



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD  
ANIMAL**

**EFFECTO DE LIOFILIZADOS DE CÁSCARA Y SEMILLA DE PAPAYA EN LA  
SALUD INTESTINAL DE POLLOS DE ENGORDA**

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**SELENE BERENICE BLAS BENITEZ**

TUTOR: DRA. MARIE THERESE CASAUBON Y HUGUENIN

COMITÉ TUTORAL: DRA. MARÍA DEL PILAR CASTAÑEDA SERRANO  
DRA. ZOILA IRMA TEJADA CASTAÑEDA

**MÉXICO, D.F.**

**2010**



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.

## DEDICATORIAS

---

A mis queridos padres José Francisco y María Luisa que son parte esencial de mi vida, quienes con su infinito amor y apoyo incondicional, me han ayudado a lograr mis metas. Gracias por creer en mí, los AMO.

A mi gran amor y querido esposo José Alonso mi compañero perfecto, por su amor, paciencia, cuidados, comprensión y motivación para superarme cada día. Gracias por caminar conmigo, TE AMO

A mis adorados hermanos Francisco y Mario que siempre me ayudaron en todo cuanto necesite. Gracias por su gran amor, los AMO.

A mi querido abuelito Edmundo que desde niña nunca dejo de brindarme su apoyo y su amor. TE AMO

## AGRADECIMIENTOS

---

Doy gracias a Dios padre por guiar y bendecir mi camino en todo momento.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por permitirme realizar mis estudios de posgrado.

Quiero brindar mi agradecimiento a mi tutora Marie Therese Casaubon de Huguenin, por la gran responsabilidad mostrada hacia la tesis, por su enseñanza y regaños que me han hecho crecer como profesional y como persona.

Al Departamento de Producción Animal: Aves y al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola, por facilitarme el material y las instalaciones para realizar los experimentos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología que al aceptarme como becaria, me permitió dedicar todo mi tiempo en concluir mis estudios de maestría.

Al Ing. Roberto Domínguez ([roberto.dominguezb@gmail.com](mailto:roberto.dominguezb@gmail.com)) y Lic. Isaías Meza ([cyberisaias@gmail.com](mailto:cyberisaias@gmail.com)) por la donación de los liofilizados de papaya.

A la Dra. Gabriela Gómez Verduzco por sus consejos y por siempre tener una palabra de aliento para mí.

Quiero agradecer al M en C. Arturo Cortes Cuevas por su ayuda en la elaboración de las dietas de los tres experimentos; pero sobre todo por su amistad.

A la M en C. Xóchitl Hernández Velasco por su asesoría y apoyo en la realización del tercer experimento.

Al Dr. Carlos Vázquez por su apoyo en la realización del análisis estadístico de los experimentos

Al Dr. Ernesto Ávila Gonzales, Dr. Néstor Ledesma Martínez, M en C. Félix Sánchez Godoy, M en C. Magdalena Escorcía Martínez y M en C. Marco Juárez Estrada, por sus enseñanzas y apoyo para aclarar todas las dudas que surgieron a lo largo de este proyecto.

A la Lic. Elizabeth Abrego por su paciencia a mis múltiples solicitudes, pero sobre todo por sus consejos.

A mis amigos Stivalis, Sonia, Ernesto, Raquel, Alma, Jorge, Xóchitl, Badhi, Isaías, Leticia, Luis, que juntos recorrimos este camino ayudándonos mutuamente. Gracias por darme su amistad y compartir conmigo tantos buenos y malos momentos.

## ÍNDICE

---

<b>DEDICATORIA</b>	I
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	II-III
<b>ÍNDICE</b>	IV-V
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	VI-VII
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	VIII
<b>ABREVIATURAS</b>	IX
<b>RESUMEN</b>	1
<b>ABSTRACT</b>	2
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	
Compuestos medicinales de la papaya	3-4
Papaína bruta	4
Papaína pura	5
Quimopapaína	6
Caricaina	6
Bencil-isotiocianato	6
Carpaína	7
<b>JUSTIFICACIÓN GENERAL</b>	8
<b>HIPOTESIS GENERAL</b>	8
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	8
<b>EXPERIMENTO 1. SUSCEPTIBILIDAD DEL POLLO DE ENGORDA A LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA</b>	
Introducción	9
Justificación	9
Hipótesis	9
Objetivos	10
Materiales y Métodos	10-13
Resultados y Discusión	13-15
Conclusiones	15
Cuadros	16-20
Figuras	21

<b>EXPERIMENTO 2. EFECTO DE LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA SOBRE LA SALUD INTESTINAL Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDA.</b>	
Introducción	22
Justificación	23
Hipótesis	23
Objetivos	23
Materiales y Métodos	24-27
Resultados y Discusión	27-31
Conclusiones	31-32
Cuadros	33-43
Figuras	44-49
<b>EXERIMENTO 3. EFECTO ANTICOCCIDIAL DE LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA</b>	
Introducción	50
Justificación	50
Hipótesis	51
Objetivos	51
Materiales y Métodos	51-54
Resultados y Discusión	54-56
Conclusiones	56
Cuadros	57-64
Figuras	65-67
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>	68
<b>LITERATURA CITADA</b>	69-75

CUADROS	Pagina
<b><u>EXPERIMENTO 1</u></b>	
<b>Cuadro 1.</b> Dieta basal de inicio de 0 a 21 días para pollos de engorda.	16
<b>Cuadro 2.</b> Parámetros productivos a los 21 días de edad de pollos de engorda.	17
<b>Cuadro 3.</b> Lesiones macroscópicas en los pollos de engorda a los 21 días de edad.	18
<b>Cuadro 4.</b> Lesiones microscópicas del intestino medio de pollos de engorda a los 21 días de edad.	19
<b>Cuadro 5.</b> Longitud de vellosidades, peso corporal y longitud de tibio tarso de los pollos de engorda a los 21 días de edad.	20
<b><u>EXPERIMENTO 2</u></b>	
<b>Cuadro 6.</b> Composición de dietas experimentales para pollos de engorda de 1 a 49 días de edad (%).	33
<b>Cuadro 7.</b> Parámetros productivos a los 49 días de edad de los pollos de engorda.	34
<b>Cuadro 8.</b> Rendimiento en canal, pechuga, pierna y muslo de los pollos de engorda a los 49 días de edad.	35
<b>Cuadro 9.</b> Pigmentación cutánea en los pollos de engorda vivos y en canal a los 49 días de edad.	36
<b>Cuadro 10.</b> Lesiones macroscópicas en los pollos de engorda a los 21 días de edad.	37
<b>Cuadro 11.</b> Lesiones macroscópicas en los pollos de engorda a los 49 días de edad.	38
<b>Cuadro 12.</b> Lesiones microscópicas en hígado de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.	39
<b>Cuadro 13.</b> Lesiones microscópicas en riñón de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.	40
<b>Cuadro 14.</b> Lesiones microscópicas de intestino medio de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.	41
<b>Cuadro 15.</b> Longitud de vellosidades, peso corporal y longitud de tibio tarso de pollos de engorda a los 21 días de edad.	42
<b>Cuadro 16.</b> Porcentaje de proteína cruda, proteína verdadera y nitrógeno no proteico excretado a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.	43

### **EXPERIMENTO 3**

<b>Cuadro 17.</b> Composición de dietas experimentales para pollos de engorda de 1 a 49 días de edad (%).	57
<b>Cuadro 18.</b> Cantidad de ooquistes en excretas de pollos de engorda a los 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad.	58
<b>Cuadro 19.</b> Severidad de las lesiones macroscópicas conforme a la escala Johnson and Reid en intestino de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.	59
<b>Cuadro 20.</b> Lesiones microscópicas en duodeno de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.	60
<b>Cuadro 21.</b> Lesiones microscópicas en yeyuno-ileon de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.	61
<b>Cuadro 22.</b> Lesiones microscópicas en ciegos de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.	62
<b>Cuadro 23.</b> Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad.	63
<b>Cuadro 24.</b> Parámetros productivos a los 42 días de edad de los pollos de engorda.	64

