar la mucosa son la glutamina, los fosfolípidos de membrana que interactúan con la capa de *mucus* intestinal, y algunos probióticos, especialmente los *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium* spp., *Streptococcus* spp., y *Bacillus* spp. Estos probióticos son a la vez fermentadores y productores de AGCC.^{22,23,25,26,29,30}

Se ha descrito que la exclusión competitiva (EC) previene la colonización de patógenos mediante el establecimiento primario de microorganismos benéficos.^{23,25,26,30} El uso de probióticos en pollos de un día de edad para obtener la exclusión de *Salmonella* spp en ciegos, se ha convertido en una práctica habitual en las granjas avícolas.^{5,31,32} Frente a la inminente prohibición de los antibióticos como promotores de crecimiento, ésta práctica constituye una opción que requiere validarse con pruebas experimentales en unidades aisladas y de campo. Aunque existe poca información sobre el efecto profiláctico de los probióticos adicionados a las dietas de pollo de engorda sobre enfermedades como la salmonelosis, coccidiosis o enteritis necrótica, se ha observado en cambio algunos efectos favorables sobre el crecimiento¹⁴.

Un problema práctico ha sido combinar el uso de probióticos en el alimento con la aplicación de tratamientos antibióticos o desinfectantes contra *Salmonella* spp. Por lo cual una alternativa actual es la utilización de prebióticos como la lactosa o los fructo-oligosacáridos.^{10,23,24,32,33,34}

El término prebiótico fue introducido por Gibson y Roberfroid en 1995,³³ para describir a los suplementos alimenticios que no son digeribles por el hospedador y que generan efectos benéficos para la salud, al estimular selectivamente el desarrollo o la actividad de una o varias bacterias en el tracto intestinal.³³ Para que un ingrediente alimenticio pueda ser clasificado como prebiótico, debe cumplir con algunos requisitos básicos, como el no ser hidrolizado o absorbido por el tracto intestinal, debe además constituir un sustrato selectivo para una o varias bacterias benéficas habitantes del tracto

intestinal, estimulando la proliferación y el metabolismo de las mismas y el aumento en la actividad de la microbiota intestinal, además debe ser benéfico para el huésped.^{21,22}

Las bacterias suplementadas con un sustrato específico (prebiótico), presentan como ventaja mayor proliferación, sobre todo al compararlas con el resto de las bacterias del tracto intestinal. Estudios *in vitro* e *in vivo* con prebióticos, han mostrado que algunos de estos tienen actividad bifidogénica, capacidad para reducir el pH del contenido intestinal, incrementar la producción de ácidos grasos volátiles, favorecer la síntesis de metabolitos bacterianos y restaurar la ecología intestinal en los individuos. Además, tienen la capacidad de regular el desarrollo de la mucosa intestinal.^{17,22,23,24,26,32,34,35}

Los mecanismos por los cuales los alimentos suplementados con prebióticos afectan a la microbiota del tracto intestinal, no han sido analizados a fondo, sin embargo, entre los efectos observados son importantes la promoción del desarrollo de microbiota benéfica; la producción de sustancias antibacterianas (bacteriocinas) por la microbiota que además tiene un importante efecto sobre el control de enterobacterias patógenas; estimulan un rápido establecimiento de la respuesta inmune (títulos de anticuerpos, actividad de macrófagos, células T, interferón, interleucinas, placas de Peyer) en contra de enterobacterias, virus y parásitos patógenos intestinales; compiten por receptores de la mucosa intestinal para la adhesión bacteriana; mantienen la integridad de la mucosa intestinal; reducen el fenómeno de translocación bacteriana; hay mayor competencia por nutrientes y factores de crecimiento bacterianos en el intestino; modifican los nutrientes de la dieta por la microbiota intestinal, por ejemplo, disminuyen el hierro disponible; modifican la actividad enzimática, a nivel de la mucosa intestinal influyen en la permeabilidad del glicocalix, efectúan una destrucción directa de carcinogénicos como las nitrosaminas con reducción de nitroreductasas las cuales son enzimas que favorecen la producción de nitrosaminas; suprimen a las bacterias productoras de β -glucosidasa, β -glucuronidasa y azoreductasa, las cuales catalizan la conversión de procancerinógenos a carcinogénicos; eliminan sustancias tóxicas a nivel intestinal; aumentan el tiempo de tránsito gastrointestinal; favorecen el metabolismo de lípidos; disminuyen el número de células intestinales aberrantes; favorecen la absorción de minerales y reducen el riesgo a enfermedades crónicas (osteoporosis, aterosclerosis).^{5,13,14,17,18,19,20,21,22,23,24,26,27,33,35} De hecho, actualmente en la nutrición infantil humana se esta utilizando el producto conocido como leche en polvo con "prebio" (Nestlé S.A. de C.V.), lo cual muestra el beneficio que

ofrece este tipo de productos sobre la nutrición general de los organismos vivos superiores y la importancia de saber más de ellos por medio de la investigación.

La principal función de los prebióticos es servir como sustrato a los microorganismos benéficos específicos del tipo de los probióticos, lo cual permite que se establezcan y perduren en el tracto gastrointestinal la mayor parte de la vida productiva del ave.^{20,21,22,23,24,25,27,33,36} Diversos estudios han mostrado que la adición de lactosa a la dieta disminuye la colonización gastrointestinal de *Salmonella* spp²² y *Campylobacter* spp., incluso después de un brote de coccidiosis.^{9,10} La harina de *Aspergillus* spp es un producto de la fermentación primaria de una cepa no tóxica de éste hongo y se ha utilizado desde hace más de 20 años como un promotor de crecimiento. El perfil en la composición de este producto es único, ya que contiene aproximadamente 12% de proteína con 45% de fibra, esta fibra no es de origen vegetal, tiene una estructura de fibra micelial, la cual actúa como un catalizador para el crecimiento de bacterias benéficas. Éste compuesto inocuo proporciona el sustrato para la proliferación de bacterias del tipo de los *Lactobacillus* spp., en el tracto gastrointestinal de animales monogástricos, por lo cual su acción se define como de tipo prebiótico.^{5,14,19,20,21,33}

En enfermedades intestinales como la coccidiosis aviar la absorción de lípidos es la que más se afecta.^{11,12} Entre las medidas a considerar para aliviar los efectos adversos de un problema de ésta índole se encuentra la utilización de dietas altas en carbohidratos y bajas en grasa, la inclusión de fuentes de energía más digeribles como los aceites poliinsaturados, fuentes ricas en ácidos grasos omega-3 y la adición de complejos enzimáticos a la dieta.^{11,14,34,36,37,38} Los complejos enzimáticos se encuentran integrados por diferentes tipos de enzimas exógenas (arabinoxilanasas, β -glucanasas, α -amilasas, etc.) que degradan sustratos específicos y para los cuales las aves no tienen la capacidad de degradar efectivamente.^{37,38}

Se ha descrito que la utilización de ingredientes con un alto contenido de PNAV aumenta la susceptibilidad de las aves a enfermedades intestinales como la coccidiosis o la EN^{7,9,12}. Los PNAV posiblemente modifican la morfología y consecuentemente la fisiología de la mucosa intestinal, lo cual posiblemente puede evitarse mediante la adición de enzimas exógenas como son amilasas, gluconasas, pentosanasas, xilanasas y proteasas.^{14,37,38,39}

Aunque posiblemente algún día se lleguen a utilizar alimentos dietéticos diseñados para promover la resistencia inespecífica, estimular la inmunidad y prevenir enfermedades gastrointestinales, no es posible esperar que estas medidas sean suficientes en parvadas de aves susceptibles a diversas enfermedades.^{14,15} Por lo cual se requiere investigar más profundamente los aspectos relacionados a la fisiopatología de las enfermedades intestinales de las aves, con la finalidad de determinar su participación tanto en procesos digestivos benéficos como adversos y seleccionar así el alimento más adecuado.

HIPÓTESIS

- La utilización de un prebiótico elaborado con base a harina de *Aspergillus* spp. (Fermacto®), en la dieta de pollos de engorda disminuye los efectos detrimentales ocasionados en las aves cuando son desafiadas con coccidias patógenas.

- El empleo del complejo enzimático que incluye amilasa, xilanasa y proteasa (Avizyme®) en la dieta de pollos de engorda ayuda a resolver el impacto detrimental ocasionado en las aves cuando son desafiadas con coccidias patógenas.

OBJETIVOS

- Conocer la respuesta y efecto sobre la microbiota intestinal de pollos de engorda ante un desafío con cepas de coccidia patógenas, cuando se les administra en el alimento un prebiótico del tipo de la harina de *Aspergillus* spp. (Fermacto®).
- Determinar la respuesta y efecto sobre la microbiota intestinal de pollos de engorda cuando se desafían con cepas patógenas de coccidia y se les administra un complejo enzimático (Avizyme®).
- Evaluar la incidencia de enteritis necrótica en pollos de engorda cuando se desafían con cepas patógenas de coccidia y se les administra un alimento con alta inclusión de trigo, un prebiótico del tipo de la harina de *Aspergillus* spp. (Fermacto®), o un complejo enzimático (Avizyme®).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de experimentación: Se utilizaron doscientos pollitos de engorda mixtos Ross x Ross de un día de edad, provenientes de una incubadora comercial, se alojaron aleatoriamente en una batería eléctrica (Petersime®), ubicada en el interior de una unidad de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., se mantuvieron en condiciones de manejo y bienestar de acuerdo a la NOM-069-ZOO-1999.

Aislamiento de coccidias patógenas: El inóculo parasitario de desafío empleado para cada ave estuvo compuesto de *Eimeria acervulina* (5×10^4), *E. maxima* (2×10^3) y *E. tenella* (2×10^4) /ml. Este aislamiento produce únicamente signos de leve a moderados de la enfermedad, sin embargo, es suficiente para reproducir las condiciones de campo de tipo subclínico de ésta enfermedad semejantes a las que se encuentran expuestas las aves comerciales que se mantienen durante el periodo de crianza con un desafío constante de oocistos de *Eimeria* spp.

Aditivos alimenticios: El prebiótico se incluyó al 2.0% en la dieta base, el producto empleado consistió de harina de *Aspergillus* spp (Fermacto®), la cual es un producto de la fermentación primaria de una cepa no tóxica de éste hongo. Contiene aproximadamente 12% de proteína y 45% de fibra, la cual es de origen micelial y no vegetal. El complejo enzimático (Avizyme®) se utilizó al 1.0% de inclusión total en la dieta base, se encuentra integrado por diferentes tipos de enzimas como son la amilasa, la xilanasas y la proteasa.

