



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

EFFECTO DE VARIOS METODOS DE CONSERVACION SOBRE
LA VIABILIDAD Y ESPORULACION DE OOQUISTES DE
Eimeria ssp. PROVENIENTE DE POLLO DE ENGORDA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

EDWARD ALFREDO PEREZ SANCHEZ

ASESORES: MVZ MC XOCHITL HERNANDEZ VELASCO
MVZ EDPV MC VICTOR MANUEL PETRONE GARCIA



MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

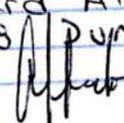
**EFFECTO DE VARIOS MÉTODOS DE CONSERVACIÓN SOBRE LA VIABILIDAD
Y ESPORULACIÓN DE OOQUISTES DE *Eimeria* spp. PROVENIENTE DE
POLLO DE ENGORDA.**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Pérez Sánchez

Edward Alfredo

FECHA: 28 Junio 04

FIRMA: 

DEDICATORIA

A mi madre Rosa M^a, quien siempre estuvo al pendiente y ha sido un gran pilar para poder alcanzar mis objetivos y metas. Gracias.

A mis amores, Vanessa y Fernanda quienes se han convertido en mis cimientos y me hacen replantearme objetivos y metas para ser mejor cada día. Las amo.

A mi abuelita M^a Teresa Lojero†, quien con sus consejos me demostró todo su amor. Siempre estarás conmigo.

A mi hermano Luis, que con su compañía y consejos ha contribuido a formar una mejor persona.

A mi tía Gloria, que siempre estuvo en el momento adecuado para apoyarme.

A Candy, Laica†, Hans† y Tisha, que con su cariño y compañía me hicieron ver la importancia de mi profesión.

LOS AMO

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por darme la oportunidad de ser parte de esta casa de estudios de la cual me siento orgulloso.

A mis asesores MVZ MC Xochitl Hernández Velasco y MVZ EDPV MC Víctor Manuel Petrone García por su apoyo, tiempo, conocimientos y por contribuir con sus valiosas aportaciones al mejoramiento de este trabajo.

A los miembros de mi jurado MVZ Ernesto Ávila Gonzáles, MVZ Froilan Ibarra Velarde, MVZ Frida Salmerón Sosa, MVZ Jorge Francisco Monroy López y MVZ Xochitl Hernández Velasco por compartir su tiempo y conocimientos en el mejoramiento de este trabajo.

Al MVZ MC Xochitl Hernández Velasco por su tiempo, paciencia y apoyo incondicional; además de sus valiosos consejos en todo momento.

A todos los académicos que desde el primer semestre han sido parte de mi formación académica.

A mi primo el MVZ Víctor Nava Trujillo por apoyarme para la toma de las muestras del presente trabajo.

A todos mis amigos, por su amistad incondicional y su apoyo en todo momento.

A todas las personas que de forma directa o indirecta contribuyeron a la elaboración de este trabajo y cuya labor agradezco infinitamente.

GRACIAS

CONTENIDO

	<u>Página</u>
TÍTULO	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CONTENIDO	IV
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE ABREVIATURAS	VI
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	14
MATERIAL Y MÉTODOS	16
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	26
REFERENCIAS	28
ANEXO	31

LISTA DE FIGURAS

	<u>Páginas</u>
Figura 1. Promedio \pm desviación estándar del número de ooquistes por gramo de heces de pollo de engorda con cuatro métodos de conservación a diferentes tiempos.	31
Figura 2. Efecto de cuatro métodos de conservación de heces de pollo de engorda sobre el porcentaje de esporulación a diferentes tiempos.	32

LISTA DE ABREVIATURAS

μm	Micrometro
°C	Grados centígrados
min	Minutos
opgh	Ooquistes por gramo de heces
sss	Solución salina saturada
ml	Mililitro
PBS	Solución amortiguada de fosfatos
grs	Gramos

RESUMEN

PÉREZ SÁNCHEZ, EDWARD ALFREDO. Efecto de varios métodos de conservación sobre la viabilidad y esporulación de ooquistes de *Eimeria* spp. proveniente de pollo de engorda. (bajo la dirección de MVZ MC Xochitl Hernández Velasco y MVZ EDPV MC Víctor Manuel Petrone García)

La Coccidiosis aviar es la enfermedad parasitaria más importante de la Industria Avícola a nivel mundial, causada por protozoarios del género *Eimeria*. Las mayores limitantes para el diagnóstico certero de la enfermedad, y la evaluación de coccidiostatos o vacunas, es el método utilizado para el envío de las muestras, el medio de conservación y el tiempo que tardan en ser analizadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto que tienen los siguientes tratamientos: 1) medio ambiente, 2) desinfectante para cama, 3) refrigeración y 4) solución de dicromato de K al 2.5%, sobre la viabilidad y esporulación de *Eimeria* spp. en excretas de pollo de engorda, como métodos de conservación para el envío de excretas frescas al laboratorio de diagnóstico. Cada tratamiento constó de 5 réplicas (n=5), etiquetadas del 1 al 5 y los conteos se realizaron en forma secuencial y siempre en el mismo orden. Se realizó un conteo basal con la técnica de McMaster, así como para las muestras a las 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144, y 168 horas postratamiento. Después del análisis cuantitativo, en cada lectura se evaluó el porcentaje de esporulación por grupo. A las 168 horas postratamiento se observó que las muestras del tratamiento 1 tuvieron 68.49% de ooquistes viables y 16% de esporulación. El tratamiento 2 conservó 61.45% de ooquistes con 8% de esporulación; ambos grupos fueron similares entre sí ($P>0.05$) pero distintos, con respecto al grupo 3 ($P<0.05$), donde se observaron 47.02% de ooquistes viables y solo esporularon el 6%, mientras que el tratamiento 4 conservó viables la mayor cantidad ($P<0.05$) de ooquistes (80.53%), así como mayor esporulación (46%) en todos los grupos. Aunque la refrigeración es muy común para el envío de muestras de excretas para el diagnóstico de ooquistes, las muestras enviadas en solución de dicromato de potasio al 2.5% es el mejor método de conservación. El desinfectante para cama no se consideró un conservador de ooquistes en excretas debido a que impide un diagnóstico preciso del número de ooquistes que están eliminando las aves en un momento dado. Es de suma importancia procesar las muestras lo antes posible o bien, al analizar los resultados del laboratorio se debe tomar en cuenta el tiempo y el medio en que han sido conservadas antes de su conteo, esto ayudará a tomar decisiones acertadas para el control de la coccidiosis en las granjas avícolas.