FIGURAS	Pagina
<b><u>EXPERIMENTO 1</u></b>	
<b>Figura 1.</b> Longitud de vellosidades intestinales ( $\mu$ ) de pollos de engorda a los 21 días de edad.	25
<b><u>EXPERIMENTO 2</u></b>	
<b>Figura 2.</b> Títulos de anticuerpo contra ENC a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.	44
<b>Figura 3.</b> Títulos de anticuerpo contra IA a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.	45
<b>Figura 4.</b> Diferencia fenotípica observada en pollos de engorda machos de la estirpe Cobb 500.	46
<b>Figura 5.</b> Cantidad de ooquistes por gramo de heces excretados a los 42 y 49 días de edad de los pollos de engorda.	47
<b>Figura 6.</b> Degeneración hepática severa 10x.	48
<b>Figura 7.</b> Proliferación de conductos biliares 10x.	48
<b>Figura 8.</b> Proliferación de conductos biliares 40x.	48
<b>Figura 9.</b> Colangitis supurativa 10x.	48
<b>Figura 10.</b> Infiltración linfoide en la lamina propia de las vellosidades intestinales 10x.	48
<b>Figura 11.</b> Longitud de las vellosidades intestinales de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.	49
<b><u>EXPERIMENTO 3</u></b>	
<b>Figura 12.</b> Nidos de coccidias en mucosa de duodeno a los 21 días de edad de los pollos de engorda.	65
<b>Figura 13.</b> Descamación de la mucosa intestinal de duodeno asociada a infiltración linfoide severa a los 21 días de edad de los pollos de engorda (10x).	65
<b>Figura 14.</b> Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 14 y 21 días de edad.	66
<b>Figura 15.</b> Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 28, 35 y 42 días de edad.	67

## **SIGLAS Y ABREVIATURAS**

---

<b>ENC</b>	Enfermedad de Newcastle
<b>IA</b>	Influenza Aviar
<b>HI</b>	Inhibición de la hemoaglutinación
<b>DB</b>	Dieta basal
<b>APC</b>	Antibiótico promotor del crecimiento
<b>CC</b>	Cocciostato
<b>LCP</b>	Liofilizado de cáscara de papaya
<b>LSP</b>	Liofilizado de semilla de papaya
<b>PP</b>	Papaína pura
<b>GP</b>	Ganancia de peso
<b>CA</b>	Consumo de alimento
<b>IC</b>	Índice de conversión
<b>SA</b>	Síndrome Ascítico
<b>PC</b>	Proteína cruda
<b>PV</b>	Proteína verdadera
<b>NNP</b>	Nitrógeno no proteico

## RESUMEN

---

Los objetivos del trabajo fueron estudiar el efecto sobre la salud intestinal y parámetros productivos del pollo de engorda, alimentado con dietas adicionadas con liofilizados de cáscara y semilla de papaya. Se determinó previamente la susceptibilidad de los liofilizados para el pollo de engorda, debido a que la inclusión de estos subproductos no es una práctica común y no ha sido estudiada. Se realizaron tres experimentos con pollos de engorda Cobb 500, en los cuales, los liofilizados de papaya fueron incluidos en la dieta como sustitutos de los antibióticos promotores de crecimiento y de los coccidiostatos. En los experimentos 1 y 2 se evaluó la susceptibilidad, por medio del porcentaje de mortalidad, lesiones macroscópicas y microscópicas en hígado y riñón. En el experimento 2 se determinó el efecto en la salud intestinal a través de la morfometría de mucosa intestinal, parámetros productivos, rendimiento en canal y pigmentación cutánea. Y por último en el experimento 3 se estudió la posible acción anticoccidial de los liofilizados, evaluando la cantidad de ooquistes excretados, lesiones macroscópicas y microscópicas en tres diferentes secciones del intestino y la concentración de pigmento en suero. La inclusión de los liofilizados de papaya no ocasionó efectos adversos, ya que su inclusión no incrementó el porcentaje de mortalidad ( $P > 0.05$ ) y la severidad de la hepatitis y nefrosis observada fue similar en todos los tratamientos ( $P > 0.05$ ). Los liofilizados no aumentaron la productividad de los pollos, ya que no se encontraron diferencias en parámetros productivos y rendimiento en canal ( $P > 0.05$ ); sin embargo, su inclusión sí aumentó el nivel de amarillamiento cutáneo ( $P < 0.05$ ). Los liofilizados no mostraron acción anticoccidial, debido a que no disminuyeron significativamente la replicación de coccidias ( $P < 0.05$ ) y los pollos de los tratamientos en los que fueron incluidos mostraron una menor concentración de pigmento en suero ( $P < 0.05$ ).

Palabras clave: Pollo de engorda, Carica papaya, cáscara y semilla de papaya, antibióticos promotores de crecimiento, coccidiostatos.

## **ABSTRACT**

---

The aims of the work were to study the effects on intestinal health and productive performance of broilers, fed diets added with lyophilized papaya shell and seeds. Harmlessness of lyophilized papaya preparations for broilers was previously determined because feed inclusion was planned. Due to the unknown information when they are used in broilers feed. Three experiments were conducted with Cobb 500 broiler, in which, the papaya lyophilized preparations were included in the diet as a substitute for antibiotic growth promoters and coccidiostats. In experiment 1 and 2 harmlessness was not found through: mortality percentage, macroscopic and microscopic lesions in liver and kidney. In experiment 2 intestinal health was determined through morphometry of intestinal mucosa, productive parameters and carcass yield and pigmentation. In experiment 3 anticoccidial actions of lyophilized preparations through oocysts amounts excreted, macroscopic and microscopic lesions in three different gut sections and pigment concentration in serum. The use of lyophilized papaya preparations caused no adverse effects, as their inclusion did not increase mortality percentage ( $P > 0.05$ ), neither severity of hepatitis and nephrosis because they all have similar intensity in treatments ( $P > 0.05$ ). The lyophilized papaya preparations did not increase the productivity of broilers, neither carcass yield ( $P > 0.05$ ), however they increase intensity of yellowing skin ( $P < 0.05$ ). The lyophilized showed no anticoccidial effects, because did not decrease significantly the replication of coccidia oocysts ( $P < 0.05$ ) and broilers in treatments showed a lower pigment concentration in serum ( $P < 0.05$ ).

Keywords: Broilers, Carica papaya, shell and seed papaya, antibiotics growth promoters, coccidiostats.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

---

La salud intestinal conocida también como integridad intestinal es la condición óptima del tracto digestivo, aspecto primordial en la crianza de pollos de carne. La salud intestinal es esencial para que el pollo exprese su potencial genético y así alcance el peso y la conversión alimenticia esperada según la línea genética.

El estudio y entendimiento del sistema digestivo es un modelo complejo ya que durante las fases de crecimiento del pollo, la función y desarrollo intestinal pueden verse modificados de forma benéfica o adversa por factores de tipo dietarios, medioambientales e infecciosos. El amplio campo de estudio de los temas relacionados con alimentación, integridad intestinal y el empleo de aditivos para conservar la salud intestinal muestran ser un gran reto en la nutrición animal moderna (Morales, 2007).

Los antibióticos promotores de crecimiento (APC) han sido utilizados para mantener la salud intestinal de las aves, por lo que se optimiza el índice de conversión de los pollos con un costo-beneficio positivo (Walton, 1996).