Diseño experimental: Cuatro grupos de 25 aves cada uno (con 2 réplicas para contabilizar un total de 200 aves) se alimentaron con una dieta base isocalórica e isoproteica que contenía una alta inclusión de trigo (60%) (Anexo 1). El grupo uno fue considerado como el grupo testigo negativo, ya que no se desafío con el inóculo de coccidias patógenas. El grupo dos contenía adicional a la dieta base un 0.2% de harina de *Aspergillus* spp. (Fermacto®). El grupo tres contenía en la dieta base adicionalmente un 0.1% de complejo enzimático (Avizyme®). El grupo cuatro se consideró como el grupo testigo positivo, ya que no recibió ningún tipo de suplemento y únicamente se desafío con las coccidias patógenas. Los grupos 2, 3 y 4 fueron desafiados *per os* al día 13 de edad con el inóculo parasitario anteriormente descrito, la fecha seleccionada para el desafío

corresponde al punto de ascenso en la campana de desafío coccidiano de los pollos de engorda criados en condiciones comerciales.^{1,2,3} El grupo uno en la misma fecha solo recibió *per os* solución tampón inocua (PBS estéril).

Tiempo de tránsito gastrointestinal (TTG): Este parámetro se midió al tomar la diferencia en tiempo (minutos) existente entre el tiempo inicial de la administración *per os* de un agente marcador (cápsula de gelatina de óxido férrico a dosis de 200 mg/kg de peso vivo) y su posterior aparición en heces. Se efectuaron dos lecturas al día 15 y al día 22 de edad, para lo cual diez aves (dos réplicas de cinco aves) por tratamiento fueron colocadas en una jaula limpia. Las aves fueron privadas de alimento una hora antes de iniciar la lectura que se reporta en media de minutos \pm desviación estándar.

Peso de las aves (PA): Todas las aves de los cuatro grupos se pesaron al día 5, 12, 19 y 26 con una báscula granataria con rangos de un gramo (Sartorius®), los pesos expresados en gramos se registraron cada día de evaluación.

Peso total del intestino (PTI): A cada grupo (una réplica de 25 aves cada vez) se les efectuó la eutanasia al día 20 y 26 de edad por medio de dislocación cervical en menos de 20 segundos de acuerdo con lo indicado en el reporte del panel sobre eutanasia organizado por la asociación americana de medicina veterinaria (AVMA por sus siglas en inglés).⁴⁰ Para obtener el peso total del intestino, éste fue seccionado a nivel de píloro y coprodeo, se pesó con todo y contenido, el peso total se determinó con una báscula electrónica (Ohaus®) con rangos de un gramo.³⁹

Calificación de lesiones y cuantificación de oocistos: Al día 20 de edad, veinticinco aves de cada grupo fueron sacrificadas humanitariamente.⁴⁰ las lesiones por coccidia en el intestino fueron calificadas de acuerdo con la escala de Jhonson y Reid³. Los oocistos presentes en las heces recolectadas, a partir de cada réplica durante el transcurso de 24 horas, se cuantificaron de acuerdo con lo descrito por Long *et al*.²

Medición del pH de contenido intestinal: Al día 20 y 26 de edad, diez aves por grupo se utilizaron para determinar el pH de ileon y saco ciego. Después de la dislocación cervical de las aves, la lectura del pH del contenido intestinal se efectuó insertando un electrodo

de cristal⁶ dentro del saco ciego e ileon para que tuviera contacto directo con el contenido intestinal. Las lecturas se efectuaron alternadamente entre grupos y se requirió al menos de un minuto por muestra. Entre lectura y lectura, el electrodo fue lavado con agua destilada y se recalibró con buffer neutro.³²

Aislamiento y cuantificación del número más probable de unidades formadoras de colonia de microorganismo intestinales anaerobios: Para la cuantificación del número mas probable (NMP) de microbiota intestinal anaerobia, a partir de cinco aves sacrificadas por grupo, al día 20 y 26 de edad respectivamente se obtuvo un gramo de contenido intestinal a partir de tracto digestivo y sacos ciegos, el cual fue diluido en nueve ml de solución amortiguada de fosfatos reducida en una cámara de anaerobiosis. Se realizaron diluciones décuples seriadas y se cultivó en placas de agar *Reinforced Clostridium Medium Enriquecido*, medio de cultivo formulado para cultivar microorganismos anaerobios. Las placas de agar fueron incubadas 72 horas a 37°C bajo condiciones de anaerobiosis.⁴ Los medios de cultivo fueron examinados y las diferentes colonias de distintos tipos fueron cuantificadas, el total de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de ileon se reporta como media \pm desviación estándar.^{41,42,43}

Aislamiento y cuantificación del número más probable de unidades formadoras de colonia de microorganismos intestinales aerobios.- Para determinar el NMP de microbiota intestinal aerobia, 1 g de contenido intestinal fue diluido en caldo tioglicolato (Bioxon México, Oaxaca; México) se realizaron diluciones décuples seriadas y se cultivó en medios específicos para cada género bacteriano. Para el aislamiento de enterobacterias coliformes se utilizó agar McConkey (Acumedia, Baltimore; USA). Se empleó agar Tergitol 7 (Difco, Detroit; USA) para el aislamiento de enterobacterias no coliformes y agar SPS (Difco, Detroit; USA) para el aislamiento de *Clostridium* spp. El agar Sabouraud dextrosa (Difco, Detroit; USA) se utilizó para el aislamiento y cuantificación de hongos y levaduras. Las placas de agar fueron incubadas 24 horas a 37°C en aerobiosis. Los medios de cultivo fueron examinados y las diferentes colonias de distintos tipos fueron cuantificadas, el total de unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de ileon se reporta como media \pm desviación estándar.^{41,44}

⁶ Orion Research Ionizer/501, Orion Research Incorporated, Boston MA 02122

¹ BBL® Gas Pak® Anaerobic System Envelopes; Becton Dickinson, Cockeysville, MD 21030 USA

Conteo de células sanguíneas: A partir de cinco aves por grupo al día 26 de edad se obtuvieron muestras sanguíneas (empleando la vena radial se obtuvo 1 ml de sangre con 10% de E.D.T.A.) con la finalidad de cuantificar el porcentaje de linfocitos, heterófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos, lisis de leucocitos y leucocitos totales. Las células sanguíneas fueron analizadas de acuerdo con lo descrito por Zinkl en 1986.⁴⁵

Análisis estadístico: Se efectuó un análisis estadístico considerando un solo factor como variable de respuesta específica a través de descomposición cuadrática mínima y su análisis de varianza respectivo. Las variables analizadas fueron TTG, PA, PTI, calificación de lesiones, oocistos en heces, pH y cantidad de células sanguíneas. El NMP de microbiota intestinal identificada, previo al análisis de varianza se transformó logarítmicamente con base 10. Las diferencias entre los tratamientos se identificaron con la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey delimitando una significancia estadística para alfa de $P < 0.05$.⁴⁶

RESULTADOS

La composición y balance de los macroelementos y los microelementos fue analizada por un laboratorio especializado (AgribRANDS-Purina®) la información obtenida corresponde a los requerimientos solicitados, esta información se encuentra reportada en el anexo 1.

El PA varió únicamente al día 26 de edad, trece días después del desafío con coccidias patógenas, el grupo que contenía la harina de *Aspergillus* spp., presentó el mayor peso, el cual fue diferente ($P < 0.05$) respecto al grupo testigo negativo y al grupo que contenía el complejo enzimático. El grupo testigo positivo fue mayor y diferente ($P < 0.05$) únicamente con relación al grupo que contenía el complejo enzimático (tabla 1).

El pH del ileon al día 20 de edad en el grupo testigo positivo fue mayor y diferente ($P < 0.05$) con relación al grupo del complejo enzimático y del testigo negativo. El grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., fue únicamente diferente ($P < 0.05$) con relación al grupo testigo negativo. El pH de los sacos ciegos al día 20 de edad y el pH del ileon al día 26 de edad no mostraron diferencias estadísticas entre los grupos (tabla 2).

El pH de los sacos ciegos al día 26 de edad fue menor en el grupo suplementado con el complejo enzimático mostrando diferencia estadística ($P < 0.05$) con relación al resto de los grupos (tabla 2).

El NMP de enterobacterias coliformes (1×10^5 UFC/g) en ileon al día 20 de edad fue mayor y diferente ($P < 0.05$) en el grupo de harina de *Aspergillus* spp., con relación a los grupos testigos (positivo y negativo). El grupo del complejo enzimático no presentó diferencias respecto a ninguno de los grupos (tabla 3).

El NMP de hongos y levaduras (1×10^5 UFC/g) en ileon al día 20 de edad fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., con relación al grupo testigo positivo el cual no difirió con ninguno de los otros dos grupos (tabla 3).

El NMP de enterobacterias no coliformes (1×10^5 UFC/g) en ileon al día 20 de edad fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo de harina de *Aspergillus* spp., con relación al resto de los grupos (tabla 3).

El grupo con harina de *Aspergillus* spp., fue numéricamente el de mayor NMP de *Clostridium* spp., sin embargo, no difirió con respecto al resto de los grupos (tabla 3).

A los 26 días de edad, únicamente se observó una mayor cantidad de *Clostridium* spp., (1×10^5 UFC/g) en el grupo del complejo enzimático, NMP que fue diferente ($P < 0.05$) con relación al NMP del grupo de *Aspergillus* spp., y el NMP del grupo testigo positivo (tabla 4).

Al día 26 de edad no hubo diferencia en el número total de leucocitos entre cada uno de los cuatro grupos evaluados, observándose únicamente una tendencia de mayor cantidad en el grupo del complejo enzimático y una de menor cantidad en el grupo testigo positivo (tabla 5).

El porcentaje de linfocitos en el grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., fue mayor ($P < 0.05$) con relación al grupo del complejo enzimático, el cual no difirió respecto a los grupos testigos (tabla 5).

El porcentaje de heterófilos fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo del complejo enzimático con relación al grupo de harina de *Aspergillus* spp., y respecto al grupo testigo positivo. Sin embargo, no fue diferente con relación al grupo testigo negativo, el cual a su vez no difirió del testigo positivo, y tampoco fue diferente al grupo de la harina de *Aspergillus* spp., (tabla 5). El porcentaje de monocitos fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo del complejo enzimático con relación al grupo de harina de *Aspergillus* spp., y respecto al grupo testigo negativo. Sin embargo, no fue diferente con relación al grupo testigo positivo, el cual a su vez no difirió con ninguno de los otros dos grupos (tabla 5).

No se observaron diferencias estadísticas en el porcentaje de eosinófilos o basófilos entre cualquiera de los grupos analizados (tabla 5). El porcentaje de lisis leucocitaria fue mayor ($P < 0.05$) en el grupo del complejo enzimático, esto con relación al

resto de los grupos, observándose únicamente una tendencia de menor IIS en el grupo testigo negativo (tabla 5).