INTRODUCCIÓN

Resulta de mucha importancia lograr una adecuada identificación y cuantificación de las especies de *Eimeria* en una caseta avícola para así, tener un control de todas ellas y evitar que se afecten los parámetros productivos en las parvadas; hoy en día existen muchas opciones viables para la prevención y control de coccidiosis, tales como el uso de anticoccidianos y su rotación adecuada, así como el uso de vacunas. El uso de cualquiera de ellos debe estar justificado basado en el comportamiento productivo de las parvadas, según las condiciones particulares de manejo y medio ambiente propias de la explotación y el uso de exposiciones controladas con un adecuado seguimiento de las parvadas.¹

Para evaluar la efectividad del método para controlar la coccidiosis, es de primordial importancia el contar con información precisa del grado de reproducción de las coccidias en una parvada, así como de las especies presentes, de modo que puedan darse tratamientos específicos oportunos o incluso decidir, basado en datos reales sobre el cambio de anticoccidiano o del método de prevención. En la actualidad muchas de las rotaciones de anticoccidianos se hacen basadas en datos empíricos, por no llevar a cabo muestreos rutinarios de las parvadas. En los casos en que si se llevan muestreos, a veces los datos obtenidos no son los representativos, por escoger un método inadecuado para la toma, conservación y envío de muestras de heces frescas al laboratorio de diagnóstico.²

Antecedentes

1.1 Definición de la coccidiosis aviar

La coccidiosis aviar es una enfermedad del aparato digestivo causada por protozoarios del género *Eimeria*. Clínicamente se caracteriza por producir diarrea a veces con moco color naranja o con sangre y anemia, y en la forma subclínica por un síndrome de mala digestión; con una mortalidad variable.^{3,4,5,6}

1.2 Historia

En 1674, Leeuwenhoek observó por primera vez un protozooario en los conductos biliares de conejo, al que después se le llamó *Eimeria stidae*. Leucart en 1879 utilizó la palabra *Coccidium* y definió a los parásitos como elementos intracitoplasmáticos de forma esférica u oval.^{4,7}

Eimer en 1870 logra diferenciar las fases asexuales y sexuales e indica que los ooquistes son las formas de transmisión de la infección.^{4,7}

Railliet y Lucet en 1891 descubrieron a *Coccidium tenellum* como un parásito del ciego de pollos, causante de la coccidiosis en diferentes tipos de aves.^{4,8}

Schaudin en 1900 describió el ciclo biológico de una coccidia y Hardley en 1911 publicó un estudio morfológico de *E. avium*, que más tarde se llamó *E. tenella* y a la cual se le responsabilizó de causar la coccidiosis en pollos y gallinas.^{4,7}

Tyzzar *et al.* de 1929 a 1932, realizaron estudios detallados de la biología y la patogenia de *E. tenella*. Además identificaron y describieron a *E. acervulina*, *maxima*, *necatrix* y *mitis*.^{4,5,8}

Posteriormente se fueron identificando otras especies: Johnson en 1930 *E. necatrix* y *E. preacox*, Levine en 1938 *E. hagani* y *E. brunetti*, Edgar y Siebold en 1964 *E. mivati*.^{4,5,8}

El control de esta parasitosis inició con la introducción de las sulfonamidas por Levine a finales de los 40's; pero, debido al desarrollo de la resistencia por parte de las coccidias a los agentes farmacológicos, se estudian formas alternativas para su control.^{4,9}

1.3 Importancia de la enfermedad

La coccidiosis es un problema en varias especies animales (como los bovinos, caprinos, cerdos, conejos y particularmente a las gallinas y pollos mayores a tres semanas de edad; entre otros). Pero, así como la industria avícola ha desarrollado mejor eficiencia en su producción, ha incrementado los factores estresantes, la presión de producción y el hacinamiento; por lo anterior han provocado que las condiciones medio-ambientales sean favorables para la reproducción de las coccidias.^{4,8,10,11}

Ante este panorama, podemos mencionar que la coccidiosis aviar es la enfermedad parasitaria más importante en la producción de pollos de engorda en México, debido a que afecta los parámetros productivos, como son: mortalidad, ganancia de peso, conversión alimenticia y pigmentación; pues el parásito se multiplica en las células intestinales, ocasionando daño tisular, afectando la digestión, la absorción y el metabolismo de nutrientes, por lo que causa anemia y deshidratación y predispone a la presentación de otras enfermedades. Además, de aumentar la mortalidad y los costos de producción debido al uso continuo de anticoccidianos para prevenirla.^{1,4,8}

1.4 Epidemiología

1.4.1 Distribución geográfica

La coccidiosis aviar es la parasitosis más importante y común en la industria avícola, presenta una distribución mundial debido a que es una enfermedad que resiste la variabilidad climática. Los informes existentes en cuanto a la presencia de determinadas especies de coccidias, coinciden en señalar que la presentación es más frecuente en clima húmedo.^{2,4,11,13,14}

1.4.2 Especies susceptibles

La especificidad de hospedador es una característica muy importante; las especies que afectan a los pollos no afectan a ninguna otra especie de aves, ni viceversa.^{4,15}

La coccidiosis es una enfermedad que se presenta en aves mayores de 3 semanas de edad, debido a una adecuada cantidad de quimiotripsina y sales biliares que están presentes durante la digestión, provocando el desenquistamiento de la coccidia; la infección es poco frecuente en aves adultas debido a la naturaleza autolimitante de la enfermedad, pues después de 2 ó 3 exposiciones, se desarrolla inmunidad que protege a las aves contra brotes de la misma especie. Aunque es común ver varios brotes de diferentes especies en una parvada debido a que no existe inmunidad cruzada.^{4,5,8,16}

1.4.3 Transmisión

Las aves infectadas pueden eliminar ooquistes en las excretas por varios días o semanas, la eliminación máxima se presenta entre las 4 y 5 semanas de edad y posteriormente disminuyen^{4,12}. La enfermedad se disemina dentro y entre granjas en forma mecánica.⁸

1.5 Etiología

Las coccidias pertenecen al phylum Apicomplexa y a la familia *Eimeriidae*. Existen cerca de 900 especies que afectan ránidos, anélidos, insectos, reptiles, anfibios, aves y mamíferos¹⁷. Se reconocen siete especies de *Eimeria* que producen infecciones características en pollos: *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. mitis* y *E. praecox*, ya que *E. hagani* y *E. mivati* no han sido aceptadas como especies distintas.^{8,10,18,19}

En México las especies de *Eimeria* más frecuentes que afectan al pollo de engorda son: *E. tenella*, *E. acervulina* y *E. maxima*²⁰. Existen además dentro de cada especie, cepas con diferente grado de patogenicidad.²¹