Los APC evitan la proliferación excesiva de la flora bacteriana intestinal y de bacterias patógenas (Ferket y col., 2007; Santoma y col., 2007). Sin embargo, se ha demostrado que el uso constante de los antibióticos como promotores de crecimiento puede causar resistencia bacteriana, lo que implica una amenaza para la salud pública y animal (Dalloul y col., 2003). Por tal motivo a partir de 1999, los antibióticos tales como espiramicina, tilosina, virginamicina, bacitracina y avoparcina, fueron prohibidos por la Unión Europea (EU) como promotores de crecimiento para el uso en la industria pecuaria, sugiriendo que las cepas bacterianas resistentes a estos antibióticos, pueden pasar a través de la cadena alimenticia y transferir los genes de resistencia a bacterias del intestino humano. En el año 2006 la prohibición se amplió a los APC avilamicina, flavofosfolipol, monensina sódica y salinomicina (Torres y Zarazaga, 2002). La imposibilidad de contar con promotores de crecimiento de tipo antibiótico estimula la investigación para encontrar otros productos que demuestren eficacia para el control de la salud intestinal y promotor de crecimiento del pollo de engorda.

En la actualidad hay mucho interés en las posibles propiedades medicinales de los compuestos naturales de la papaya (Domingo, 2002). La papaya (*Carica papaya*) pertenece a la familia de las Caricáceas, nativa de Centroamérica específicamente de

México o de Nicaragua. Su cultivo se diseminó desde 1535 extensamente en varios países tropicales y subtropicales gracias a los marinos españoles y portugueses (Barquero, 2007). En estos lugares se le conoce como fruta bomba, lechosa, papaw, pawpaw y otros (Domingo, 2002). Es una herbácea con hojas grandes, de crecimiento rápido y perenne. Alcanza una altura entre 10 m y hasta 30m a la edad de 15 años. El peso de la fruta varía, entre 100 g y 10 kg. Su forma es oblonga, ovalada o redonda; el color de su pulpa es amarillo pálido o intenso, anaranjado o rojizo (Domingo, 2002; Augstburger y col., 2000).

Ancestralmente en forma empírica y con base en escasos trabajos científicos, se le ha atribuido a la papaya, un efecto terapéutico a nivel intestinal en humanos, (Morton, 1987; Vega, 2001; Palacios, 1997). Las supuestas propiedades terapéuticas de la papaya tales como antibacterianas, proteolíticas, antiespasmódicas, antioxidantes y antiparasitarias, son atribuidas a la papaína bruta, al bencil-isotiocianato y a la carpaína también conocida como caricina (Emeruwa, 1982; Pereira, 2007; Sankalia y col., 2005; Martí, 2006; Patil y Tang, 1974; Lorenzi, 2002)

## **Compuestos medicinales de la papaya**

### **1. Papaína bruta**

La papaína bruta compuesta por papaína, quimopapaína y caricaina está presente en el látex, pulpa y semillas (Niklas y Marler 2007; Zucker y col., 1985). El término papaína se aplica tanto a las preparaciones enzimáticas crudas obtenidas del látex así como a las distintas fracciones proteicas que lo constituyen (Zucker y col., 1985). Las enzimas papaína y quimopapaína son las principales proteasas del látex y constituyen aproximadamente el 45% de la proteína soluble mientras que la caricaina se encuentra en muy pequeña cantidad (Zucker y col., 1985). Estas tres enzimas proteicas son similares, tanto por la secuencia de aminoácidos como por las propiedades fisicoquímicas (Arellano, 1999).

Para obtener la papaína bruta, el látex es obtenido por goteo haciendo incisiones longitudinales sobre la cáscara de la fruta inmadura y siendo sometido a evaporación hasta la obtención de un sedimento granular. Para la obtención de la papaína pura, dicho sedimento es disuelto en agua, precipitado en alcohol y por último, sometido a bajas temperaturas hasta la obtención de un polvo que es vendido como papaína pura (Fonnegra y Jiménez, 2007; Castillo, 1968; Puig y Sánchez, 2006).

- **Papaína pura**

La papaína en polvo es estable a 5°C por 6 a 12 meses, de color blanco a amarillo claro, parcialmente soluble en agua, en alcohol, éter o cloroformo (Castillo, 1968). Esta sustancia con peso molecular de 22,086 Da es una cisteinproteasa de la familia C1 peptidasa de cadena única, tridimensional, con 212 residuos de aminoácidos plegados en horquilla, formando una hendidura (Puig y Sánchez, 2006; Bertoluzzo y col., 2000; Valle, 1997). El sitio activo de la enzima se encuentra en el grupo sulfhidrilo libre de la cisteína 25 de la molécula y el sitio de acción catalítica es en los aminoácidos fenilalanina (Fe), valina (Val) o Leucina (Leu); actúa en medios ácidos o alcalinos entre 3.0 y 12.0, aunque su mayor actividad es a pH de 6.0 a 7.0 y entre 40 y 75 °C sin embargo, se inactiva a 85 °C o más y se desnaturaliza una vez que lleva acabo la proteólisis. (Puig y Sánchez, 2006; Flores, 1994; Benítez, 2008; Valle, 1997).

#### Utilización industrial y terapéutica de la papaína

Por su actividad proteolítica tiene propiedades semejantes a la pepsina y a la tripsina y su actividad es en el intestino delgado (Sankalia y col., 2005). Los extractos de cáscara y semillas se han utilizado por su actividad bactericida contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus aereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Shigella flexneri* ya que desnaturaliza las cubiertas proteicas de las células de los parásitos y bacterias (Emeruwa, 1982; Pereira, 2007; Morton, 1987; Martí, 2006). La papaína es empleada en dermatología como polvo o gel para el tratamiento de heridas y quemaduras, por digerir y así eliminar los tejidos lesionados y por estimular el proceso de cicatrización (Ferreira, 2005; Fein y col., 2005; Pinto y col., 2007). Se menciona que la papaína transforma el plasminógeno en plasmina que al disolver el fibrinógeno y la fibrina, permite al organismo remover más fácilmente los tejidos necrosados (Castillo, 1968; Bernard y col., 2003).

La papaína es usada principalmente en la India y los Estados Unidos desde los años 60s para ablandar la carne de cordero, oveja y cabra aunque también es utilizada en carne de pollo y el 90% de la venta de esta enzima es para dicho fin. Ésta enzima es inyectada antes del sacrificio del animal, o bien la carne es tratada antes de ser cocinada (Ferreira, 2005; Samalling y col., 1971; Huffman y col., 1967). La dosis de papaína utilizada como ablandador es generalmente 3 g por 500 g de carne y el tiempo depende del grado de dureza de la carne (entre 30 a 90 minutos) (Ferreira, 2005). En la industria cervecera, en el pre-tratamiento de las frutas destinadas para jugos, aceites esenciales y en la producción de vinos es usada para evitar la turbidez debido a la coagulación de las

proteínas que con el frío forman coloides (Elicer, 2002). En la industria del cuero se utiliza para degradar el colágeno para disminuir las protuberancias, alisar y darle un aspecto fino a la piel. La papaína es también utilizada para la limpieza de lentes de contacto (McMurry, 2003).

Sin embargo, a pesar de las propiedades de la papaína, se ha reportado que puede producir reacciones de hipersensibilidad en humanos, por lo que la eficacia de este producto así como su utilización debe ser respaldada por estudios científicos.

- **Quimopapaína**

La quimopapaína tiene estructura y propiedades muy semejantes a la papaína y su actividad proteolítica también depende de un grupo sulfhidrilo, consta de 218 aminoácidos, con un peso molecular de 24,000 Da. (Watson y col., 1990; Arellano, 1999).

Es empleada empíricamente al igual que la papaína, para tratar quemaduras en niños y úlceras recurrentes en leproso (Otuka y col., 1996). Sin embargo, ha sido reconocido en trabajos científicos, su efecto en el tratamiento de hernias discales y ciática (Gentry y col., 1985; Carretero, 2000). En el 1 y 1.5 % de los pacientes, el uso de la quimopapaína inyectada en espacios intra-discales a causado reacciones anafilácticas, parálisis de las piernas o la muerte (Oegema y col., 1992; Hall y McCulloch, 1983).

- **Caricaína**

La caricaina, ha sido llamada de varias formas: peptidasa A, peptidasa II, proteinasa A, proteinasa III, proteinasa Q y actualmente caricaina (Kamphuis y col, 1985; Otuka y col., 1996). Consta de 216 residuos de aminoácidos, con un peso molecular de 24,000 Da, (López, 2000). La función de esta proteasa ha sido poco estudiada.