No se observaron diferencias estadísticas en el TTG entre los grupos analizados al día 21 y 26 de edad (gráfica 1).

Siete días después del desafío el menor PTI obtenido fue en el grupo con el complejo enzimático, el cual fue diferente ($p < 0.05$) con relación al grupo testigo negativo, pero no con el resto de los otros dos grupos (gráfica 2).

Al día 26 de edad no hubo diferencia entre los PTI de los grupos desafiados y el grupo testigo negativo (gráfica 2).

Las lesiones por *E. acervulina* de acuerdo a la escala de Johnson y Reid³ fueron mayores en el grupo suplementado con la harina de *Aspergillus spp.*, las cuales fueron diferentes ($p < 0.05$) con relación a los grupos testigos. El grupo suplementado con el complejo enzimático no difirió respecto al grupo de harina de *Aspergillus spp.*, o el grupo testigo positivo. El grupo testigo negativo no presentó lesiones y fue diferente ($p < 0.05$) respecto al resto de los grupos (gráfica 3).

Las lesiones por *E. maxima* fueron mayores ($p < 0.05$) en el grupo con harina de *Aspergillus spp.*, y en el grupo con el complejo enzimático respecto a los grupos testigos. El testigo positivo fue mayor al negativo ($p < 0.05$) (gráfica 3)

Las lesiones por *E. tenella* fueron mayores y diferentes ($p < 0.05$) en el grupo con harina de *Aspergillus spp.*, con relación a los grupos testigos y al grupo del complejo enzimático. Este último junto con el grupo testigo positivo fueron diferentes ($p < 0.05$) a su vez respecto al grupo testigo negativo (gráfica 3).

Se observó un mayor número de oocistos totales eliminados al día 21 con diferencia estadística ($p < 0.05$) en los grupos suplementados con harina de *Aspergillus spp.*, y complejo enzimático con relación al grupo testigo positivo. Los tres grupos a su vez fueron diferentes ($p < 0.05$) con relación al grupo testigo negativo (gráfica 4).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo el emplear la harina de *Aspergillus* spp., en el alimento de pollos de engorda que se encontraban bajo condiciones de estrés, (dieta con 60% de trigo y coccidias patógenas) explica junto con los resultados observados por Nava *et al.*,⁴⁷ el desarrollo de microbiota intestinal aerobia y anaerobia benéfica, lo cual posiblemente de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio impidió un incremento de microorganismos patógenos del tipo de los *Clostridium* spp., en el intestino de las aves, o bien de enterobacterias no coliformes como ya lo ha descrito anteriormente Kimura *et al.*,⁴⁸ al estudiar el comportamiento de la microbiota intestinal después de un desafío con coccidias patógenas.

El incremento sustancial de enterobacterias coliformes y hongos en el grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., fue diferente con relación a los grupos testigo positivo y negativo. Aún cuando la cantidad de *Enterobacterias* fue mayor al resto de los grupos, la cantidad de *Clostridium* spp., no lo fue.

Lo significativo de éste hallazgo fue que la harina de *Aspergillus* spp., actúa como un agente catalizador del crecimiento bacteriano benéfico (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., y posiblemente otras bacterias no conocidas y no aisladas) aún cuando las aves se encuentran bajo un escenario de desafío con coccidias patógenas y una gran cantidad de PNAv proporcionados por la dieta con alta inclusión de trigo. Estas condiciones permitieron que a los 26 días de edad en el grupo suplementado con el complejo enzimático se favoreciera un incremento en UFC de *Clostridium* spp., situación diferente a la presentada por el grupo que recibió la harina de *Aspergillus* spp., lo cual muestra que el complejo enzimático en presencia de una alta cantidad de PNAv y un desafío moderado con coccidias patógenas, de alguna manera favorece una alta proliferación de *Clostridium* spp., esta situación se observó aún cuando el grupo testigo positivo que recibió la misma dieta base con un alto contenido de PNAv y que recibió además el desafío con las coccidias patógenas no presentó la misma cantidad de UFC de *Clostridium* spp., observada en el grupo del complejo enzimático.

Adams *et al.*,^{11,12} reportaron que la asociación entre *Clostridium* spp., y *Eimeria acervulina* tiene un efecto sinérgico negativo sobre la digestión, especialmente después de los 2 a 11 días que se efectúa la inoculación de ambos, sin embargo, en el presente

estudio, el grupo testigo positivo que correspondería genéricamente al grupo de Adams *et al.*,^{11,12} fue diferente al grupo del complejo enzimático, el cual presentó los parámetros más bajos de todos los presentados por el resto de los grupos.

Lo que permite dilucidar este hecho, es que de alguna manera el complejo enzimático degrada a los PNAV generando nutrientes y energía, lo cual de alguna otra forma favorece también una alta proliferación (13 días postinoculación) de *Clostridium* spp., aún cuando la cantidad de coccidias empleadas para el desafío en el presente estudio fue moderada. Esta observación difiere de lo observado por Kimura *et al.*,⁴⁸ ya que estos investigadores al trabajar con pollos desafiados con coccidia reportaron que el pico máximo de proliferación de *Clostridium* spp., fue 7 días post-inoculación. Mientras que las *Enterobacterias* mostraron un incremento moderado pero persistente, indicando que los niveles de una gran variedad de bacterias encontradas en condiciones normales (Lactobacilos, bifidobacterium, e incluso enterobacterias y clostridios), retornaron a su nivel normal hasta los diez días post-inoculación, sin embargo, reportan que el disturbio bacteriano se presentó aún a los 17 días post-inoculación. Por lo que este último hallazgo puede explicar de cierta manera el incremento en el número de *Clostridium* spp., observado en el presente estudio.

Algunos hallazgos experimentales efectuados por Jansson *et al.*,⁴⁹ y Elwinger y Teglöf⁵⁰ indican que la suplementación con enzimas diseñadas para degradar los PNAV reducen el riesgo de enteritis necrótica.

Sin embargo, los resultados publicados por Ridell y Kong⁵¹ indican que no pudieron determinar ningún tipo de acción preventiva contra la enteritis necrótica en dietas con contenido de trigo cuando se agregaron enzimas del tipo pentosanasa. Los resultados de Ridell y Kong⁵¹ concuerdan con lo observado en el presente estudio y contradicen la probable disminución de enteritis necrótica indicada por Jansson *et al.*,⁴⁹ y Elwinger y Teglöf.⁵⁰ De igual forma Kaldhusdal y Skjerve⁷ mostraron que la suplementación con beta-glucanasas en dietas que incluían trigo, cebada y avena, no ejercieron ningún efecto protector contra la enteritis necrótica en un brote severo en aves de Noruega, concluyen que la suplementación con este tipo de enzimas no tiene ningún valor preventivo sobre las causas primarias que ocasionan la enteritis necrótica. Esta conclusión se respalda y confirma con los resultados obtenidos y analizados en el presente estudio.

Sin embargo, si bien por una parte el tipo de complejo enzimático empleado en el presente estudio aparentemente no protege contra un posible cuadro de enteritis necrótica, por otra parte se desconoce el mecanismo exacto por el cual se observó el incremento en la cantidad de *Clostridium* spp., a los 13 días post-inoculación con coccidias.

Si bien algunos autores como Anison y Choct⁵² determinaron que el trigo posee pentosanos los que manifiestan un fuerte efecto antinutritivo (los PNAV forman una capa mucilaginosa a nivel del lumen intestinal lo cual impide una buena permeabilidad e interacción de los nutrientes entre glucocalix y las microvellocidades intestinales) y que posee una relación directa con el tipo de microbiota que existe, bajo este contexto y el propuesto por Ridell y Kong⁵¹, el grupo testigo positivo desafiado con coccidias debió haber mostrado una cantidad incrementada de *Clostridium* spp., sin embargo, éste incremento exacerbado únicamente se observó en el grupo suplementado con el complejo enzimático.

El complejo enzimático al actuar sobre sus sustratos en el trigo libera entre varios productos principalmente complejos de carbohidratos, los cuales posiblemente pueden ser fácilmente aprovechados por *Clostridium* spp. Por ejemplo, Ridell y Kong⁵¹ mostraron que al infectar con *Clostridium* spp., un grupo alimentado con una dieta con base en maíz no mostró ningún incremento significativo de mortalidad atribuida a enteritis necrótica, la mortalidad se presentó hasta el momento en que se le proporcionó a uno de los grupos experimentales alimentados con la misma dieta con base a maíz una fuente adicional de glucosa.

Algunos autores como Choct *et al.*,⁵³ y Schneitz *et al.*,⁵⁴ han observado que el uso de sustancias que funcionan como promotores de crecimiento y que regulan la microbiota nativa intestinal como es el caso de los antibióticos, los probióticos y posiblemente también con base a los resultados observados en el presente estudio, el uso de un prebiótico (2% de HA), pueden estar mostrando un efecto positivo que posiblemente se encuentra relacionado con la eliminación de microorganismos anaerobios fermentativos que producen principalmente ácido butírico en el intestino (especialmente *Clostridium* spp.). Aunque actualmente el bosquejo general de las condiciones requeridas para que se presente un cuadro de enteritis necrótica no se encuentran completamente esclarecidas,

es altamente factible que cuando existe un cambio en las condiciones microambientales del intestino, el número de UFC de *Clostridium* spp., puede incrementarse exacerbadamente, lo cual puede conducir a una gran producción de toxina- α por parte de *C. perfringens* y consecuentemente ocasionar enteritis necrótica.^{53,54}

En el presente estudio la suplementación del complejo enzimático bajo las condiciones adversas del estudio (Incorporación de 60% de trigo y desafío medianamente patógeno con coccidias) posiblemente indujo de acuerdo a la tendencia observada por Kimura *et al.*,⁴⁸ un desbalance bacteriano prolongado hasta los 26 días de edad, por lo cual es factible que el complejo enzimático junto con la dieta alta en trigo pudieran haber causado un disturbio del microambiente intestinal de acuerdo a lo ya acotado por Choct *et al.*,⁵³ y Schneitz *et al.*,⁵⁴ convirtiéndose en este caso como una posible causal de enteritis necrótica, lo cual proporciona una nueva hipótesis para futuros estudios de investigación que consideren la interrelación de las enzimas que se emplean en las dietas de aves productivas, con las especies de coccidia más comunes y *Clostridium* spp.

Esta asociación, ha sido explicada por Kaldhusdal y Skjerve⁷ quienes le otorgaron mayor peso causal en la inducción de este padecimiento al trigo (a un nivel de incorporación regular de 32% a 35%), mismo efecto que se evidenció en el presente estudio, sin embargo, aunque no se pudo efectuar la calificación por medio de las lesiones típicas de enteritis necrótica (membranas diftéricas que cubren la mucosa del intestino delgado) si se observó un incremento significativo de la cantidad de *Clostridium* spp., en los grupos desafiados con coccidia, principalmente en el grupo suplementado con el complejo enzimático.