1.5.1 Ooquiste esporulado

El ooquiste esporulado, es un cigoto de forma ovoide de doble pared que contiene 4 esporoblastos y cada esporoblasto contiene 2 esporozoitos. Los ooquistes de la *Eimerias* que afectan a los pollos de engorda miden desde (11 a 18 μm) X (12 a 19 μm) hasta (16 a 30 μm) X (22 a 42 μm) de ancho por largo respectivamente. Para esporular necesita temperaturas arriba de 4°C además de humedad y oxigenación.^{4,8,18}

1.5.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida de las coccidias consta de tres fases: esporogonia, esquizogonia y gametogonia. La primera fase ocurre fuera del huésped e involucra el desarrollo de la fase infectante (ooquiste esporulado). La segunda y tercera fase se llevan a cabo dentro del huésped e implican la multiplicación asexual masiva (fase de esquizogonia) y sexual (fase de gametogonia) respectivamente.^{8,22}

La infección inicia con la ingestión de ooquistes esporulados que se encuentran contaminando agua, alimento o cama. Posteriormente la pared del ooquiste se rompe por la acción mecánica de la molleja, pepsina, ácido clorhídrico y el efecto de la temperatura del hospedero. Finalmente, los esporozoitos se liberan en el lumen intestinal por acción de enzimas pancreáticas y sales biliares. Mientras que los esporozoitos de *E. acervulina* y *E. praecox* se desarrollan dentro de las células epiteliales del intestino, los esporozoitos de *E. tenella*, *E. brunetti* y *E. necatrix* son transportados del epitelio a las células epiteliales de las criptas intestinales por leucocitos intraepiteliales y macrófagos, para su posterior desarrollo.^{4,5,8,19,15}

En el ciclo reproductivo de *E. tenella* cada esporozoito pasa al estado de trofozoito entre el primer y segundo día ¹⁹, el cuál se multiplica por fisión binaria y da origen a un esquizonte de primera generación del segundo al tercer día post-infección, éste da lugar a 900 merozoitos de primera generación, cada uno de los cuales penetra a una nueva célula y de él se originan de 200 a 350 merozoitos de segunda generación que del cuarto al quinto día post-infección inician la ruptura de los enterocitos y se liberan, con la subsecuente aparición de hemorragias macroscópicas ^{4,5}. Los merozoitos de segunda generación penetran a otras células intestinales para formar a los micro y macrogametos, cada microgametogonia produce un gran número de microgametos biflagelados, los cuales fertilizan al macrogameto al sexto día post-infección y al séptimo día dan origen a un cigoto de pared gruesa que posteriormente se libera de la célula y se elimina en las heces como ooquiste no esporulado. ^{4,10,19}.

La fase de esporogonia dura 48 horas o más y se realiza en el suelo bajo condiciones apropiadas de oxígeno, humedad y temperatura que al concluir, da origen a un ooquiste esporulado con capacidad infectante. ^{10,21}

1.5.3 Resistencia a agentes físicos y químicos

Los ooquistes son relativamente resistentes a ambientes extremos, así como a los desinfectantes y antibióticos comunes. Sin embargo, son sensibles a la exposición a temperaturas de 48 °C por 15 min., a la congelación y a la desecación, al igual que al amoníaco y a la acción de hongos y bacterias, por lo que su supervivencia en la cama o en las excretas es limitada. ^{8,23,24,25}

1.6 Signos clínicos

La coccidiasis es la presentación subclínica de la enfermedad. Se caracteriza por su cronicidad, baja mortalidad y signos inespecíficos. Aunque es la presentación más frecuente de esta parasitosis, comúnmente se confunde con otros

padecimientos (como enteritis ulcerativa, intoxicaciones alimenticias, enfermedad de Newcastle y pasteurelisis) o pasa desapercibida.^{3,6,8,21}

La presentación clínica se caracteriza por presentar plumas erizadas, depresión, diarrea, anemia, mala digestión, disminución del consumo de alimento y en la ganancia de peso y aumento de la mortalidad.^{5,8,21,26}

Ambas están determinadas por las especies de *Eimeria* presentes, el grado de patogenicidad de la cepa (alta, mediana y baja), la dosis infectante, la interacción con otros patógenos, así como la edad, el estado inmunológico y fisiológico del hospedero, además de algunos factores ambientales y de manejo.^{4,8,13}

1.7 Diagnóstico

Para realizar el diagnóstico se toman en cuenta:

- Los signos clínicos: Los anteriormente mencionados; y específicamente en casos de *E. tenella*, diarrea que puede ser sanguinolenta, y cuando este presente *E. maxima* la presencia de moco naranja en las excretas.
- Las lesiones a la necropsia: enteritis catarral o hemorrágica, tiflitis hemorrágica y pérdida de tono del intestino, abalonamiento y engrosamiento de la mucosa.²¹
- La observación de ooquistes a partir de muestras sospechosas mediante el examen coproparasitológico.

Para determinar cual es la especie presente, es importante:

- El aislamiento de los ooquistes.
- Identificación de las especies involucradas por el tamaño, forma y color de los ooquistes.
- La reproducción de la enfermedad.

El diagnóstico cuantitativo de ooquistes por gramo de heces (opgh) se realiza con el examen coproparasitológico de muestras de animales sospechosos, usando la técnica de McMaster como prueba cuantitativa, y ésta incluye el método de flotación que se utiliza para la identificación de las especies de *Eimeria* presentes mediante la medición de ooquistes con una escala micrométrica ocular para el diagnóstico cualitativo, por morfometría.^{27,28,29,30}

1.8 Métodos de diagnóstico

1.8.1 Examen macroscópico

Dependiendo del tipo de *Eimeria* que se encuentre afectando al ave, se pueden observar diversas lesiones macroscópicamente a la necropsia. Debido a que el daño provocado por las coccidias difiere de acuerdo a la especie o especies involucradas, pues afectan distintas porciones del intestino.

1.8.2 Examen citológico

Mediante raspados del contenido intestinal y superficie mucosa deben mezclarse y diluirse con agua destilada, se pone un cubreobjetos y se examina al microscopio.

Se efectúa un raspado para descartar la presencia de ooquistes de la mucosa como examen cualitativo en los diferentes tercios, se debe diluir una gota de agua destilada en un portaobjetos. La medición de 100 ooquistes por el método de flotación se utiliza para medir el largo y el ancho del ooquiste con relación a la forma y el color para el diagnóstico diferencial por especie.