## **2. Benzil-isotiocianato**

Se ha mostrado que la papaya contiene bencil glucosinolatos compuestos órgano sulfurados que se encuentra en la cáscara, pulpa y semillas de la papaya (Vega, 2001). Cualquier daño físico a la planta induce la liberación de la enzima mirosinasa que hidroliza los glucosinolatos dando lugar a la formación del bencil-isotiocianato (Patil y col., 1974) (Vega, 2001; Drago y col., 2006). Estos productos de los glucosinolatos son aceitosos, no polares, generalmente solubles en solventes orgánicos, reactivos a la acción de grupos aminos, hidroxilos y tioles y otros compuestos de las proteínas y termolábil ya que son volátiles cuando son sometidos a calor.

Ha sido señalada la actividad antibiótica y antifúngicas, de los isotiocianatos contra *Cándida albicans*, *Echerichia coli* y *Staphylococcus albus* (Patil y Tang, 1974). Los isotiocianatos aromáticos han mostrado ser potentes anti-oncogénicos en varios modelos de animales de laboratorio y en casos de leucemia en humanos debido a su efecto anti-mitótico (Drago y col., 2006).

### **3. Carpaína**

La carpaína se encuentra en el látex, semillas, raíz y en mayor cantidad en las hojas de la papaya (Acosta, 2002). La carpaína tiene una acción espasmolítica en el músculo liso a semejanza del efecto de la digitalina (Morton, 1987; Martí, 2006; Lorenzi, 2002; Fonnegra y Jiménez, 2007). En pequeñas cantidades reduce la frecuencia cardiaca, disminuye la presión arterial y en dosis elevadas produce vasoconstricción, depresión y parálisis cardiaca (Torres, 2002; Lorenzi, 2002).

## **JUSTIFICACIÓN GENERAL**

---

Debido a la necesidad de contar con nuevos aditivos que sustituyan a los antibióticos promotores del crecimiento se propone la utilización de la cáscara y semillas de papaya como nuevo aditivo para la conservación de la salud intestinal de las aves debido a sus presuntas propiedades terapéuticas y a que son subproductos de la papaya la cual es ampliamente disponible y económica en México.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

La productividad del pollo de engorda alimentado con dietas que contengan liofilizados de cáscara y semilla de papaya, es semejante a la obtenida con la adición de antibióticos promotores de crecimiento utilizados hoy en día.

## **OBJETIVOS GENERALES**

Determinar la susceptibilidad de los pollos de engorda a la cáscara y semilla de papaya incluidas en las dietas.

Evaluar la salud intestinal y productividad de pollos de engorda alimentados con dietas adicionadas con liofilizados de cáscara y semilla de papaya.

Establecer la eficacia de la cáscara y la semilla de papaya para el control de la coccidiosis en pollos de engorda desafiados con tres cepas vacunales de *Eimeria*.

## **EXPERIMENTO 1. SUSCEPTIBILIDAD DEL POLLO DE ENGORDA A LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA**

---

### **Introducción**

A pesar de las propiedades anti-bacterianas y antiparasitarias atribuidas a la papaína, su utilización como promotor de la salud intestinal no ha sido investigada en ninguna especie. No se tienen estudios del efecto tóxico o adverso de la papaína en los pollos, aunque si los hay en otras especies. Udod y col (1983), no observaron algún efecto de susceptibilidad en ratones (alteraciones en la respiración, presión arterial y en la circulación intracraneal) tras la administración de 2,5 a 10 mg / kg de papaína por vía intravenosa o 4,5 mg / kg por vía intrapleural, intraperitoneal o intersticial. La aplicación diaria de papaína al 0.25%. 0.50% y 1% en la mucosa conjuntiva de conejos durante 4 semanas no provocaron cambios patológicos en el iris, córnea o membranas mucosas (Castillo, 1968). La papaína puede producir hipersensibilidad e incluso reacciones anafilácticas en humanos como resultado de la aplicación parenteral (intravenosa e intraperitoneal) debido probablemente a la rápida liberación de la histamina (Castillo, 1968). Manifestaciones de hipersensibilidad también han dado lugar a síntomas cardiovasculares como hipotensión y taquicardia. Murat y col., (2007) observaron que la papaína instilada intra-articular durante cuatro semanas alteró el colágeno cartilaginoso propiciando osteoartritis. La Food and Drug Administration (FDA, 2008) prohibió el uso de la papaina en humanos debido a que la eficacia de este producto no está respaldada por estudios científicos sólidos en la literatura médica.

### **Justificación**

Debido a que se desconoce el efecto de la cáscara y semilla de papaya sobre los pollos de engorda, se llevó a cabo un primer estudio exploratorio para determinar el efecto adverso o benéfico sobre parámetros productivos.

### **Hipótesis**

Los liofilizados de cáscara y semilla de papaya incluidos en la dieta no tienen efecto adverso en los pollos de engorda, y con su uso se logran parámetros productivos semejantes a los logrados con los antibióticos promotores de crecimiento.

## **Objetivo**

Determinar el efecto benéfico o adverso en los parámetros productivos de pollos de engorda, alimentados con cáscara y semilla de papaya incluidas en las dietas.

Objetivos particulares:

1. Determinar el incremento en el porcentaje de mortalidad con la inclusión de los liofilizados en la dieta
2. Evaluar las causas de muerte en cada uno de los tratamientos.
3. Estudiar el efecto de los liofilizados de cáscara y semilla de papaya sobre la ganancia de peso y el índice de conversión de los pollos de engorda.
4. Evaluar el efecto de los liofilizados sobre la salud intestinal de los pollos de engorda.

## **Materiales y Métodos**

### ***Animales y dietas experimentales***

El experimento se llevó en las unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Fueron distribuidos 40 pollos de engorda de la estirpe Cobb 500 de un día de edad provenientes de una incubadora comercial en 4 tratamientos. Los pollos fueron alojados en corrales con cama de aserrín. La alimentación consistió en una dieta basal de iniciación de 0 a 21 días formulada con base en sorgo-soya y balanceadas de acuerdo a las recomendaciones del manual para pollo de engorda (Cobb, 2008), en la que se le adicionaron los ingredientes experimentales para tener 4 tratamientos (Cuadro 1).

- APC+CC= Dieta basal más APC (de bacitracina zinc 0.5g/kg de alimento) y CC (de nicarbazina 0.125g/kg de alimento)
- LCP= Dieta basal más liofilizado de cáscara de papaya 5.0g/Kg de alimento
- LSP= Dieta basal más liofilizado de semilla de papaya 5.0g/Kg de alimento
- PP= Dieta basal más papaína pura 2.0g/Kg de alimento

### ***Obtención de los liofilizados***

La liofilización de la cáscara y la semilla de papaya se realizó en forma industrial con control de calidad pero sin producción continua, en el sitio de producción de papaya ubicado en Tecomán Colima, México. El proceso de liofilización se inició por congelación rápida de los productos a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a continuación estos fueron sometidos a una reducción brusca de presión (4.579 mm de mercurio a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  de temperatura) y en seguida se les aplicó calor por radiación (2,825 KJ/g o 675 cal/g) para eliminar por sublimación el agua contenida en estos productos. Los productos sometidos a proceso de liofilización no sufren daños térmicos, por lo que conservan sus propiedades sensoriales y químicas originales (contenido enzimático, proteico y vitamínico) lo cual es importante en el caso de los productos de papaya empleados en el presente estudio, ya que, los principios activos a evaluar papaína y bencil-isotiosianato son termo-sensibles.

Todas las aves fueron vacunadas contra la enfermedad de Marek al día de edad en la planta incubadora, contra la enfermedad de Newcastle (ENC) e Influenza aviar (IA) a la vez por vía subcutánea, al día 10 de edad, con vacuna emulsionada mixta, y con vacuna liofilizada contra la ENC, cepa la Sota, virus activo, por vía ocular.