Kaldhusdal y Skjerve⁷ mostraron a través de un profundo análisis epizootiológico que los principales cereales empleados en la dieta de los pollos de engorda en Noruega (maíz, trigo, avena, cebada) se encuentran implicados en una incidencia alta de enteritis necrótica, sobre todo cuando no se agregan antibióticos a la dieta, estos autores propusieron en concordancia y ratificación con los resultados del presente estudio, que la composición del alimento es un factor crítico en el desarrollo de una gran cantidad de padecimientos gastrointestinales como la enteritis necrótica, además de considerar el papel decisivo que tiene la composición de la dieta en la afección o promoción de la salud de las parvadas.

Las condiciones de estrés anteriormente mencionadas se han asociado con problemas intestinales (enteritis necrótica) principalmente por la pérdida del equilibrio en la ecología intestinal. Se han relacionado además a los cambios de pH en el lumen intestinal, a la proliferación de microbiota patógena y al daño de la estructura en la mucosa intestinal, específicamente la mucosa cecal, de acuerdo con lo reportado por Ficken y Wages,⁴ Arakawa *et al.*,⁵⁵ Baba *et al.*,⁵⁹ Kogut *et al.*,⁵⁷ Juárez y Téllez⁵⁸ y Bradley *et al.*⁶⁰

Es probable que el balance positivo observado en el presente estudio entre la microbiota y el ecosistema intestinal del grupo suplementado con la harina de *Aspergillus* spp., haya sido regulado también por otro importante efecto de la harina de *Aspergillus* spp., reportado ya anteriormente por Nava *et al.*,⁶⁰ como es la síntesis de bacteriocinas por parte de la microbiota benéfica promovida por el prebiótico. De acuerdo con lo reportado por Schneitz *et al.*,⁵⁴ una gran cantidad de bacterias benéficas se ven favorecidas para crecer al tomar como sustrato principal a la harina de *Aspergillus* spp., estas bacterias benéficas pueden producir este tipo de compuestos reguladores, por lo cual es factible que en el grupo sin suplementar con la harina de *Aspergillus* spp., al no existir este tipo de bacterias benéficas seleccionadas específicamente por este prebiótico (No se efectuó el aislamiento de bacterias anaerobias benéficas del tipo de los *Lactobacillus* spp., o los *Bifidobacterium* spp., aunque ya se ha descrito su presencia), es posible que de acuerdo con lo observado por Kimura *et al.*,⁴⁸ la mucosa haya sufrido una agresión más severa por parte de las bacterias perjudiciales promovidas y favorecidas en el brote subclínico inducido por parte de las coccidias (Enterobacterias no coliformes, coliformes y *Clostridium* spp).

El efecto benéfico de mantener la ecología intestinal saludable debido a la administración de harina de *Aspergillus* spp., y su rápida recuperación post-infección con las coccidias, de acuerdo con las observaciones efectuadas por Kimura *et al.*,⁴⁸ en el presente estudio se reflejaron en la mayor ganancia de peso corporal al día 26 de edad en el grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., contrariamente a lo observado en el grupo suplementado con el complejo enzimático, el cual presentó el peso más bajo en esta fecha, incluso menor con relación al peso observado en los dos grupos testigos.

Algunos autores como Qin *et al.*,⁶¹ han reportado que cuando existe interrelación entre *Eimeria tenella* y *Salmonella enteritidis* se presenta un incremento en la invasión por

S. enteritidis a los sacos ciegos, sin disminuir el grado de invasión a órganos internos por el efecto de la coccidiosis.

Qin *et al.*,⁶¹ al utilizar como probiótico a *Lactobacillus acidophilus* no observaron que la población de *Salmonella enteritidis* en sacos ciegos disminuyera, mientras que la utilización de la harina de *Aspergillus* spp., ha mostrado disminución en la cantidad de *S. enteritidis* en este órgano, de acuerdo a lo reportado por Nava *et al.*,⁶⁰ sin embargo, estos autores coinciden en sus hallazgos con algunos resultados reportados por Qin *et al.*,⁶¹ quienes lograron disminuir la infección por *S. enteritidis* cuando emplearon un probiótico junto con un prebiótico (*Lactobacillus acidophilus* + lactosa). Esto permite dilucidar que de acuerdo a los resultados de Nava *et al.*,⁶⁰ y los observados en el presente estudio la harina de *Aspergillus* spp., promueve una protección real a nivel de mucosa gastrointestinal además de mostrar un evidente efecto sobre una rápida recuperación después de un desafío moderado con coccidias.

Kogut *et al.*,⁵⁷ al efectuar un desafío con 25,000 oocistos de *E. tenella* por ave al día tres de edad de manera conjunta con la inoculación de 1×10^4 UFC de *Salmonella typhimurium* observaron que se incrementaba el número de aves positivas a *S. typhimurium*, esto en comparación con los grupos control que no recibieron el desafío con *E. tenella*.

En contraposición a lo reportado por Qin *et al.*,⁶¹ y en concordancia con los resultados del presente estudio, Kogut *et al.*,⁵⁷ determinaron en otro de los experimentos efectuados por ellos que la administración al día de edad de un cultivo de microbiota nativa intestinal de tipo no definido, disminuía el número de aves positivas a *S. typhimurium* independientemente si estaban o no desafiadas con *E. tenella*, ellos concluyeron que la acción protectora por parte de la microbiota nativa intestinal de tipo no definido contra la colonización del saco ciego por *S. typhimurium* no presenta ningún efecto adverso, sin importar que reciban o no una infección de tipo clínica por *E. tenella*. Sin embargo, de acuerdo con la conclusión de Kogut *et al.*,⁵⁷ y si bien en el presente trabajo no se contempló ningún desafío con *Salmonella* spp., si se observó que la microbiota promovida por la harina de *Aspergillus* spp., mostró efectos de protección a nivel de mucosa intestinal (se observó un efecto de mayor protección a nivel de sacos ciegos e ileon).

Lo interesante de los resultados del presente estudio es que dan pauta para investigar en el futuro sobre el efecto que ejerce la harina de *Aspergillus* spp., sobre el grado de infección por parte de un desafío con *Salmonella* spp., el grado de daño producido conjuntamente por las coccidias y la cantidad de clostridios existentes en el tracto gastrointestinal en cada una de estas situaciones.

En un estudio efectuado por Grajeda *et al.*,⁶² utilizando harina de *Aspergillus* spp., junto con un desafío por *E. tenella*, Grajeda *et al.*,⁶² determinó una concentración alta de IgA en mucosa intestinal en el grupo que únicamente fue desafiado con coccidias y no recibió la harina de *Aspergillus* spp.; la medición de la IgA se efectuó exactamente siete días post-inoculación, momento en el que *E. tenella* efectúa la mayor cantidad de daño al epitelio cecal, probablemente la cantidad de IgA detectada fue de tipo inespecífico y debida a los eventos vasculares de tipo hemorrágico ocasionadas por el proceso agudo de inflamación, lo cual posiblemente permitió que en el grupo desafiado y no suplementado con la harina de *Aspergillus* spp, existiera una gran cantidad de IgA en el trasudado. El grupo que recibió el desafío y que contenía harina de *Aspergillus* spp., presentó menor cantidad de IgA en la mucosa cecal, además de no diferir con el grupo que contenía únicamente harina de *Aspergillus* spp., lo cual sugieren en conjunto con los hallazgos del presente estudio que la harina de *Aspergillus* spp., confiere protección frente a los efectos detrimentales inducidos por la infección con *E. tenella*, o bien que el tipo de microbiota promovida y mantenida por este prebiótico en particular no tiene efectos detrimentales tan severos como los observados en el grupo desafiado y no suplementado con la harina de *Aspergillus* spp., o el grupo suplementado con el complejo enzimático. Este análisis lo respaldan las observaciones de auto.es como Kimura *et al.*,⁴⁶ estos autores coinciden con otros investigadores acerca del probable antagonismo existente entre lactobacilos y enterobacterias. Estas observaciones explican en parte por que en el presente estudio el grupo que recibió la hanna de *Aspergillus* spp. y fue desafiado con *E. tenella* presentó menos efecto detrimental sobre la integridad de la mucosa intestinal, lo cual se reflejó en una mejor ganancia de peso, que aunque no se observo tan temprano como a los siete días post-inoculación si se pudo verificar 13 días después a los 26 días de edad. Situación contraria a la del grupo que recibió el complejo enzimático, el cual al presentar el desbalance bacteriano durante más de diez días (periodo de 13 días post-inoculación) con una probable falta de recuperación en su población bacteriana de tipo

láctica y de la microbiota nativa intestinal benéfica en general, mostró un efecto poco favorable en la ganancia de peso.

Posiblemente el efecto conjunto del prebiótico (harina de *Aspergillus* spp.) y la microbiota nativa intestinal benéfica inducida por acción del mismo en el tracto digestivo, ejercieron dos efectos en la mucosa intestinal después del desafío, uno protector y otro regenerativo, reflejándose con una mayor ganancia de peso en el grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., y desafiado, esto en un periodo corto de tan solo 13 días después de la infección.

En cuanto al peso total del intestino es evidente que el desafío inducido por el inóculo empleado en el presente estudio, afectó 7 días postinoculación en mayor grado al grupo no suplementado con el prebiótico y desafiado, al igual que al grupo que recibió el complejo enzimático y también se desafió, esto con relación directa al grupo testigo negativo o bien con relación al grupo que si recibió la harina de *Aspergillus* spp., sin embargo, esta diferencia ya no se pudo observar a los 26 días de edad. Lo anterior indica que el menor peso mostrado por el testigo positivo y el grupo suplementado con el complejo enzimático se pudo deber a un menor contenido intestinal ocasionado por un aumento de la peristalsis, ésto como reflejo de eliminación del estímulo nocivo inducido por las coccidias, o bien debido a una disminución de los procesos fisiológicos de absorción atribuibles al daño en la mucosa intestinal, mientras que el grupo con harina de *Aspergillus* spp., mostró menor afectación en el peso total del intestino, aunque el mecanismo para mostrar éste mayor peso y tener al mismo tiempo una mayor tasa de replicación de oocistos, junto con una mayor calificación de lesiones de *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* aún no se encuentra completamente esclarecido, por lo cual se requiere de mayor cantidad de estudios para despejar las causales de éste efecto.

No debe descartarse que el peso mayor del intestino del grupo suplementado con la harina de *Aspergillus* spp., y desafiado se pudo deber al proceso inflamatorio inducido por las tres especies de *Eimeria* spp. empleadas en el desafío, por lo cual para descartar este factor en futuros estudios debe incluirse alguna técnica de histopatología o de integridad intestinal que determine el efecto de inflamación a esta fecha, o bien incluir además un grupo suplementado con harina de *Aspergillus* spp., sin desafiar.