A partir de varios segmentos del intestino y contenido cecal, efectuar frotis húmedos de raspados mucosos y examinarlos de manera directa bajo el microscopio en busca de ooquistes y merozoitos suspendidos y etapas que se desarrollan en las células epiteliales (etapas tisulares), la desventaja de este tipo

de herramienta diagnóstica es que únicamente es una prueba cualitativa y no indica la cantidad de ooquistes que excreta el ave.¹³

1.8.3 Monitoreo

Para realizar el monitoreo se recomienda tomar 30 muestras de excretas y cama por caseta, semanalmente a partir de las dos semanas. Es necesario tomar diferentes muestras de diversos sitios de la caseta, para que el estudio se considere representativo, y es recomendable que la muestra sea de la capa superior de la cama. En cuanto a las excretas, deben ser recientes y contener la menor cantidad de cama o ser tomadas directamente del ave. Hay diferentes formas para realizar la recolección de las muestras, las más comúnmente utilizadas son: en zig-zag por todo el ancho de la caseta, o trazando dos líneas imaginarias paralelas a lo largo de la caseta¹³. La cantidad que se toma es de mínimo 30 muestras de aproximadamente 0.5 g cada una.

1.8.4 Examen microscópico

Técnica de McMaster a partir de muestras de excretas: Pesar 2 gramos de excretas frescas en el frasco para la técnica de McMaster, se agrega un poco de solución salina saturada (sss), sin llenarlo, para facilitar la dilución de la muestra sin formar grumos de excretas y burbujas. Después se agrega sss hasta llenar el tubo con un volumen de 30 ml. Se agita gentilmente el tubo y se toma con un gotero muestra del tercio superior para que sea aleatoria la toma de muestra y se coloca en la cámara de McMaster y después de 2 minutos (tiempo en que suben los ooquistes a la superficie) podemos iniciar el recuento utilizando un microscopio con el objetivo de 10x.

El número de ooquistes contados en ambas celdas de la cámara se multiplica por 100 y se divide entre 2, para obtener el número de ooquistes por gramo de muestra.

El número de ooquistes en las excretas es algo que tiene que ser interpretado con mucha cautela. Grandes cantidades, de más de 100,000 por gramo tiene un claro valor diagnóstico. Si el número es menor, hay que pensar en realizar una investigación mas completa de la explotación avícola para evaluar posibles brotes, tratamientos, síntomas clínicos y otros indicios que deberán ser tomados en cuenta para hacer una correcta evaluación de la situación. Una cantidad de menos de 10,000 por gramo de excretas no requiere generalmente un tratamiento inmediato.

1.8.5 Toma de muestras

Para la obtención de excretas directamente del ave, se toma gentilmente al ave con una mano y se presiona con la otra la región abdominal en dirección caudal, posteriormente se procede a recolectar las excretas, el material donde será transportada la muestra dependerá del tiempo en el que será examinada.

Las excretas deben ser remitidas en un recipiente sellado debidamente identificado con fecha, hora de obtención de la muestra, nombre de la granja, nombre del que remite y cualquier información que sea de interés, se pueden enviar en refrigeración a 4°C si la muestra se va a trabajar hasta antes de 24 horas ³¹. Para su conservación o transporte en envíos prolongados es necesario agregarles solución de dicromato de potasio al 2.5% en una relación 1:5 (heces: dicromato de potasio).

1.8.6 Técnica de McMaster de muestras en dicromato de potasio

1. Pesar el tubo.
2. Centrifugar la muestra. Esto se realiza cuando se desconoce la cantidad de solución de dicromato de potasio que se agregó a la muestra.
3. Retirar el sobrenadante con una pipeta.
4. Pesar el tubo con las excretas.

5. Restar el peso del tubo al peso del tubo con excretas para obtener los gramos de excretas.
6. Regresar el sobrenadante al tubo.
7. Completar con sss hasta llenarlo a 30ml.
8. Agitar gentilmente y tomar una muestra con un gotero, llenar la cámara y observar al microscópio con objetivo 10x.
9. Multiplicar el número total de ooquistes en las 2 cámaras por 100 y dividir el resultado entre el número de gramos de excretas obtenido en el punto 5, para obtener el número de ooquistes por gramo.

1.9 Métodos para conservar ooquistes de *Eimeria* spp.

Dentro de los métodos para la conservación de coccidias aviarias contamos con el dicromato de potasio al 2.5% y la refrigeración pero no ha sido evaluada la viabilidad de la coccidia en relación al tiempo para saber cuál de estos métodos mantiene la integridad del ooquiste de *Eimeria* spp. y conserva mejor la cantidad de coccidias en la muestra durante su envío al laboratorio de diagnóstico, por lo cual permita realizar un diagnóstico más preciso, pues debido a los diferentes tipos de medios en que se envían las muestras, se da lugar a una importante diferencia entre los resultados entre cada laboratorio.

1.9.1 Dicromato de potasio

El dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) es un sólido cristalino rojo, soluble en agua. Este compuesto contiene poderosos agentes oxidantes utilizados en cerillas o fósforos y fuegos artificiales, en el tinte textil, en el curtido de cuero y como método de conservación de excretas frescas para el diagnóstico de coccidia aviar, debido a que es un elemento oxidante, es decir aporta oxígeno el cual actúa como bactericida e induce la esporulación.^{1,19,32}

Fue descubierto y nombrado en 1807 por el químico británico sir Humphry Davy. Es un producto tóxico, debido a que causa quemaduras en la piel y se absorbe por la misma, causando de esta manera lesiones en sangre, pulmones, hígado, riñones, y tracto gastrointestinal, pues contiene cromo que es un producto cancerígeno.³²

1.9.2 Refrigeración

La refrigeración ha sido un método de conservación por excelencia, y se ha utilizado para el envío de muestras de excretas al laboratorio de diagnóstico. Las muestras enviadas con refrigerantes pueden ser tanto excretas frescas, como material de cama. Se recomienda este método para envíos de no más de 24 horas de traslado³³, y debido a que la refrigeración mantiene la muestra a 4°C se reduce la esporulación³⁴. Este método de conservación actúa reduciendo la replicación bacteriana y por lo tanto la fermentación y producción de amoníaco, que son nocivos para las coccidias.

1.9.3 Desinfectante para cama

El desinfectante para la cama utilizado en este estudio contiene fosfatos que sirven como buffer para mantener la humedad (en este caso de la muestra); las sales de hierro y caolín son bactericidas por lo que se evita la contaminación bacteriana de la muestra y por ende la alteración en la integridad del ooquiste; y el cobre inhibe el crecimiento de los hongos.