Para efectos del presente estudio la salud intestinal fue evaluada por medio de la productividad del pollo de engorda y a través de la morfometría de la mucosa intestinal de los pollos en experimentación.

### ***Parámetros productivos***

Al cabo de 21 días que duró el experimento, se evaluaron las variables productivas:

Consumo de alimento total por ave por semana: suministro – sobrante / # de aves por tratamiento.

Peso corporal (PC): Peso de las aves al primer día y posteriormente semanalmente hasta la tercera semana de edad.

Ganancia de peso a los 21 días (GP): peso promedio de las aves a los 21 días de edad menos el peso al primer día.

Índice de conversión (IC): Fue calculado dividiendo el consumo acumulado de alimento a los 21 días entre la ganancia de peso a esa edad.

Mortalidad: Ésta fue registrada diariamente y reportada como porcentaje de mortalidad acumulada hasta el día 21 del experimento. Se llevó a cabo el diagnóstico de la mortalidad (Quintana, 1999).

### ***Sacrificio y toma de muestras***

A los 21 días de edad las aves fueron pesadas, sangradas para serología y sacrificadas para realizar la necropsia y toma de muestras para el análisis histopatológico. Para el sacrificio las aves fueron pre-anestesiadas por medio de una dosis de Xilazina al 2% (1mg/kg) por vía subcutánea. Después de 30 minutos (tiempo establecido para lograr el efecto tranquilizante), fue administrada una sobredosis de pentobarbital vía intravenosa (52 mg /kg de peso) conforme al método de eutanasia señalado en el documento publicado por la SICUAE, 2008 (Subcomité Institucional para el Cuidado de Animales en Experimentación). Se evaluó la ausencia de signos vitales como frecuencia cardiaca y respiratoria, para confirmar la muerte del animal y proceder a realizar la necropsia y toma de muestras.

### ***Morfometría de mucosa intestinal***

La histopatología y medición del tamaño de las vellosidades de la mucosa intestinal fue realizada en 8 pollos por tratamiento a los 21 días de experimentación. Las aves fueron seleccionadas al azar y se les retiró el alimento 12 hrs antes de la toma de muestras. Fueron colectadas y fijadas en formol al 10% durante 24 hrs., porciones de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de intestino medio a nivel del divertículo de Meckel habiendo removido el contenido intestinal por medio de instilación de formol. A partir de las porciones intestinales restantes fueron registradas las lesiones macroscópicas. Las muestras fueron procesadas y teñidas con hematoxilina y eosina conforme a las técnicas convencionales (Lee, 1968). Los cortes histológicos se evaluaron en un microscopio óptico, con el auricular 15x y el objetivo de 5x. En el auricular 15x, se colocó una lente reticulada con 20 cuadros por lado de un micrómetro de platina y utilizando el objetivo 5x, se determinó que cada subdivisión de la lente (cada uno de los 20 cuadros) midió 130 μ. Para evaluar el largo de las vellosidades se midieron 10 vellosidades en diferentes campos de la muestra de intestino a partir de la membrana basal de la lámina de la mucosa hasta el ápice de la vellosidad. Fue registrada la medida del hueso tibio tarso para determinar la posible relación entre el peso, el tamaño de las vellosidades y el tamaño del pollo.

### **Análisis estadístico**

Las variables productivas, longitud de tibio tarso y longitud de vellosidades fueron estudiadas por medio de un análisis de varianza para un modelo completamente al azar.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{(ij)}$$

En donde  $Y_{ij}$  es la j-ésima observación de la variable de respuesta del i-ésimo tratamiento;  $\mu$  es la media poblacional;  $T_i$  es el efecto del i-ésimo tratamiento y  $\varepsilon_{(i)}$  es el error aleatorio.

Para las variables lesiones macroscópicas y microscópicas se utilizó un modelo completamente aleatorizado con un arreglo factorial, siendo los factores tratamiento, lesión macroscópica (1,2,3,4,5,6,7 y 8), tipo de lesión microscópica en intestino medio(1,2,3,4 y5) y severidad de la lesión (1,2, y 3).

En caso de encontrar diferencias entre tratamientos a una  $P < 0.05$  en las variables analizadas, se realizó comparación múltiple de medias con la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK). Para el análisis se utilizó el paquete estadístico procedente del SAS versión 8.0.

## **Resultados y Discusión**

### ***Variables productivas***

Al cabo de 21 días de duración del experimento, no se presentó mortalidad en ninguno de los tratamientos (Cuadro 2). Los pollos no mostraron susceptibilidad a la inclusión de los liofilizados de papaya y de la papaína pura a la concentración empleada, a pesar de que el consumo de papaína, principal componente de la papaya, puede causar alergia en humanos, gastritis severa, dermatitis e insuficiencia respiratoria (Ferreira, 2005; Merck, 2000; Drago, 2009; Torres, 2002). En otro estudio realizado en ratas se encontró que el suministro de papaína a una dosis superior de 800 mg/kg de peso vivo, producía reacciones de hipersensibilidad, dermatitis alérgica y perforación de esófago (Adebisi y col., 2003).

La ganancia de peso con la inclusión de LCP fue semejante a la de APC+CC ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2). La ganancia de peso semejante en los pollos de LCP sugiere que este puede sustituir a APC y CC en cuanto a ganancia de peso. Sin embargo no puede asegurarse que LCP tenga efecto antibacteriano y anticoccidial ya que los pollos no fueron desafiados. El efecto modulador de la microbiota intestinal de APC y de la mayoría de otros aditivos, es evidente cuando existen condiciones de estrés, enfermedad o manejo deficiente que favorecen la disbiosis a nivel intestinal (Sims y col., 2004). La cáscara utilizada en el presente estudio contenía 69.21% con base a materia seca por lo que el incremento en el peso de los pollos de LCP podría estar relacionado posiblemente más al aporte extra de carbohidratos de los restos de pulpa de papaya adheridos a la cáscara, que a un posible efecto promotor de salud intestinal

La ganancia de peso de los pollos de PP fue 158.8 g menor a la de los pollos que consumieron la dieta tradicional, a pesar de que los pollos consumieron mayor cantidad de alimento (IC de 1.7) (Cuadro 2). La papaína es utilizada en humanos como un producto para adelgazar. La presentación comercial de la papaína pura en la industria farmacéutica es en tabletas recomendada a una dosis de 6 tabletas de 400mg al día o bien en solución inyectable (Ferreira, 2005). No obstante se desconoce el mecanismo de acción de la papaína para disminuir el peso. Sin embargo, en los pollos del grupo PP, la menor ganancia de peso atribuible al efecto de la papaína, sugiere desnutrición y no adelgazamiento efecto por el cual la papaína es empleada en humanos. Incluso, la deficiente ganancia de peso en PP se vio asociada a un crecimiento y desarrollo pobre ya que, la media del tamaño del tibio tarso fue también menor en este grupo, en comparación a los otros tratamientos (Cuadro 5).

#### ***Lesiones macroscópicas y microscópicas***

Las lesiones que se presentaron en todos los tratamientos fueron la queratolisis focal en la capa proteica de la molleja (koilin) y las hemorragias en intestino medio. Sin embargo, estas lesiones no denotan algún padecimiento en particular y han sido reportadas frecuentemente en aves clínicamente sanas, por lo que no pueden ser consideradas como efecto de algún padecimiento que haya interferido en los resultados del presente estudio. La presencia de moco naranja y espuma en el contenido intestinal con fusión de vellosidades que fue observada solo en LSP y PP y el contenido acuoso escaso en íleon presente en el 100% de las aves del LCP, aunadas a infiltración linfocítica leve en todos los grupos sugiere el desarrollo de enteritis catarral, es decir inflamación leve debido al efecto de un agente irritante poco agresivo que, en este caso pudiera tener relación con la papaína (Smits, 2000) (Cuadros 3 y 4). La posible etiología y patogenia del hidropericardio leve observado solo en LSP y PP no puede ser determinada ni relacionada con el efecto de la papaína en el presente estudio, ya que se presentó solo en el 25% (2/8 aves) en el PP, mientras que en el LSP fue observado en el 50% (4/8 aves) (Cuadro 3 y 4).