Algunos autores como Bradley y Radhakrishnan,⁵⁹ Clark *et al.*,^{63,64} Visco *et al.*,^{65,66} Baba *et al.*,⁵⁶ y Wallach y Waldensted¹⁵ han observado que las aves convencionales sin protección inmune inducida por un desafío previo con coccidias, ante un desafío moderado con oocistos de *E. tenella* altamente patógena presentan mortalidad, mientras que aves axénicas es decir sin bacterias en el tracto digestivo, a pesar de lo aparatoso que pueden observarse las hemorragias ocasionadas por un desafío similar con oocistos de *E. tenella* altamente patógena, no llegan a presentar mortalidad.

En el presente estudio la observación efectuada a partir de los grupos desafiados puso de manifiesto la importante interacción que existe entre la microbiota del saco ciego de las aves domésticas y los efectos detrimentales ocasionados por un desafío moderado con 40,000 oocistos de *E. tenella* por ave; además del grado de protección que induce la harina de *Aspergillus spp.*, que aunque no se pudo verificar a los siete días post-infección si se pudo constatar dos semanas después.

Es posible que la harina de *Aspergillus spp.*, ejerza su mayor efecto los sacos ciegos, sin embargo, es posible que en los sitios anatómicos del tracto digestivo donde se replicaron *E. acervulina* y *E. maxima* estén mostrando una tendencia de recuperación similar a la observada en la mucosa cecal inducida por la harina de *Aspergillus spp.*, esto de acuerdo a las investigaciones reportadas por Grajeda *et al.*⁶² Como ya se indicó anteriormente, es interesante considerar que a pesar de que el grupo de *Aspergillus spp.* desafiado presentó el mayor peso a los 26 días de edad, ganancia de peso que quizá es de tipo recuperatoria (anteriormente conocida como ganancia de peso compensatoria), fue al mismo tiempo el grupo que mayor tasa de eliminación de oocistos presentó al día 21 de edad. Esta observación posiblemente se encuentra relacionada con el efecto fisiológico de retardar la velocidad de tránsito gastrointestinal inducido por la harina de *Aspergillus spp.*, efecto reportado anteriormente por Nava *et al.*⁶⁰ y aunque en el presente estudio el grupo suplementado con harina de *Aspergillus spp.*, mostró la mayor cantidad de oocistos excretados en heces junto con el grupo suplementado con el complejo enzimático, el hecho de que no haya existido diferencia en la escala paramétrica de tiempo de medida del tránsito gastrointestinal, no impidió que estos dos grupos mostraran la mayor cantidad de oocistos eliminados en heces en la misma proporción que como se observó el tiempo de retraso del tránsito gastrointestinal en las dos fechas de evaluación. Posiblemente en el grupo de la harina de *Aspergillus spp.*, esto se debió a

que al haber una mayor cantidad de microorganismos y favorecer éstos un aumento del metabolismo intestinal, aceleraron en general los procesos enzimáticos de digestión, que aunados a un mayor tiempo de retención de la ingesta y consecuentemente de la presencia de los oocistos, permitió que las coccidias aumentaran su tasa de desenquistación y de invasión, sin embargo, aún no se encuentra bien dilucidada la forma en que la harina de *Aspergillus* spp., por una parte favorece la infección por coccidia y por otra parte protege y promueve una mayor ganancia de peso sin afectar el peso total del intestino, mostrando a la vez una mayor cantidad de oocistos en heces al día 21, además de obtener principalmente en el saco ciego una calificación mayor en la escala de lesiones de Johnson & Reid³. Mientras que en el grupo con el complejo enzimático el efecto de retardo en el tránsito del bolo alimenticio y alta tasa de desenquistación se debió posiblemente a mayor disponibilidad de nutrientes o proporcionalmente a mayor actividad enzimática respecto al grupo testigo positivo, sin embargo, estos procesos no se pudieron aprovechar favorablemente ya que bacterias como *Clostridium* spp. proliferaron en gran cantidad de tal forma que el peso a los 26 días fue menor al del grupo suplementado con la harina de *Aspergillus* spp.

El efecto detrimental observado en las aves con microbiota convencional del presente estudio cuando se desafían con *E. tenella* y a diferencia de las aves gnotobióticas inoculadas con la misma cantidad de oocistos de *E. tenella* en el estudio efectuado por Baba *et al.*,⁵⁶ se atribuye posiblemente a la acción de las bacterias; sin embargo, a diferencia del presente estudio Baba *et al.*,⁵⁶ no evaluaron la presencia específica de *Clostridium* spp., lo cual indica que si bien los efectos detrimentales observados en un desafío con coccidias son debidos a la interacción de diversos géneros de bacterias, en el presente estudio se pudieron deber a la presencia adicional específica de una gran cantidad de *Clostridium* spp., como la observada en el grupo suplementado con el complejo enzimático. Lo que no se puede saber acertadamente con base a los resultados obtenidos en el presente estudio, es porque el complejo enzimático indujo una alta proliferación de *Clostridium* spp.

El efecto de adicionar harina de *Aspergillus* spp., o complejo enzimático a la dieta alta en trigo, retrasa aparentemente el tiempo de tránsito gastrointestinal, se observa una mayor cantidad de lesiones y una mayor tasa de eliminación de oocistos con relación al grupo testigo positivo, el cual fue desafiado pero no recibió ningún tipo de aditivo

alimnético. Los efectos observados y enumerados anteriormente en los dos grupos suplementados (H. de *Aspergillus* spp., y complejo enzimático) son semejantes, sin embargo, el bajo peso, el bajo pH, la alta lisis leucocitaria y el desequilibrio entre las poblaciones microbianas aeróbicas y anaeróbicas, fueron constantes en el grupo que recibió el complejo enzimático, lo que permite establecer por un lado que existe un claro efecto benéfico promovido por el prebiótico y por el otro la falta de efecto protector por parte del complejo enzimático a la mucosa intestinal después del desafío coccidiano, esto principalmente frente a posibles microorganismos patógenos presentes después del desafío con las coccidias, de acuerdo con lo ya reportado por Kimura *et al.*⁴⁸

Se ha reportado que la suplementación con harina de *Aspergillus* spp., tiene la característica de modular varias funciones del tracto gastrointestinal y estimular la proliferación de la microbiota intestinal benéfica, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio.^{16,60} La utilización de carbohidratos fermentables no absorbibles como la harina de *Aspergillus* sp. puede modificar y modular la ecología intestinal de la microbiota, ya que puede actuar como sustrato para la síntesis de algunos metabolitos terminales como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Además de proporcionar una fuente de energía para algunos microorganismos, las células del epitelio intestinal pueden metabolizar los AGCC, los cuales llegan a constituir el mayor recurso de energía para las células del intestino. La oxidación de los AGCC proporciona del 60 al 70% de la energía utilizada por el enterocito y son utilizadas primariamente aún en presencia de glucosa, el AGCC más importante es el butirato.^{18,60}

La microbiota bien desarrollada ayuda a mantener la integridad y función del sistema digestivo, puede metabolizar proteínas y compuestos que contienen sulfuro, glicoproteínas endógenas y glicoproteínas exógenas. Algunos microorganismos se desarrollan gracias a los productos intermedios de la fermentación bacteriana como el lactato, succinato, formato y etanol, transformando estos metabolitos intermedios en productos finales como los AGCC.

Gracias a la administración de harina de *Aspergillus* spp., no solamente es posible afectar la dinámica de las poblaciones benéficas a nivel intestinal, sino que además se puede modular la ecología intestinal (poblaciones bacterianas, síntesis de metabolitos, exclusión de patógenos, modificación de nichos ecológicos, regulación de la traslocación bacteriana) y con ello favorecer la fisiología intestinal (modulación de la motilidad y

proliferación de las células de las criptas de las vellosidades en la mucosa intestinal, mejor absorción de nutrientes, activación inmunológica intestinal, regulación de la función endocrina y de algunas funciones sistémicas relacionadas con la digestión).

Se ha documentado ampliamente ya la importancia del rápido establecimiento de una microbiota nativa intestinal madura, lo cual gracias a la administración de prebióticos este proceso éste proceso se puede acelerar y excluir el desarrollo de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal.^{16,60}

La suplementación de harina de *Aspergillus* spp., y del complejo enzimático generó aparentes cambios en las poblaciones de la microbiota intestinal, estos cambios a su vez posiblemente generaron una alteración en la producción de AGCC⁻, lo cual actuó directamente en la luz intestinal modificando el pH. Existen investigaciones que muestran que el pH del saco ciego disminuye con la suplementación de harina de *Aspergillus* spp., a edades tan tempranas como a los diez días de edad, sin embargo, se ha observado que a mayor suplementación de harina de *Aspergillus* spp., este efecto se revierte aparentemente, ya que en estas mismas investigaciones se observó que al día 20 de edad, el pH del saco ciego era mayor que el del grupo testigo negativo, reportando a su vez una menor concentración de AGCC⁻, esta misma tendencia se observó al día 30 de edad, sin embargo, los investigadores reportaron una menor diferencia entre los dos grupos.⁶¹

En el presente estudio siete días después del desafío con las coccidias patógenas, no se observó diferencia en los valores de pH entre los grupos, lo cual posiblemente indica que existió una tendencia ajena a la concentración de AGCC⁻ que impidió se elevara el pH. Sin embargo, al día 26 de edad si se observa una disminución del pH en los sacos ciegos de las aves suplementadas con el complejo enzimático, lo cual se debió posiblemente a una alteración en el balance de la microbiota con la replicación predominante de un solo tipo de microorganismo posiblemente patógeno (*Clostridium* spp.) o bien proliferó un grupo bacteriano que metabolizó y produjo una mayor cantidad de AGCC⁻. Schenez et al.⁵⁴ al evaluar un probiótico definido administrado al día de edad, determinaron que a los 12 días se incrementa la producción de ácido propiónico en el íleon y saco ciego, a los 31 días de edad se incrementa ligeramente la producción de ácido acético en íleon pero decrece significativamente la concentración de ácido láctico,

en tanto que en ciego disminuyen el ácido acético, butírico, caprónico y láctico. Lo cual indica al igual que en el presente estudio que es factible existan bacterias anaerobias que son capaces de transformar el lactato en propionato.

Se ha descrito que en algunas etapas de la replicación de las Eimerias, las lesiones inducidas por la destrucción celular y el *destritus* producido pueden llegar a alterar el pH, alcalinizando el medio. Aunque no se descarta la posibilidad de que los niveles de producción de AGCC⁻ en este grupo no se hayan alterado. El pH menor del ileon a los 20 días observado en el grupo testigo negativo, difirió completamente con el grupo que únicamente se desafió, lo que indica posiblemente que el desafío con coccidias a esta edad tiene el efecto de elevar el pH en el ileon, lo cual se contraponen a lo observado en saco ciego, donde no hubo diferencia, en el ileon no se replicó ninguna de las coccidias del desafío, por lo cual la diferencia se debe más que al desafío, al hecho de haber incorporado en estos grupos la harina de *Aspergillus* spp., o el complejo enzimático.