Con estos antecedentes, se planteó la realización del presente estudio a fin de evaluar los medios de conservación de coccidia para envío de muestras de excretas al laboratorio de diagnóstico como son la refrigeración y el dicromato de K al 2.5% y determinar el efecto de un desinfectante para la cama como conservador de coccidia en excretas de pollo de engorda, debido a su acción antifungal y bactericida.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar cuál de los métodos de conservación: medio ambiente, dicromato de K al 2.5%, refrigeración y desinfectante para la cama (a base de fosfatos, sales de cobre, hierro y caolín) es mejor para mantener la integridad de ooquistes de *Eimeria* spp contenidos en excretas de pollo de engorda.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto sobre la viabilidad y esporulación de *Eimeria* spp proveniente de pollo de engorda, utilizando un desinfectante para la cama a base de fosfatos, sales de cobre, hierro y caolín.
- Determinar cual de los métodos de conservación, induce una mejor esporulación del ooquiste de *Eimeria* spp.

HIPÓTESIS

- Si el desinfectante para la cama que contiene fosfatos, sales de hierro, cobre y caolin no afecta la viabilidad ni la capacidad de esporulación de la coccidia y mantiene la cantidad de ooquistes inicial en heces, entonces podrá ser considerado como un método más de conservación.
- El dicromato de K conserva mejor la viabilidad de las coccidias y tiene una mejor inducción a la esporulación que la refrigeración y el medio ambiente.

MATERIAL Y MÉTODOS

INSTALACIONES

La recolección de excretas frescas se llevó a cabo en una granja de pollos de engorda de una compañía avícola de la parte central de la República Mexicana; esta granja maneja 50,000 aves divididas en cuatro casetas, cada una de las cuales tiene una longitud de 100 metros por 10 metros de ancho. Cuenta con comederos de bote y bebederos de campana.

ANIMALES PARA EXPERIMENTO

Se realizó el muestreo a los 28 días de edad en pollo de engorda mixtos provenientes de una incubadora comercial, donde fueron vacunados al día de edad por aspersión contra coccidiosis y su alimentación careció de coccidiostatos y promotores de crecimiento.

INÓCULOS

Solución amortiguada de fosfatos (PBS): Preparada con fosfato monobásico de potasio 0.32%, fosfato dibásico de sodio 0.10%, cloruro de sodio 0.17% y agua destilada cbp 1000ml.

Dicromato de K al 2.5%: dicromato de potasio cristal formulado con K_2 , Cr_2 , y O_7 . Preparada con 25g en un litro de agua.

Desinfectante para cama: contiene una composición de fosfatos, sales de cobre, hierro y caolín.¹

¹ Agroindustria Impulso S.A.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El muestreo se realizó en zig-zag por todo lo ancho de las casetas hasta lograr una muestra de 1500grs., las excretas se mezclaron perfectamente para obtener una cantidad de ooquistes homogénea y se realizó un muestreo basal para determinar la cantidad de ooquistes con los que contaba la muestra.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se asignaron 4 tratamientos (medio ambiente –testigo-, desinfectante para cama, refrigeración y dicromato de K al 2.5%) con 5 réplicas cada uno; se determinó que cada tratamiento tuviera 50grs de excretas, por lo que se empleó 1000grs de muestra para el presente estudio.

TRATAMIENTO 1

Este fue el testigo del experimento y se adicionó a los 50grs de excretas de cada frasco 50ml de PBS, (que sirve para mantener la humedad homogénea dentro de cada frasco) y se mantuvo al medio ambiente.

TRATAMIENTO 2

Para simular lo que tendría las excretas del área, se le aplicó 1g de polvo desinfectante para la cama, por los 250grs de excretas totales que se utilizaron, basados en la dosis especificada por el fabricante (50grs de desinfectante por metro cuadrado de cama). Una vez homogenizada esta muestra se pesaron los 50grs para cada frasco, se adicionaron 50ml de PBS y se mantuvieron al medio ambiente.

TRATAMIENTO 3

Este grupo se mantuvo en refrigeración y solo se sacaba para tomar la muestra.

TRATAMIENTO 4

A este se le adicionó por cada 50grs de heces, 50ml de dicromato de K al 2.5% y se mantuvo al medio ambiente.

Una vez realizado el conteo basal se procedió a adicionar los tratamientos, posteriormente se realizaron las mediciones tomando 4 ml de cada frasco para realizar el estudio cuantitativo con la técnica de McMaster a las 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144, y 168 horas después de haber aplicado los distintos tratamientos. Los 4 tratamientos fueron etiquetados como réplica 1, 2, 3, 4 y 5, de esa manera se realizaron los conteos en forma secuencial.

Al final de los conteos de los tratamientos y sus respectivas réplicas se mezclaron las replicas de cada tratamiento y se realizó el estudio cualitativo para la identificación de las especies de *Eimeria* spp. contenidas en las heces mediante una escala micrométrica ocular, a partir de 100 ooquistes por tratamiento para ver la esporulación de los ooquistes a las diferente horas posttratamiento.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El coeficiente de variación del número de ooquistes viables por gramo de heces en los diferentes grupos se obtendrá a partir del promedio y la varianza de cada una de las series de conteos; la comparación múltiple de las medias de los grupos se evaluarán por medio del paquete estadístico SAS a través de la prueba de Tukey, con una significancia de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Determinación de la viabilidad de los ooquistes de *Eimeria* spp.

6 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado con la solución dicromato de K al 2.5% presentó la mayor cantidad de ooquistes por gramo de heces (opgh) 147,670; seguido de los grupos medio ambiente 143,790opgh y desinfectante para cama 123,080opgh, estos grupos no presentaron diferencia estadística entre ellos ($p>0.05$); sin embargo, si se observó diferencia estadística mayor de todos los anteriores($p<0.05$) en comparación con el grupo tratado con refrigeración 96,170opgh (Figura 1).

12 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado con la solución dicromato de K al 2.5% presentó la mayor cantidad de opgh 147,050; sin embargo no fue estadísticamente diferente ($p>0.05$) al grupo tratado al medio ambiente 138,900opgh, y presentó diferencia estadística $p<0.05$) con respecto a los grupos tratados con desinfectante para cama 122,650opgh y refrigeración 100,080opgh. Entre los grupos medio ambiente y desinfectante para cama no hubo diferencia estadística ($p>0.05$) pero ambos fueron estadísticamente mayores en el número de opgh ($p<0.05$) con respecto al grupo tratado con refrigeración.

24 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado con la solución de dicromato de K al 2.5% presentó la mayor cantidad de opgh 138,420; sin embargo no fue estadísticamente diferente ($p>0.05$) al grupo tratado al medio ambiente 135,230opgh, y presentó diferencia estadística ($p<0.05$) con respecto a los grupos tratados con desinfectante para cama 120,260opgh y refrigeración 98,690opgh. Entre los grupos medio ambiente y desinfectante para cama no se observó diferencia estadística ($p>0.05$) pero si ($p<0.05$) con el grupo tratado con refrigeración.