#### ***Morfometría de mucosa la intestinal***

Los pollos de LSP y PP mostraron una longitud de vellosidades intestinales mayor en comparación a APC+CC y LCP ( $P < 0.05$ ) (Figura 1). Al igual que en el presente estudio Santín y col., (2001); Ortiz, (2005); Gil, (2009) y Rodríguez, (2009), no encontraron relación entre la ganancia de peso de pollos de engorda y la longitud de vellosidades intestinales a los 42, 45, 21 y 46 días edad respectivamente. Sin embargo, Sun y col., (2005); Arce y col., (2008), si encontraron una correlación positiva entre la mayor

longitud de vellosidades intestinales y la mejor ganancia de peso e índice de conversión de los pollos a los 49 días y 21 días de edad respectivamente. Estos autores sugieren que la ganancia de peso es mayor en los pollos que tienen vellosidades intestinales más largas debido a un mayor aprovechamiento de los nutrientes por ser mayor la superficie de absorción. Sin embargo, en el presente estudio dicha hipótesis no fue confirmada ya que el peso y longitud del tibio tarso de los pollos de LSP y PP fue menor a pesar de que el tamaño de las vellosidades de estas aves fue mayor que el de los tratamientos APC+CC y LCP ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 5). Por lo tanto, con base en los resultados aparentemente contradictorios de los estudios antes señalados, el tamaño de las vellosidades intestinales es independiente del peso corporal y esta probablemente regido más por factores genéticos que por regímenes alimenticios o productos que pudieran estimular su crecimiento.

### **Conclusiones**

1. Los resultados obtenidos en el presente experimento no son determinantes debido al tamaño reducido de la población experimental.
2. El liofilizado de semilla y la papaína pura, no tuvieron un efecto adverso ya que ninguno de estos compuestos ocasionó la muerte de los pollos en experimentación.
3. Es posible la sustitución de los APC+CC por liofilizado de cáscara de papaya en la dieta de los pollos, ya que el índice de conversión de ambos grupos LCP y APC+CC resultó semejante ( $P > 0.05$ ).
4. La papaína es probablemente un factor antinutricional, para los pollos, ya que la ganancia de peso e índice de conversión de los pollos de PP fue desfavorable desde la primera semana y hasta los 21 días de edad ( $P < 0.05$ ) en relación a APC+CC.
5. El efecto promotor de salud intestinal de los dos liofilizados y la papaína pura no fue determinante, ya que en este estudio el daño total macroscópico y microscópico en intestino medio observado, fue el mismo en todos los tratamientos, además de no haber correlación positiva entre el peso corporal y la longitud de las vellosidades intestinales.

**Cuadro 1. Dieta basal de inicio de 0 a 21 días para pollos de engorda**

<b>Ingrediente</b>	<b>%</b>
Sorgo 9% (proteína cruda 9%)	55.01
Pasta de soya (proteína cruda 48%)	36.8
Aceite vegetal	3.8
Fosfato de calcio	1.7
Carbonato de calcio	1.4
Sal	0.33
Premezcla vitaminas y minerales *	0.26
DL-Metionina 98	0.33
L-Lisina	0.23
Cloruro de Colina al 60%	0.1
Antioxidante	0.015
L-Treonina	0.03
<b>Nutriente</b>	<b>Análisis calculado</b>
EM Kcal/kg	3,024
(%)	
Proteína cruda	22.00
Lisina	1.37
Metionina	0.64
Metionina + cisteína	1.00
Triptófano	0.27
Treonina	0.84
Fósforo disponible	0.50
Calcio	1.00
Sodio	0.20

\*Premezcla vitamínica y mineral por kg: Vitamina A 3 000 000 UI, D<sub>3</sub> 750 000 UI, E 6 000 UI, K 1.0 g, Tiamina 1.25 g, Riboflavina 4 g, Piridoxina 3.0 g, B<sub>12</sub> 0.060 g, Niacina 25 g, Biotina 0.063g, Hierro 100g, Zinc 50 g, Manganeso 100 g, Cobre 10 g, Selenio 0.2g, Iodo 0.3 g y Cobalto 0.1 g.

**Cuadro 2. Parámetros productivos acumulados a los 21 días de edad de los pollos de engorda.**

Dietas experimentales	Parámetros productivos				
	Mortalidad (%)	Peso final (g)	GDP (g)	CA (g)	IC
APC + CC	0	774.4 <sup>a</sup>	733.8 <sup>a</sup>	950.4	1.3 <sup>c</sup>
LCP	0	771.2 <sup>a</sup>	730.2 <sup>a</sup>	943.4	1.3 <sup>c</sup>
LSP	0	711.9 <sup>a</sup>	641.1 <sup>b</sup>	1,014.5	1.5 <sup>b</sup>
PP	0	615.6 <sup>b</sup>	575.0 <sup>b</sup>	980.4	1.7 <sup>a</sup>

- <sup>a,b,c</sup> Cifras dentro de la columna que presentan diferente literal indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05)
- Los valores representan el promedio de 8 pollos por tratamiento.
- APC+CC=Antibiótico promotor de crecimiento más coccidiostato  
LCP= Liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Liofilizado de semilla de papaya  
PP= Papaína pura
- GDP: ganancia de peso. Peso promedio de los pollos a los 21 días de edad menos el peso promedio al primer día.
- CA: consumo de alimento promedio acumulado hasta los 21 días de edad
- IC: índice de conversión

**Cuadro 3. Lesiones macroscópicas en pollos de engorda a los 21 días de edad.**

Lesiones	Tratamientos							
	APC+CC		LCP		LSP		PP	
	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev
<b>MOLLEJA</b>								
Queratolisis focal	75	2	62	1.4	25	1.5	12	1
Queratolisis dispersa	0	-	0	-	0	-	62	1.2
<b>INTESTINO MEDIO</b>								
Hiperemia en mucosa	0	-	12	1	0	-	0	-
Hemorragias	62	1.4	0	-	75	1.5	75	2
Moco naranja	0	-	0	-	50	1.7	37	1
Espuma	0	-	0	-	50	1.7	37	1.3
<b>ILEON</b>								
Contenido acuoso	0	-	100	1	0	-	0	-
<b>CORAZÓN</b>								
Hidropericardio	0	-	0	-	50	1	25	1

- Los valores representan el promedio de 8 pollos evaluados por tratamiento tanto para presentación como para severidad de lesiones.
- Sev= Severidad promedio de la lesión macroscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (-)= Lesión ausente.
- %= Porcentaje promedio de presentación de la lesión por tratamiento.
- APC+CC=Antibiótico promotor de crecimiento más coccidiostato  
LCP= Liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Liofilizado de semilla de papaya  
PP= Papaína pura
- No hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 4. Lesiones microscópicas en intestino medio de pollos de engorda a los 21 días de edad.**