La baja concentración de AGCC⁻ en los sacos ciegos y la observación de valores de pH elevados pueden estar relacionados con lo reportado por diferentes autores quienes indican que la absorción de AGCC⁻ es dependiente de la concentración, funcionando la absorción como un sistema de retroalimentación negativa.¹⁶ Se ha mencionado además que el transporte, difusión y absorción de los AGCC⁻ se acompaña de un aumento en la absorción de Na, K y agua, además de la alcalinización de la luz intestinal debida a la acumulación de bicarbonato y PCO₂.

De acuerdo con los reportes de Téllez *et al.*,³² y Yun *et al.*,⁸⁷ uno de los mecanismos importantes de defensa inespecíficos asociados al tracto intestinal es el grado de maduración de las células de la mucosa intestinal, estas desarrollan una mejor respuesta cuando alcanzan rápidamente la madurez fisiológica. Lo que permite comprender los resultados obtenidos en el presente trabajo en el grupo de la harina de *Aspergillus* spp., con una dieta estresante (60% de trigo), junto con un brote de coccidias controlado y la aparente falla en la recuperación post-infección de la microbiota intestinal del grupo suplementado con el complejo enzimático.

El incremento en el uso de probióticos y prebióticos como factores de protección contra agentes patógenos es cada día mayor, sin embargo, se ha efectuado poca

investigación acerca de la interacción de estos productos con algunos agentes patógenos como las coccidias, *Salmonella enteritidis*, campilobacteriosis y el grado de protección que puede generarse en su presencia, lo cual puede constituir materia para próximos estudios.

Con base en los resultados observados en el presente estudio, la inclusión de prebióticos en las dietas comerciales para pollo de engorda, debe ser considerada básica en la formulación de las raciones actuales, ya que proporcionan un sustrato adecuado para el desarrollo y metabolismo de la microbiota intestinal benéfica y la activación de la fisiología intestinal del pollo neonato. Además de amortiguar el efecto detrimental por parte de agentes patógenos siempre presentes en las casetas de pollo comercial, como son las Eimerias.

La microbiota coloniza prácticamente todo el tracto digestivo de las aves y puede encontrarse en concentraciones que oscilan entre 1×10^9 y 1×10^{11} bacterias por gramo de contenido en íleon y saco ciego respectivamente.^{16,60} Concentraciones de microorganismos tan extraordinarias, tienen una actividad metabólica alta y que se ha estudiado muy poco. Sin embargo, influye no sólo en la viabilidad de los sustratos para su huésped, sino también en su salud y rápido crecimiento. Por lo tanto, la nutrición como disciplina científica debe de considerar al ave y su microbiota como un sistema de interacción dinámica, ya que ambos se desarrollan en una perfecta relación biológica y dependen de los ingredientes y densidad de nutrientes que en ellos se encuentran. Las últimas investigaciones en nutrición animal sugieren que en el futuro los componentes nutricionales de las dietas deben considerar el impacto que dichos ingredientes tengan en la distribución y desarrollo de las especies bacterianas.

Se concluye que el tipo de ingredientes con que se formulan las dietas afecta la microbiota y ésta tiene un impacto específico sobre la nutrición y salud de las aves. Como resultado, dietas aparentemente iguales en calorías y contenido de nitrógeno pueden en realidad ocasionar cambios drásticos en el tipo de microbiota que coloniza el intestino. El conocimiento de los factores que afectan el desarrollo de la flora benéfica (*Lactobacillus* spp., y *Bifidobacterium* spp.) y la disminución de microbiota potencialmente patógena (*Clostridium* spp.) es la clave del éxito para las explotaciones comerciales intensivas del futuro.

CONCLUSIONES

- La harina de *Aspergillus* spp., ejerce un efecto fisiológico benéfico sobre el tracto gastrointestinal, el cual no se altera con un desafío moderado de coccidias patógenas.
- La harina de *Aspergillus* spp., protege contra los efectos detrimentales inducidos por *Clostridium* spp., después de un desafío moderado con coccidias patógenas.
- El complejo enzimático en dietas con 60% de trigo no protege contra un desafío moderado de coccidias patógenas y potencialmente puede inducir enteritis necrótica.

LITERATURA CITADA

- 1.- Dávila RV. Efecto de la vacuna Nobilis Cox ATM™ contra la coccidiosis aviar sobre el grado de pigmentación y principales parámetros productivos en pollos de engorda. Tesina de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 2001.
- 2.- Long PL, Millard BJ, Joyner LP, Norton CC. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. *Folia Vet Latina* 1976; 6: 200-217.
- 3.- Johnson J, Reid WM. Anticoccidial drugs: lesion scoring technique in battery and floorpen experiment with chickens. *Exp Parasitol* 1970; 28: 30-36.
- 4.- Ficken MD, Wages DP. Necrotic Enteritis. In: Calnek BW, editor. *Diseases of Poultry*. 10th ed. Ames (Iowa) USA: Iowa State University Press, 1997:261-264.
- 5.- Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1052-1057.
- 6.- Bedford MR. Interaction between ingested feed and the digestive system in poultry. *J Appl Poultry Res* 1996; 5: 86-95.
- 7.- Kaldhusdal M, Skjerve E. Association between cereal contents in the diet and incidence of necrotic enteritis in broiler chickens in Norway. *Prev Vet Med* 1996; 28: 1-16.
- 8.- Arakawa A, Ohe O. Reduction of *Clostridium perfringens* by feed additives in the ceca of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Poult Sci* 1975; 54: 1000-1007.
- 9.- Kimura W, Mimura F, Nishida S, Kobayashi A, Mitsuoka T. Studies on the relationship between intestinal flora and cecal coccidiosis in chickens. *Poult Sci* 1976; 55: 1375-1383.
- 10.- Qin ZR, Fukata T, Baba E, Arakawa A. Effect of lactose and *Lactobacillus acidophilus* on the colonization of *Salmonella enteritidis* in chicks concurrently infected with *Eimeria tenella*. *Avian Dis* 1995; 39: 548-553.
- 11.- Adams C, Vahl HA, Veldman A. Interaction between nutrition and *Eimeria acervulina* infection in broiler chickens: development of an experimental infection model. *Br J Nutr* 1996; 75: 867-873.
- 12.- Adams C, Vahl HA, Veldman A. Interaction between nutrition and *Eimeria acervulina* infection in broiler chickens: diet compositions that improve fat digestion during *Eimeria acervulina* infection. *Br J Nutr* 1996; 75: 875-880.
- 13.- Macfarlane GT, Cummings JH. Probiotics and prebiotics: can regulate the activities

of intestinal bacteria benefit health?. *British Med J* 1999; 318: 999-1003.

- 14.- Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1682-1687.
- 15.- Wallach M, Waldensted L. Immunity and the effects of removing coccidiostats from poultry feed. *World Poultry* 1999; Special: 12-15.
- 16.- Juárez EMA, Nava MG, Ledesma MN, Merino GR, Téllez IG. Exclusión competitiva en las aves domésticas. Memorias de las IX Jornadas Médico Avícolas. 2003 febrero 19-21; Ciudad Universitaria (DF). México (DF): División de Educación Continua y Departamento de Producción Animal:Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM., 2003:183-193.
- 17.- Bruce G, Schiffrin EJ, Reniero R, Mollet B, Pfeifer A, Neeser J. The development of functional foods: lessons from the gut. *Trends Biotechnol* 1999;17(12): 492-499.
- 18.- Bellisle F, Diplock AT, Hornstra G. Functional food science in Europe. *Br J Nutr* 1998;80(suppl):s3-4.
- 19.- Clydesdale F. A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods. *Nutr Rev.*1997;55:413-422.
- 20.- Walker WA, Duffy LC. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. *J Nutr Biochem.* 1998;9(12):668-675.
- 21.- Macfarlane GT, Cummings JH. probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health?. *BMJ.* 1999;318:999-1003.
- 22.- Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(suppl):1660s-1664s.
- 23.- Roberfroid MB. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutr Rev.* 1996;54:s38-s42.
- 24.- Roberfroid MB. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr.* 1999;129:1398s-1401s.
- 25.- Yolken RH, Ojeh C, Khatri IA, Sajjan U, Forstner JF. Intestinal mucins inhibit rotavirus replication in an oligosaccharide-dependent manner. *Jour Inf Dis.* 1994;169(5):1002-1006.
- 26.- Berg RD. Probiotics, prebiotics or conbiotics. *Trends Microbiol.* 1998;8(6):89-92.
- 27.- McIntosh GH. Probiotics and colon cancer prevention. *Asia Pacific J Clin Nutr.*1996;5:48-52.
- 28.- Tannock GW. Probiotics: a critical review. Ed. Horizon Scientific Press, 1999. England.

- 29.- Duffy LC, Zielezny, MA, Riepenhoff-Talty M, Dryja D, Sayahlaheri-Altale S, Griffiths E, Ruffin D, Barrett H, Rossman J, Ogra PL. Effectiveness of *Bifidobacterium bifidum* in mediating the clinical course of murine rotavirus diarrhea. *Pediatr Res*. 1994;35:890-895.
- 30.- DeFelice SL. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends Food Sci Tech*. 1995;6:59-61.
- 31.- Nava G. Efecto de un producto de exclusión competitiva comercial (Preempt ®) sobre la mortalidad y la transmisión horizontal de *Salmonella gallinarum* en pollo de engorda (tesis de licenciatura) México (D.F.): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México, 2000.
- 32.- Tellez G, Dean CE, Corrier DE, DeLoach JR, Jaeger L, Hargis BM. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids, and *Salmonella enteritidis* organ invasion in leghorn chicks. *Poult Sci* 1993; 72: 636-642.
- 33.- Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995;125:104-112.
- 34.- Audisio M, Oliver G, Apella MC. Effect of different complex carbon source on growth and bacteriocin synthesis of *Enterococcus faecium*. *Int J Food Microbiol*. 2001;63:235-241.
- 35.- Berg RD. Bacterial Translocation from intestines. *Exp Anim*. 1985;34:1-16.
- 36.- Chiou PWS, Chiu SW, Chen CR. Value of *Aspergillus niger* fermentation product as a dietary ingredient for broiler chickens. *Anim Feed Sci Technol* 2001; 91: 171-182.
- 37.- Bedford MR. Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutr Res Rev* 1998; 11: 91-114.
- 38.- Bedford MR. Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits. *Anim Feed Sci Technol* 2000; 86: 1-13.
- 39.- Dänicke S, Jeroch H, Böttcher W, Simon O. Interactions between dietary fat type and enzyme supplementation in broiler diets with high pentosan contents: effects on precaecal and total tract digestibility of fatty acids, metabolizability of gross energy, digesta viscosity of gross energy, digesta viscosity and weights of small intestine. *Anim Feed Sci Technol* 2000; 86: 1-13.
- 40.- Andrews EJ, Bennet BT, Derrell CJ, Houpt KA, Pascoe PJ, Robinson GW, Boyce JR. 1993 Report of the AVMA panel on euthanasia. *JAVMA* 1993; 202: 229-249.
- 41.- Koransky JR, Allen DS, Dowell VR. Use of ethanol for selective isolation of sporeforming microorganisms. *Appl Environ Microbiol* 1978;35:762-765.