36 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado al medio ambiente presentó la mayor cantidad de opgh 138,840; sin embargo no fue estadísticamente diferente ($p>0.05$) al grupo tratado con la solución de dicromato de K al 2.5% 138,010opgh, y ambos presentaron diferencia estadística ($p<0.05$) con respecto a los grupos tratados con desinfectante para cama 124,060opgh y refrigeración 97,180opgh. Entre los grupos desinfectante para cama y refrigeración también se observó diferencia estadística significativa($p<0.05$).

48 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado con la solución de dicromato de K al 2.5% presentó la mayor cantidad de opgh 136,700; sin embargo no fue estadísticamente diferente ($p>0.05$) al grupo tratado al medio ambiente 136,100opgh, y ambos presentaron diferencia estadística ($p<0.05$) con respecto a los grupos tratados con desinfectante para cama 122,560opgh y refrigeración 96,780opgh. Entre los grupos desinfectante para cama y refrigeración también se observó diferencia estadística significativa($p<0.05$), siendo el desinfectante para cama el que tuvo mayor cantidad de opgh.

60 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado al medio ambiente presentó la mayor cantidad de opgh 135,880; seguido de los grupos tratados con la solución de dicromato de K al 2.5% 133,630opgh y desinfectante para cama 120,750opgh, estos grupos no presentaron diferencia estadística entre ellos ($p>0.05$); sin embargo, si se observó diferencia estadística ($p<0.05$) en comparación con el grupo tratado con refrigeración 97,060opgh.

72 horas posteriores al tratamiento. El grupo tratado con la solución de dicromato de K al 2.5% presentó la mayor cantidad de opgh 132,240; y estadísticamente presentó una diferencia ($p<0.05$) con respecto a los grupos medio ambiente 122,050opgh, desinfectante para cama 113,950opgh y refrigeración 89,000opgh. Entre los grupos medio ambiente y desinfectante para cama no hubo diferencia estadística ($p>0.05$), pero si hay diferencia estadística ($p<0.05$) de estas con respecto al grupo tratado con refrigeración.

Se observó el mismo comportamiento en todos los grupos a partir de las 72 horas postratamientos hasta la hora 168.

Determinación de la esporulación de los ooquistes de *Eimeria* spp.

6 horas posteriores al tratamiento. No se observó esporulación en ninguno de los tratamientos (Figura 2).

12 horas posteriores al tratamiento. Se observó esporulación en los tratamientos con desinfectante para cama y refrigeración, el 1% en ambos; en los tratamientos medio ambiente y la solución dicromato de K no se observó esporulación.

24 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 4%; los tratamientos medio ambiente, desinfectante para cama y refrigeración se observó el 1% de esporulación.

36 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 6%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 2% de esporulación y los tratamientos desinfectante para cama y refrigeración el 1%.

48 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 8%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 4% de esporulación y los tratamientos desinfectante para cama y refrigeración el 2%.

60 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 13%; el

grupo tratado al medio ambiente se observó el 4% de esporulación y los tratamientos desinfectante para cama y refrigeración el 2%.

72 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 22%; los grupos tratados al medio ambiente y desinfectante para cama se observó el 6% de esporulación y el grupo tratado en refrigeración se observó el 2%.

96 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 30%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 9% de esporulación y los tratados con desinfectante para cama y refrigeración se observó el 8 y 2% de esporulación respectivamente.

120 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 33%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 11% de esporulación y los tratados con desinfectante para cama y refrigeración se observó el 8 y 3% de esporulación respectivamente.

144 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 38%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 13% de esporulación y los tratados con desinfectante para cama y refrigeración se observó el 8 y 4% de esporulación respectivamente.

168 horas posteriores al tratamiento. Se observó en el tratamiento con la solución de dicromato de K mayor porcentaje de esporulación con un 46%; el grupo tratado al medio ambiente se observó el 16% de esporulación y los tratados con desinfectante para cama y refrigeración se observó el 8 y 6% de esporulación respectivamente.

Especies de *Eimeria* spp. encontradas en el presente estudio

Se observaron tres especies de coccidias, *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. maxima* en un 91, 7 y 2 % respectivamente.

DISCUSIÓN

Viabilidad de los ooquistes de *Eimeria* spp.

Los datos obtenidos en el experimento fueron los siguientes:

En la evaluación de los grupos como sistemas de envío de muestras al laboratorio de diagnóstico de coccidia aviar, (en el caso de su viabilidad) pudimos observar en el presente trabajo que el grupo que mantuvo la mayor cantidad de ooquistes fue la solución de dicromato de K al 2.5% y coincide con lo descrito por Moreno ¹ quien menciona que este sistema no altera los resultados aun cuando la muestra es trabajada varios días después. En este caso después de 168 horas de haber sido aplicado el tratamiento, se conservaron el 80.53% de los ooquistes.

En el grupo tratado al medio ambiente, que fue el testigo del experimento pudimos observar que mantuvo los ooquistes viables por varios días y esto puede ser atribuido a que se agregó una solución de PBS para mantener la humedad de la muestra y ocasionó que esa humedad proporcionada los mantuviera viables (el 86.05% a los dos días postratamiento). Pero paulatinamente se fue observando la destrucción de los ooquistes de la muestra (a las 168 horas postratamiento se conservaron el 68.49%); esto puede deberse a la descomposición por bacterias, la producción de amoníaco y productos que afectan a las coccidias .

En el grupo tratado con desinfectante para cama observamos que los ooquistes ya iniciaban un proceso de destrucción desde los primeros conteos realizados, por lo cual podemos suponer que los ingredientes con los que esta preparado afectan en forma leve la viabilidad del ooquiste, sin embargo no los destruyen totalmente teniendo el 61.45% de ooquistes a las 168 horas postratamiento.

Los conteos del grupo tratado en refrigeración mostraron que desde las primeras seis horas postratamiento y durante todos los muestreos fueron bajos, lo que no coincide con Hendrix que menciona que se pueden enviar muestras en

refrigeración a 4° C para ser observadas antes de 24 horas, siendo que en el presente estudio a las 24 horas postratamiento se conservaron el 62.5% de ooquistes y a las 168 horas el 47.02%.

Esporulación de los ooquistes de *Eimeria* spp.

Durante los conteos de las muestras de cada grupo se observó que el grupo tratado con dicromato de K al 2.5% presentó una esporulación del 46% a las 168 horas postratamiento y que lo anterior se puede atribuir a que el dicromato está constituido por oxígeno y este es uno de los factores además de la temperatura y la humedad ³¹ para que se produzca la esporulación del ooquiste.