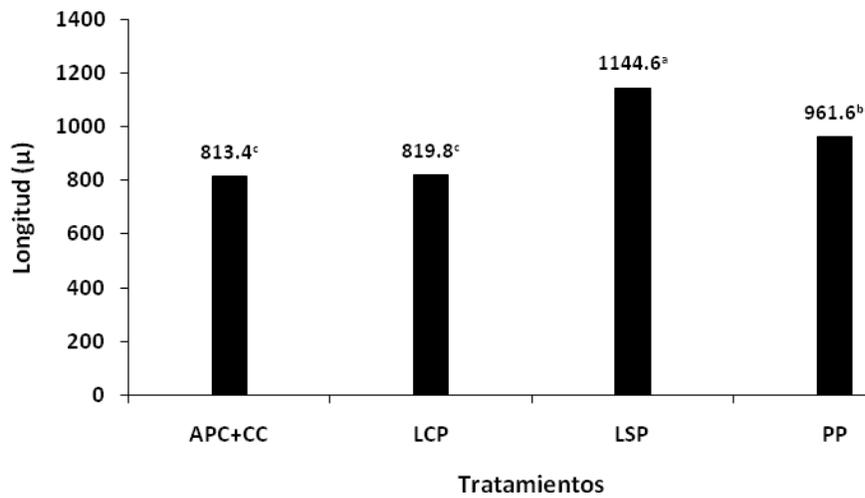
Lesión	Tratamientos			
	APC+CC	LCP	LSP	PP
Hiperplasia del epitelio	0.9	1	0.1	0.8
Fusión de vellosidades	0.0	0.0	0.4	0.1
Infiltración linfoide	1.6	1.3	0.6	0.6
Infiltración heterofílica	0.0	0.0	0.0	0.1
Hemorragias / hiperemia	1.6	1.3	1.3	1.4
<b>Daño Total</b>	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>

- Los valores representan la severidad media de la lesión presente en los 8 pollos evaluados por tratamiento.
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (0)= Normal.
- Daño total: representa el promedio por tratamiento de las lesiones presentes en intestino medio
- APC+CC=Antibiótico promotor de crecimiento más coccidiostato  
LCP= Liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Liofilizado de semilla de papaya  
PP= Papaína pura
- No hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0,05$ ).

**Cuadro 5. Longitud de vellosidades, peso corporal y longitud de tibio tarso de los pollos de engorda a los 21 días de edad.**

Variable	Tratamientos			
	APC+CC	LCP	LSP	PP
Longitud de las vellosidades ( $\mu$ )	813.4 $\pm$ 206 <sup>c</sup>	819.8 $\pm$ 137 <sup>c</sup>	1144.6 $\pm$ 203 <sup>a</sup>	961.6 $\pm$ 252 <sup>b</sup>
Peso corporal del pollo(g)	774.4 $\pm$ 90.1 <sup>a</sup>	771.3 $\pm$ 42.2 <sup>a</sup>	711.9 $\pm$ 36.7 <sup>a</sup>	615.6 $\pm$ 42.9 <sup>b</sup>
Longitud de tibio-tarso (cm)	7.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	7.2 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	7.0 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	6.8 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>

- <sup>a,b,c</sup> Las literales diferentes en cada fila indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05).
- Longitud de vellosidades: los valores representan el promedio de las 10 vellosidades medidas en cada uno de los 8 pollos por tratamiento.
- Peso corporal: peso en gramos promedio de las 8 aves por tratamiento a los 21 días de edad.
- APC+CC=Antibiótico promotor de crecimiento más coccidiostato  
LCP= Liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Liofilizado de semilla de papaya  
PP= Papaína pura



**Figura 1. Longitud de vellosidades intestinales ( $\mu$ ) de pollos de engorda a los 21 días de edad**

- Longitud de vellosidades: los valores representan el promedio de las 10 vellosidades medidas en cada uno de los 8 pollos por tratamiento.
- APC+CC=Antibiótico promotor de crecimiento más coccidiostato  
 LCP= Liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Papaína pura

## **EXPERIMENTO 2. EFECTO DE LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA SOBRE LA SALUD INTESTINAL Y COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDA.**

---

### **Introducción**

#### **Importancia de la salud intestinal en el comportamiento productivo del pollo de engorda**

Durante la primera y segunda semana de vida, la velocidad a la que se desarrolla el tracto gastrointestinal es mucho mayor comparado con otros órganos, por lo que un daño a la mucosa intestinal puede aumentar significativamente los requerimientos de mantenimiento y disminuir la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento del ave (Dibner y col., 1996). La absorción de nutrientes es un factor determinante para la conversión alimenticia, rendimiento en canal y niveles de pigmentación óptimos del pollo de engorda. La función e integridad de las células de la mucosa intestinal ha sido asociada con el incremento significativo en los parámetros productivos de pollos de engorda, los cuales reflejan el aprovechamiento de los nutrientes y el estado de salud de una parvada (Dibner y col., 1996; Quintana, 1999). El rendimiento en canal es el reflejo del peso vivo logrado al final del ciclo productivo, el cual se basa en la cantidad de carne lograda para la venta. (Fletcher y Cason, 1991). Un mayor incremento en el tamaño del ave resultará en un incremento en el porcentaje principalmente de la pechuga que está directamente relacionada con el peso de la canal (Chen y col., 1987). El procesamiento del pollo de engorda y el rendimiento en canal son considerados económicamente importantes en la industria avícola así como el desarrollo de productos con valor agregado como la pechuga, pierna y muslo.

Pocas propiedades de un alimento son tan importantes como el color para los consumidores (Fernández, 2001). En ciertas regiones del mundo la pigmentación es uno de los principales atributos de calidad en la industria avícola (Fletcher, 2006; Martínez, 2004). En México existe una tendencia marcada de los consumidores a preferir productos avícolas pigmentados (Fernández 2001; Martínez, 2004). Es una creencia común que las aves con una tonalidad amarilla o dorada son más sanas, y criadas bajo condiciones tradicionales (Vicente, 2000). La mayoría de los pigmentos en la industria avícola (carotenoides) deben ser saponificados en el tracto gastrointestinal para que puedan ser absorbidos por el intestino (Arce y col., 1990). El principal sitio de absorción se lleva a cabo en el asa duodenal y en el yeyuno (Dussan, 1992). En el pollo los carotenoides se absorben y depositan en la piel, los tejidos grasos y los tarsos (Arce y col., 1990). Una piel no pigmentada se relaciona con niveles bajos de absorción de

pigmento ocasionados por trastornos gastrointestinales que alteran la función e integridad intestinal del ave (Butcher, 2009).

### **Justificación**

Se realizó un segundo experimento utilizando una muestra de animales mayor que en el primer ensayo, para poder verificar los resultados obtenidos en el primero.

### **Hipótesis**

Los liofilizados de cáscara y semilla de papaya incluidos en la dieta de pollos de engorda, tienen un efecto comparable al de los antibióticos promotores de crecimiento conservando la salud intestinal e incrementando la productividad de los pollos.

### **Objetivo general**

Determinar la productividad del pollo de engorda con el empleo de los liofilizados de cáscara y semilla de papaya adicionados a la dieta.

Objetivos específicos:

1. Determinar la respuesta inmune ante la enfermedad de Newcastle, Influenza aviar, *Mycoplasmas* y *Salmonella* spp. para establecer la ausencia de desafío de estos agentes que pudieran interferir en la evaluación del efecto de los liofilizados.
2. Comparar la ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión y mortalidad de pollos criados con liofilizados incluidos en la dieta, en relación a los alimentados con una dieta tradicional.
3. Determinar el efecto de la adición de los liofilizados, sobre el rendimiento en canal y pigmentación a los 49 días de vida del pollo.
4. Evaluar la salud intestinal de los pollos en experimentación, en relación a la presencia de ooquistes de *Eimerias* en las excretas y por medio de histología y morfometría de mucosa intestinal.
5. Descartar la toxicidad de los liofilizados a nivel histológico de hígado y riñón de los pollos.
6. Cuantificar el porcentaje de proteína verdadera excretada para determinar si la papaína pura y la contenida en los liofilizados favorece la absorción de proteína

## **Materiales y Métodos**

### ***Animales y dietas experimentales***

El experimento se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en la calle de Salvador Díaz Mirón #89, Colonia Santiago Zapotitlán, Delegación Tláhuac, CP. 13209, México D.F.

Se utilizaron 378 pollos de engorda de ambos sexos, de la estirpe Cobb 500 de un día de edad, distribuidos en 7 tratamientos con 3 réplicas de 18 pollos cada una. Fueron alojados en corrales con cama de aserrín de 1.7 x 1 m incluidos en casetas de ambiente natural con 10 m de largo por 7 metros de ancho y. La alimentación consistió en tres etapas: con dieta basal de iniciación de 1 a 10 días de edad, de crecimiento del 11 al 21 días y de finalización de 22 a 49 días de edad (Cuadro 6). A las dietas basales de cada etapa formulada con base en sorgo-soya y balanceada de acuerdo a las recomendaciones del manual para pollo de engorda (Cobb 500, 2008), le fue agregado el ingrediente experimental formando así 7 tratamientos.