- 42.- Dabard J, Bridonneau, Philippe C, Anglade P, Molle D, Nardi M, Ladire M, Girardin H, Marcille F, Gomez A, Fons M. Ruminococci A, a new antibiotic produced by a *Ruminococcus gnavus* strain isolated from human feces. *Appl Environ Microbiol*. 2001;67:4111-4118.
- 43.- Roediger W. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*.1980;21:793-798.
- 44.- Callaway TR, Anderson RC, Anderson TJ, Poole TL, Bischoff KM, Kubena LF, Nisbet DJ. *Escherichia coli* O157:H7 becomes resistant to sodium chlorate in pure culture, but not in mixed culture or *in vivo*. *J Appl Microbiol*. 2001;91:427-434.
- 45.- Zinkl JG. Avian Hematology. In Jain NC, editor. *Shalm's Veterinary Hematology*. 4th ed. Philadelphia. (USA); Lea & Febiger, 1986:256-263.
- 46.- Luginbueke RC, Schlotzhaver SD. *SAS/STAT guide for personal computers*. 6th edi. USA: SAS Institute Cary, NC, 1987: 555-573.
- 47.- Nava MG, Ledesma N, Morales E, Juárez MA, Pérez G, Carrillo DS, Sanginés GL, Priego BA, Priego GC, Castillo DR, Solano ML, Sutton L, Téllez IG. Efecto de la administración de harina de *Aspergillus* sp, fitasa bacteriana y ambos productos en la dieta de pollos de engorda I: sobre el tiempo de tránsito gastrointestinal y pH en buche y ciego. *Memorias de la XXVI Convención anual ANECA*; 2001 abril 25-28; Acapulco (Guerrero) México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, AC, 2001:201-204.
- 48.- Kimura W, Mimura F, Nishida S, Kobayashi A, Mitsuoka T. Studies on the relationship between intestinal flora and cecal coccidiosis in chickens. *Poult Sci* 1976; 55: 1375-1383.
- 49.- Jansson L, Elwinger K, Engström B, Fossum O, Teglöf B. Test of the efficacy of virginiamycin and dietary enzyme supplementation against necrotic enteritis (NE) disease in broilers. *Proceedings of VIII European Poultry Conference, Barcelona, Spain*. 1990; 556-559.
- 50.- Elwinger K, Teglöf B. Performance of broiler chickens as influenced by a dietary enzyme complex with and without antibiotic supplementation. *Arch Geflügelkd* 1991; 55: 69-73.
- 51.- Ridell C, Kong XM. The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Dis* 1992; 36: 499-503.
- 52.- Annison G, Choct M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *Worlds Poult Sci J* 1991; 47:

- 53.- Choct M, Hughes RJ, Wang J, Bedford MR, Morgan AJ, Anison. Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *Br. Poult. Sci.* 1996;37:609-621.
- 54.- Schneitz C, Kiiskinen T, Toivonen V, Näsi M. Effect of Broilact® on the physicochemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 1998; 77:426-432.
- 55.- Arakawa A, Baba E, Fukata T. *Eimeria tenella* infection enhances *Salmonella typhimurium* infection in chickens. *Poult Sci* 1981; 60: 2203-2209.
- 56.- Baba E, Fukata T, Arakawa A. Establishment and persistence of *Salmonella typhimurium* infection stimulated by *Eimeria tenella* in chickens. *Res vet Sci* 1982; 33: 95-98.
- 57.- Kogut M, Fukata T, Teliez GI, Hargis M. Effect of *Eimeria tenella* infection on resistance to *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks with anaerobic cecal flora and feed dietary lactose. *Avian Dis* 1994;38:59-64.
- 58.- Juárez EMA, Téllez IG. La inmunidad celular en la inmunoprofilaxis de la coccidiosis aviar. Memorias del curso "Inmunoparasitología y biología molecular". 2000 noviembre 13 y 14; Ciudad Universitaria (DF). México (DF): Departamento de Parasitología, La División de Educación Continua, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 2000:18-28.
- 59.- Bradley RE, Radhakrishnan CV. Coccidiosis in chickens: obligate relationship between *Eimeria tenella* and certain species of ceca microflora in the pathogenesis of the disease. *Avian Dis* 1973; 17: 461-476
- 60.- Nava MG, Juárez EMA, Merino GR, Ledesma MN, Téllez IG. Prebióticos, probióticos y simbióticos en la ecología intestinal de las aves domésticas. Memorias de las VIII Jornadas Médico Avícolas. 2002 febrero 20-22; Ciudad Universitaria (DF). México (DF): División de Educación Continua y Departamento de Producción Animal:Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM., 2002:174-178.
- 61.- Qin ZR, Fukata T, Baba E, Arakawa A. Effect of lactose and *Lactobacillus acidophilus* on the colonization of *Salmonella enteritidis* in chicks concurrently infected with *Eimeria tenella*. *Avian Dis* 1995; 39: 548-553.
- 62.- Grajeda D, Merino R, Juárez MA, Nava G, Ledesma N, Morales E, Sutton L, Silva M, Davalos JL, Téllez G. Effect of *Aspergillus* sp. Meal on duodenum IgA concentration after *Salmonella enteritidis* challenge in fight cockerels. Abstracts from

23rd Annual Meeting (SPSS) 43rd (SCAD) International Poultry Scientific Forum; 2002 January 14-15; Atlanta (Georgia) U.S.A. Atlanta (Georgia): The Southern Poultry Science Society, Southern Conference on Avian Diseases and U.S. Poultry & Egg Association, 2002:35(154).

- 63.- Clark DT, Smith CK. *Eimeria tenella* infection in gnotobiotic chickens. J Protozool 1961; 8: 10-11.
- 64.- Clark DT, Smith CK, Dardas RB. Pathological and immunological changes in gnotobiotic chickens due to *Eimeria tenella*. Poultry Sci 1962; 41: 1635-1636.
- 65.- Visco RJ, Burns WC. *Eimeria tenella* in bacteria-free and conventionalized chicks. J Parasitol 1972; 58: 323-331.
- 66.- Visco RJ, Burns WC. *Eimeria tenella* in bacteria-free chicks of relatively susceptible strains. J Parasitol 1972; 58: 586-588.
- 67.- Yun CH, Lillehoj HS, Lillehoj EP. Intestinal immune responses to coccidiosis. 2000; 24: 303-324.

ANEXO 1.- ANÁLISIS DE LA DIETA BASE CON ALTA INCLUSIÓN DE TRIGO (60%)

ANÁLISIS DE LOS NUTRIENTES		
Nutrientes controlados		Iniciador (1-2 días)
Nutrientes	Min %	Real
Proteína Cruda	21	21
Grasa Cruda	2.5	11
Fibra cruda	-	3.686
Calcio Total	1	1
Fósforo. Disponible	0.45	0.45
E.M. Aves MC/Kg	3	3
Met+Cistina	0.9	0.9
Lisina	1.2	1.2
Treonina	0.8	0.811
FUENTE DE ANÁLISIS:	(AGRIBRANDS PURINA®)	(AGRIBRANDS PURINA®)
MATERIAL	PASTA DE SOYA	TRIGO
Proteína	49.1	10.2
Grasa	1	3.3
Fibra	4.5	2.9
Ceniza	6.2	1.6
Humedad	11.7	12.9
ELN	27.5	69.1
Calcio	0.4	0.2
Fósforo	0.69	0.22
Taninos	-	0.41
Actividad Ureásica	0.132	-
Aflatoxinas	NSD	NSD
Vomitoxina	NSD	NSD
Zearalenona	NSD	NSD
Tricotecenos	NSD	NSD
Ocratoxinas	3 ppb	6 ppb
Fumonisina	10 ppm	.9 ppm
COMPOSICIÓN PRÁCTICA:		
INGREDIENTE	Kilogramos	Porcentaje
TRIGO	608.902	60.8902
SOYA 46 Pct.	270.621	27.0621
ACEITE CRUDO (Primera)	88.185	8.8185
CARBONATO DE CALCIO	18.199	1.8199
ORTOFOSFATO 1820	6.291	0.6291
SAL	3.5	0.35
METIONINA 98	1.601	0.1601
PREMEZCLA VITAMINAS Aves	1	0.1
PREMEZCLA MINERALES Aves	1	0.1
L-LISINA HCl	0.402	0.0402
CLORURO DE COLINA 60	0.3	0.03
Total	1000.001	100.0001

TABLA 1. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o complejo enzimático sobre el peso corporal en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas al día 13 de edad.

Grupo	Día 5 (gramos)	Día 12 (gramos)	Día 19 (gramos)	Día 26 (gramos)
Testigo negativo	63.96 ± 8.81 ^a	185.02 ± 21.92 ^a	388.89 ± 39.69 ^a	675.50 ± 71.61 ^b
Harina de <i>Aspergillus</i> spp.	65.48 ± 11.51 ^a	185.91 ± 38.53 ^a	411.16 ± 56.32 ^a	738.69 ± 62.69 ^a
Complejo enzimático	65.44 ± 10.10 ^a	193.55 ± 23.11 ^a	590.61 ± 47.34 ^a	619.10 ± 99.36 ^c
Testigo positivo	69.96 ± 11.70 ^a	201.67 ± 28.34 ^a	416.05 ± 77.18 ^a	687.90 ± 96.53 ^{ab}

* Medias en la misma columna con diferente literal son significativamente diferentes (P < 0.05).

TABLA 2. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o complejo enzimático sobre el pH de íleon y sacos ciegos en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas al día 13 de edad.

Grupo	20 días de edad		26 días de edad	
	Íleon*	Ciego*	Íleon*	Ciego*
Testigo negativo	6.33 ± 0.64 ^c	6.12 ± 0.55 ^a	6.19 ± 0.85 ^a	6.37 ± 0.53 ^a
Harina de <i>Aspergillus</i> spp.	7.06 ± 0.92 ^{ab}	6.41 ± 0.62 ^a	6.58 ± 0.69 ^a	6.87 ± 0.66 ^a
Complejo enzimático	6.50 ± 0.34 ^{bc}	6.43 ± 0.52 ^a	6.39 ± 0.70 ^a	5.78 ± 0.64 ^b
Testigo positivo	7.13 ± 0.60 ^a	6.29 ± 0.30 ^a	6.31 ± 0.60 ^a	6.43 ± 0.48 ^a

* Medias en la misma columna con diferente literal son significativamente diferentes ($P < 05$).