El grupo tratado con refrigeración tuvo el menor porcentaje de esporulación a las 168 horas postratamiento y se confirma con lo mencionado por Rojo ³² que indica que para tener un ooquiste esporulado debemos tener una temperatura mayor a 4° C.

En los grupos tratados con medio ambiente, desinfectante para cama y refrigeración no se observó un porcentaje de esporulación considerable.

CONCLUSIONES

En la evaluación del desinfectante para la cama se encontró que no es una alternativa para enviar muestras de heces para el diagnóstico de coccidias, pues aunque se comportó mejor que el grupo tratado con refrigeración posiblemente debido a su efecto contra bacterias y hongos, presentó un menor número de ooquistes que el grupo tratado a temperatura ambiente.

En el caso de la refrigeración como medio para enviar muestras de heces frescas al laboratorio, el presente estudio indicó que aunque es práctico y el más utilizado no es el mejor, pues se observó una baja considerable de ooquistes comparando el muestreo basal y el conteo a las seis horas posteriores al inicio de la refrigeración y por lo tanto en el laboratorio de diagnóstico se contará una cantidad menor de coccidias a las que realmente están eliminando las aves.

En ocasiones se almacenan varias muestras en refrigeración para enviarlas juntas y ahorrar en transporte o paquetería. Por lo tanto, si se envían muestras de heces o cama en refrigeración, el médico de campo debe tomar esto en cuenta al momento de evaluar los resultados del laboratorio para decidir si es necesario hacer algún cambio en el manejo, programa preventivo o dar un tratamiento.

De acuerdo a los resultados en el presente estudio se puede sugerir que la refrigeración si afecta la viabilidad de las coccidias y de acuerdo al tiempo que se envíe, será la reducción al número real de nuestra muestra.

En muchos casos las muestras que son enviadas en refrigeración llegan al laboratorio a temperatura ambiente, y en algunas ocasiones también fueron calentadas durante el transporte, este efecto no se ha reportado ni fue evaluado en el presente estudio pero debe tener también un efecto negativo mayor sobre la viabilidad de las coccidias dado que estas son susceptibles a temperaturas mayores a 48°C.

Sin embargo algunas de las limitantes de la solución de dicromato de K es el costo, manejo cuidadoso del producto debido a su toxicidad, y que no puede utilizarse para enviar muestras de cama porque afectaría el porcentaje de humedad en la muestra y por lo tanto el porcentaje de esporulación. Este tipo de muestras deben seguirse enviando en refrigeración con la indicación de trabajarse lo antes posible.

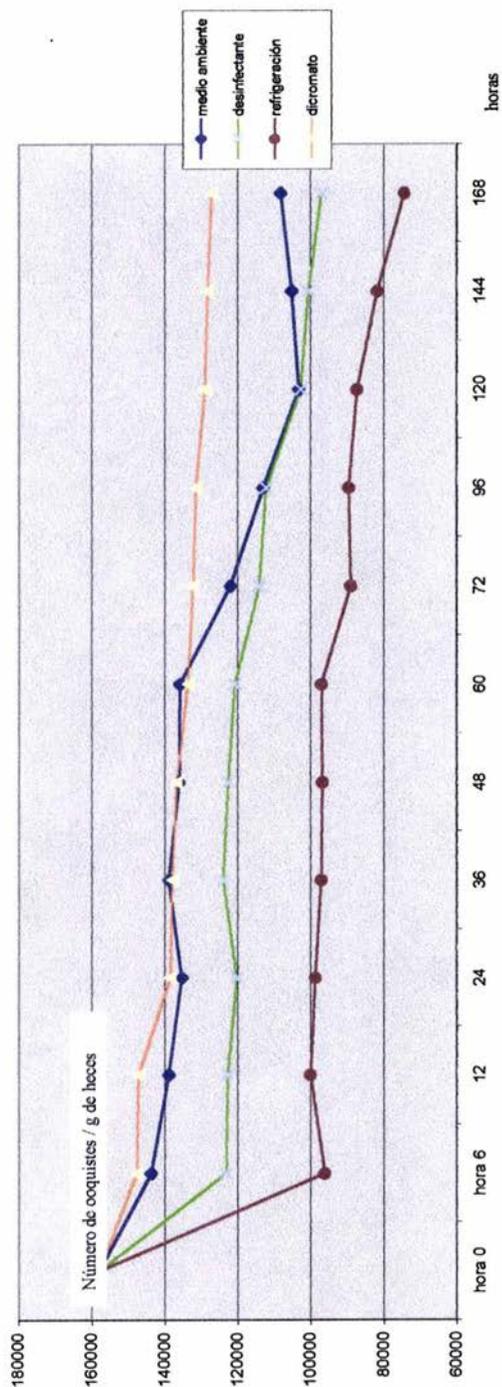
En el presente trabajo se puede corroborar que el mejor medio para enviar muestras al laboratorio de diagnóstico de heces frescas para detección de ooquistes de *Eimeria* spp. es la solución de dicromato de potasio al 2.5%, pues mantiene por varios días viables a los ooquistes.

REFERENCIAS

1. Moreno DR. Diferencias en resultados entre los métodos de muestreo en cama y heces frescas en dicromato de potasio en el diagnóstico de la coccidiosis aviar. Memorias de la XXII Convención Anual de la ANECA; 1997 mayo 7-11; Ixtapa Zihuatanejo (Gro) México. México (DF): Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, A.C., 1997:176-179.
2. Moreno DR, Ibarra VF, Ochoa GP. Frecuencia de *Eimeria* spp en algunas granjas de la zona avícola de Tehuacán, Puebla, México. Vet Mex 2001; 32:103-108.
3. González HE, Prosdócimo F, Barrios H, De Franceschi ME. Coccidiosis subclínica en pollos parrilleros: dosis experimental y evaluación zootécnica. Rev Arg Prod Anim 2001; 21:223-228.
4. Hernández X. Comportamiento de los leucocitos polimorfonucleares en la infección por *E. tenella* en un modelo *in vivo* en pollo de engorda (tesis de maestría). México (D.F.) México: FMVZ, UNAM, 1997.
5. Quiroz H. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México DF: Limusa, 1999.
6. Pérez A, Silva L, Gómez E. Ensayo para evaluar la eficacia de una vacuna viva contra la coccidiosis aviar. Rev Salud Anim 2000; 22: 163-167.
7. Hammond DM, Long PL. The coccidia. Baltimore, MD: Univ. Park Press; 1973.
8. Mc Dougal RL, Reid MW. Coccidiosis. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder Jr HW, editors. Diseases of poultry. 9th ed. Ames (Io): the Iowa State University Press, 1991:780-787.
9. Casas JL. Análisis retrospectivo y actual de los productos anticoccidiales de tipo químico. Curso de actualización: Coccidiosis aviar. México DF; ANECA, 1994.
10. Lillehoj HS, Trout JM. Coccidia: a review of a recent advances of immunity and vaccines development. Avian Pathol 1993; 22:3-31.
11. Waldenstedt L, Elwinger K, Thebo P, Ugglat A. Sporulation of *Eimeria maxima* oocyst in a litter with different moisture contents. Poult Cienc 2001; 80:1412-1415.