TABLA 3. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o complejo enzimático en pollos de engorda sobre el conteo celular (UFC/g contenido de íleon) de enterobacterias coliformes, hongos-levaduras, enterobacterias no coliformes y *Clostridium* spp., al día 20 de edad

Grupo	Coliformes (1×10^5) ^a	Hongos-Levaduras (1×10^5) ^a	Enterobacterias (1×10^5) ^a	<i>Clostridium</i> spp. (1×10^5) ^a
Testigo negativo	35.2 ± 38.8 ^b	82.4 ± 144.2 ^{ab}	44.8 ± 63.1 ^b	80.5 ± 26.6 ^a
Harina de <i>Aspergillus</i> spp.	848.8 ± 1109.4 ^a	675.2 ± 876.7 ^a	692.8 ± 901.2 ^a	114.0 ± 91.8 ^a
Complejo enzimático	124.0 ± 216.8 ^{ab}	112.0 ± 173.4 ^{ab}	70.0 ± 123.8 ^b	65.5 ± 40.8 ^a
Testigo positivo	24.0 ± 24.1 ^b	16.8 ± 13.75 ^b	10.8 ± 8.67 ^b	90.6 ± 103.3 ^a

* Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por gramo. Medias en la misma columna con diferente literal son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

TABLA 4. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* sp o complejo enzimático en pollos de engorda sobre el conteo celular (UFC/g contenido de ileon) de enterobacterias coliformes, hongos-levaduras, enterobacterias no coliformes y *Clostridium* spp., al día 26 de edad

Grupo	Coliformes (1×10^5) ^a	Hongos-Levaduras (1×10^5) ^a	Enterobacterias (1×10^5) ^a	<i>Clostridium</i> spp. (1×10^5) ^a
Testigo negativo	28.0 ± 62.6 ^a	32.0 ± 60.9 ^a	32.4 ± 60.7 ^a	3,780.0 ± 4847.4 ^{ab}
Harina de <i>Aspergillus</i> spp.	84.0 ± 187.8 ^a	272.0 ± 597.0 ^a	236.0 ± 494.4 ^a	2,595.0 ± 4420.7 ^b
Complejo enzimático	76.0 ± 147.9 ^a	140.0 ± 246.17 ^a	232.0 ± 422.0 ^a	8,890.0 ± 4111.5 ^a
Testigo positivo	24.0 ± 53.6 ^a	64.0 ± 143.1 ^a	28.0 ± 62.6 ^a	320.0 ± 364.7 ^b

* Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por gramo. Medias en la misma columna con diferente literal son significativamente diferentes (P < 0.05).

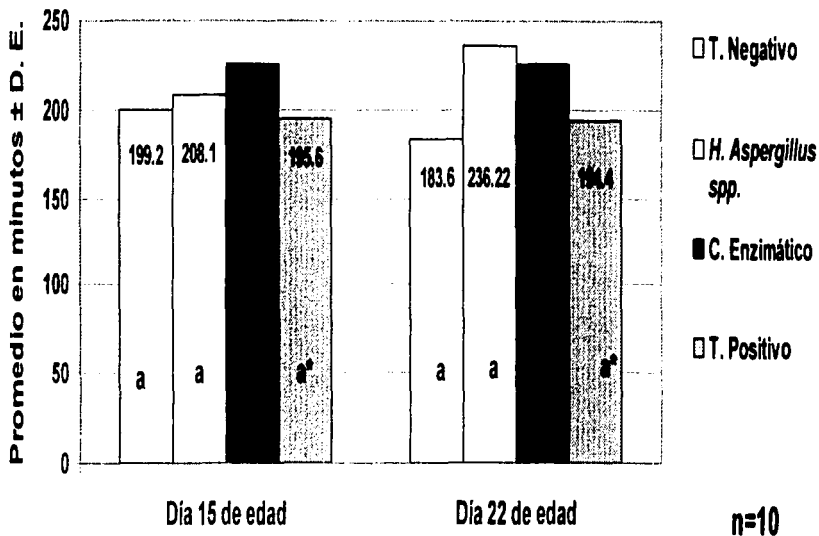
TABLA 5. Evaluación de cuenta sanguínea al día 26 de edad de leucocitos totales (%) linfocitos, heterófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y lisis leucocitaria en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas al día 13 de edad.

45

Grupo	Linfocitos (%) ^a	Heterófilos (%) ^a	Monocitos (%) ^a	Eosinófilos (%) ^a	Basófilos (%) ^a	Leucocitos Totales/ μ l ^a	Lisis Leucocitaria (%) ^a
Testigo negativo	66.83 \pm 5.30 ^{ab}	31.0 \pm 5.25 ^{ab}	1.66 \pm 1.63 ^b	0 \pm 0 ^a	0.50 \pm 0.83 ^a	4,841 \pm 1553 ^a	2.66 \pm 0.81 ^b
Harina de <i>Aspergillus</i> spp.	74.80 \pm 13.23 ^a	14.40 \pm 8.56 ^c	6.60 \pm 7.40 ^b	0 \pm 0 ^a	4.20 \pm 3.27 ^a	4,980 \pm 3126 ^a	10.8 \pm 5.71 ^b
Complejo enzimático	49.25 \pm 26.58 ^b	32.25 \pm 16.37 ^a	14.50 \pm 6.95 ^a	0.52 \pm 0.50 ^a	3.75 \pm 3.59 ^a	5,300 \pm 2312 ^a	27.75 \pm 14.9 ^a
Testigo positivo	71.16 \pm 16.36 ^{ab}	18.00 \pm 9.29 ^{bc}	7.33 \pm 5.20 ^{ab}	0.33 \pm 0.51 ^a	3.83 \pm 3.71 ^a	4,800 \pm 3222 ^a	9.33 \pm 5.16 ^b

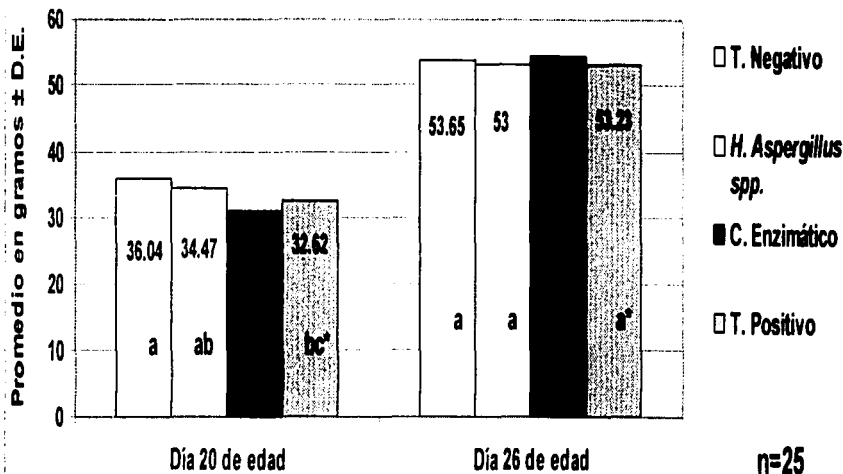
^a Medias en la misma columna con diferente literal son significativamente diferentes (P < 0.05).

Gráfica 1. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o Avizyme sobre el tiempo de tránsito gastrointestinal en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas al día 13 de edad



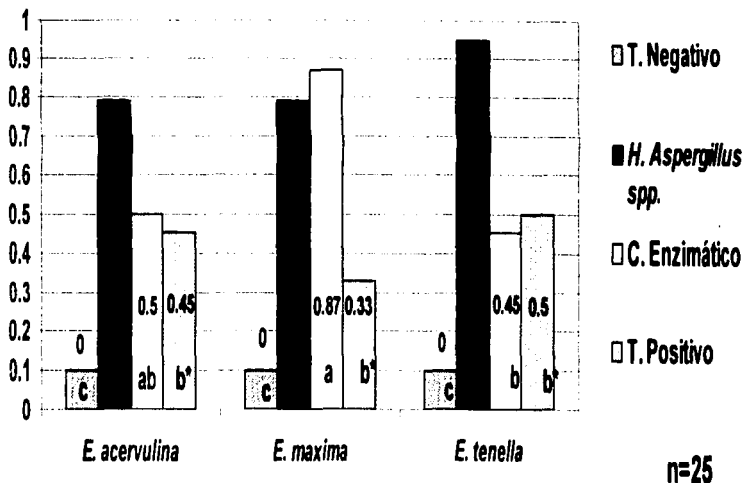
* Medias con diferente literal son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Gráfica 2. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o Avizyme sobre el peso total del tracto gastrointestinal en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas al día 13 de edad.



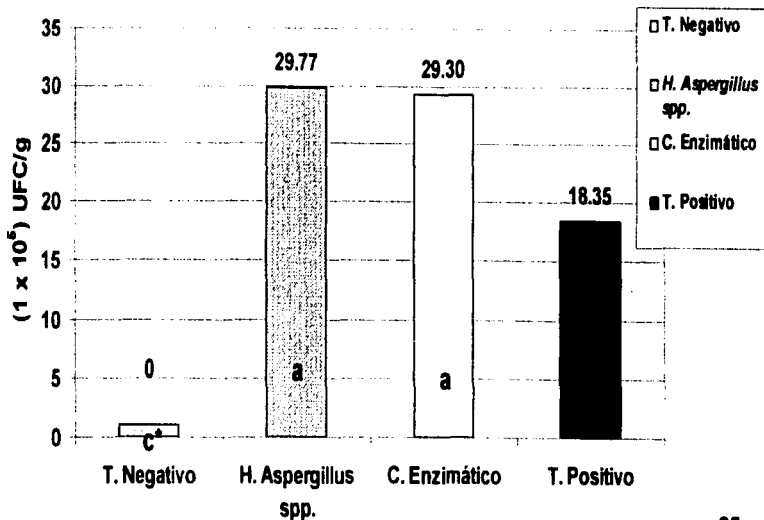
* Medias con diferente literal son significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Gráfica 3. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o Avizyme sobre el escort de lesiones al día 21 de edad en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas



* Calificaciones con diferente literal son significativamente diferentes (P<0.05)

Gráfica 4. Efecto de la administración dietética de harina de *Aspergillus* spp., o Avizyme sobre la eliminación de oocistos al día 21 de edad en pollos de engorda desafiados con coccidias patógenas



n=25

* Medias con diferente literal son significativamente diferentes ($P < 0.05$)