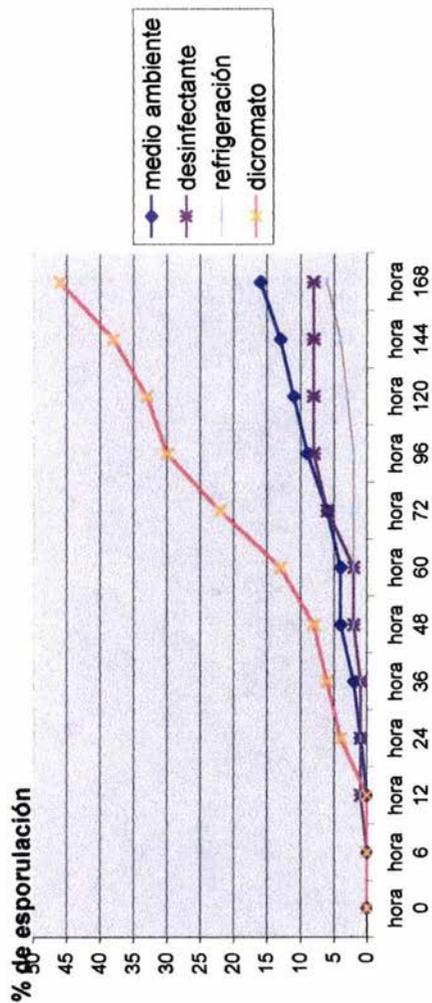
12. Moreno DR, Ibarra VF, Ochoa GP. Frecuencia de *Eimeria* spp en algunas granjas de la zona avícola de Tehuacán, Puebla, México. *Vet Mex* 2001; 32:103-108.
13. Gutiérrez LY. Manual de coccidiosis en pollo de engorda (estudio recapitulativo) (Tesis de licenciatura). México (D.F.), México: FMVZ, UNAM, 2002.
14. Jeurissen SH, Jannse EM, Vermeulen AN, Vervelde L. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite: interaction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1996; 54: 231-238.
15. Hernández MT. Situación actual en la prevención de la coccidiosis y perspectivas de futuro. *Selecciones Avícolas* 2002; 5: 361-371.
16. Moreno DR. Endoparásitos mas frecuentes en las gallinas. *Memorias de la III Jornada Médico Avícola*. México DF. 1992.
17. Pellerdy LP. *Coccidia and coccidiosis*. 2nd ed., Verlag PaulParey. Berlin,1974.
18. Long. PL. *Coccidiosis of man and domestic animals*. CRC Press, USA, 1990.
19. Animal Health Group. Pfizer Inc New York 1991.
20. Tejada GR, Petrone GV, Téllez JG, Hernández VX. Frecuencia de *Eimeria* spp en pollo de engorda en muestras de heces recibidas en el laboratorio de diagnóstico del Departamento de Producción Animal: Aves de la FMVZ, en los años 1997, 1998 y 2000. *Memorias de la XXVI Convención Anual ANECA*, 2001 abril 25-28. México DF, Acapulco, Guerrero, 2001:303-306.
21. Moreno DR. *Enfermedades parasitarias de las aves*. 2^a ed. México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. 1989.
22. Sumano LH, Ocampo CL. *Farmacología veterinaria*. McGraw-Hill Interamericana: 2^a ed. México DF. 1997.
23. Moreno R. La quimioprevención en la coccidiosis aviar. *Memorias del primer Precongreso de Investigación Aplicada S.A*. Acapulco, Guerrero. 25 de abril de 2001.
24. Doran DJ. Freezing excysted coccidial sporozoites. *The Journal of Parasitology* 1969; 55: 1229-1233.
25. Chaudhari PR. Effects of Gamma-irradiation and heat treatment on oocysts of *Eimeria Tenella* 1996; 10: 179-184.

26. López CC. Repercusiones de las coccidias y endoparásitos en la absorción de nutrientes y el metabolismo de las aves. Noveno curso de actualización AVI-MEX. Patologías digestivas y metabólicas de las aves. México DF 1997;64-89.
27. Juárez EM, Cabriaes JJ, Petrone VM, Téllez IG. Evaluación del conteo total de ooquistes de *Eimeria tenella* a partir del ciego o heces efectuado con la cámara de McMaster y el Hemocitómetro de Neubauer. Vet Mex 2002; 33:73-79.
28. Doxey DL. Patología Clínica y procedimientos de diagnóstico en veterinaria. México DF; Manual Moderno, 1987.
29. Acevedo A, Romero E, Quintero E. Manual de prácticas de laboratorio de la cátedra de parasitología y enfermedades parasitarias UNAM C.U., 1988.
30. Long PL, Joyner LP, Millard BJ, Norton CC. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Fol Vet Lat Vol VI July-September 1976; 3: 200-217.
31. Hendrix CH. Diagnóstico parasitológico veterinario. 2ª ed Harcourt Brace. Barcelona España, 1999.
32. Cotton F. Química orgánica básica. Limusa. México DF, 1978.
33. Rojo E. Enfermedades de las aves. Trillas. México DF, 1984.
34. Mosqueda A, Lucio B. Enfermedades comunes de las aves domésticas. DPA: Aves. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1986.



Diferentes literales indican diferencia significativa dentro de una columna ($P < 0.05$)

Figura 1. Promedio \pm desviación estándar del número de oquistas por gramo de heces de pollo de engorda con cuatro métodos de conservación a diferentes tiempos.



tratamiento	hora 0	hora 6	hora 12	hora 24	hora 36	hora 48	hora 60	hora 72	hora 84	hora 96	hora 120	hora 144	hora 168
medio ambiente	0	0	0	1	2	4	4	6	6	9	11	13	16
desinfectante	0	0	1	1	1	2	2	6	6	8	8	8	8
refrigeración	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	3	4	6
dicromato	0	0	0	4	6	8	13	22	22	30	33	38	46

Figura 2. Efecto de cuatro métodos de conservación de heces de pollo de engorda sobre el porcentaje de esporulación a diferentes tiempos.