- DB= Dieta basal sin antibiótico promotor de crecimiento (APC) y sin coccidiostato (CC)
- APC+CC= Dieta basal más APC (de bacitracina zinc 0.5g/kg de alimento de durante todo el experimento) y CC (de nicarbazina 0.125g/kg de alimento en las dietas de iniciación y crecimiento y de monensina 0.100g/kg de alimento en la de finalización)
- APC= Dieta basal con APC (en el tiempo y cantidad señalada para APC+CC)
- CC= Dieta basal con CC (en los tiempos y cantidades señalados para APC+CC)
- LCP= Dieta basal más liofilizado de cáscara de papaya 5.0g /kg de alimento
- LSP= Dieta basal más liofilizado de semilla de papaya 5.0g /kg de alimento
- PP= Dieta basal más papaína pura 2.0g /kg de alimento

### ***Programa de vacunación y variables productivas***

Al igual que en el primer experimento, en el presente fue aplicado el mismo programa de vacunación y evaluadas las variables productivas durante los 49 días del experimento.

### ***Muestreo serológico***

Fueron muestreados aleatoriamente 12 pollos al día de edad y 6 pollos por tratamiento los días 21 y 49 de edad para determinar el título de anticuerpos en contra de las enfermedades de Newcastle e Influenza aviar por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) y la presencia de anticuerpos en contra de *Salmonella* spp., *Micoplasmas sinoviae* y *gallisepticum*, por medio de la prueba de aglutinación en placa (NOM-044-ZOO-1995; Swayne *et al.*, 1998).

### ***Conteo de ooquistes de Eimerias***

Fueron recolectadas aleatoriamente 5 muestras de excretas por réplica a los 21, 42 y 49 días de edad para el conteo de ooquistes por medio de la técnica de McMaster (Long y Rowell, 1958)

### ***Determinación de proteína en excretas***

Se determinó el porcentaje de proteína total, proteína verdadera y nitrógeno no proteico en la mezcla de 5 excretas de cada réplica por tratamiento, recolectadas aleatoriamente a los 21 y 49 días conforme a la metodología señalada por Tejada, (1992).

### ***Necropsia y toma de muestras***

Fueron sacrificados a los 21 y 49 días de edad, 2 pollos por replica (6 por tratamiento) usando el mismo método utilizado en el primer experimento (SICUAE, 2008).

En ambos sacrificios fue registrado el porcentaje de pollos que presentó cada lesión y la severidad de esta (leve, moderada o severa). Para histopatología, acorde a las técnicas establecidas por Lee (1968), fue procesada y teñida con hematoxilina y eosina, una muestra por pollo, de hígado, riñón e intestino medio a nivel el divertículo de Meckel.

### ***Morfometría de mucosa intestinal***

La morfometría de la mucosa intestinal fue realizada en 6 muestras de intestino por tratamiento a los 21 y 49 días de experimentación, de la misma manera que en el primer ensayo. Fue registrada la medida del hueso tibio tarso de 6 pollos por tratamiento para determinar la posible relación entre el peso, el tamaño de las vellosidades y el tamaño del pollo.

### ***Determinación del rendimiento en canal y grado de pigmentación***

Para la determinación de la intensidad de pigmentación y rendimiento en canal fueron procesados en el rastro del CEIEPAv, 18 aves por tratamiento (6 por replica), de 48 días de edad.

La lectura de la pigmentación cutánea fue tomada con un colorímetro de reflectancia Minolta (CR-300), en el apterilo costal izquierdo (vena de la grasa) *in vivo* y posteriormente en la zona pigmentante de la pechuga de las canales frías. El colorímetro de reflectancia convierte los colores percibidos por el ojo humano, a códigos numéricos del sistema CIE Lab en el que la sigla “L” corresponde a la luminosidad, la “a” al enrojecimiento y la “b” al amarillamiento. El rendimiento en la canal fue evaluado por medio del peso de la canal eviscerada x 100 / peso vivo del pollo; el rendimiento de pechuga deshuesada (pectoral externo) resultó del peso de la pechuga x 100 / peso vivo del pollo y el rendimiento de pierna con muslo fue obtenido por medio de peso de la pierna con muslo x 100 / peso vivo del pollo.

### **Análisis estadístico**

Las variables productivas, rendimiento en canal, morfometría de la mucosa intestinal, longitud de tibia tarso, pigmentación *in vivo* y en canal y proteína excretada fueron estudiadas por medio de un análisis de varianza para un modelo completamente al azar.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{(ij)}$$

En donde  $Y_{ij}$  es la  $j$ -ésima observación de la variable de respuesta del  $i$ -ésimo tratamiento;  $\mu$  es la media poblacional;  $T_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento y  $\epsilon_{(ij)}$  es el error aleatorio.

Para las variables lesiones macroscópicas y microscópicas se utilizó un modelo completamente aleatorizado con un arreglo factorial, siendo los factores tratamiento, lesión macroscópica a los 21 días de edad (1,2,3,4,5,6 y 7), a los 49 días (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 y 12), tipo de lesión microscópica a los 21 y 49 días en hígado (1,2,3,4,5 y 6), en riñón (1,2 y 3), en intestino medio (1,2,3 y 4) y severidad de la lesión (1,2, y 3).

En caso de encontrar diferencias entre tratamientos a una  $P < 0.05$  en las variables analizadas, se realizó comparación múltiple de medias con la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK).

Debido a que la variable cantidad de ooquistes por gramo de heces no tiene distribución normal, los datos fueron analizados por medio de un modelo no paramétrico con la prueba de Wilcoxon y Kruskal-Wallis Test. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico procedentes del SAS versión 8.0.

## **Resultados y Discusión**

### ***Respuesta inmune***

A los 21 y 49 días de edad los pollos fueron negativos a la prueba de aglutinación en placa para *M. synoviae*, *M. gallisepticum* y *Salmonella spp.* por lo que estos agentes no influyeron en la salud de los pollos. No se presentaron diferencias significativas entre los títulos de anticuerpos entre tratamientos para ENC e IA a los 21 y 49 días de edad ( $P>0.05$ ) por lo que no hubo desafío por virus de campo durante el desarrollo del experimento y no se apreció ningún efecto de estímulo para la respuesta inmune debido a los liofilizados (Figuras 2-3). Sin embargo, a los 49 días de edad se observa un descenso en los títulos de IA en comparación a los encontrados a los 21 días lo cual pudiera deberse a que la vacuna es inactivada y no hay un estímulo antigénico constante por la multiplicación del virus en los tejidos.

### ***Variables productivas***

Al cabo de 49 días, la mortalidad general de todo el experimento fue de 12 %, debido a síndrome ascítico (8.2 %), shock calórico (2.1%) y al sacrificio de pollos por trastornos locomotores (1.8%). El mayor porcentaje de mortalidad se presentó en las aves del DB y APC+CC y el menor en el grupo CC (Cuadro 7). Cabe señalar que la inclusión de LCP, LSP así como de PP al igual que en el primer ensayo, no incrementó el porcentaje de mortalidad en los grupos experimentales ni mostró algún efecto tóxico.

En el presente estudio se esperaba tener un efecto sobre el porcentaje de mortalidad por síndrome ascítico (SA) en las aves que consumieron liofilizados de papaya debido a que la cáscara como las semillas de papaya contienen un alcaloide piperidínico llamado carpaína, que es un antagonista de la acetil colina por lo que produce taquicardia y su uso en medicina humana está indicado en pacientes con insuficiencia cardiaca (Sgarbieri y Pacheco, 1999; Hernández, 2001; Lorenzi, 2002; Acosta, 2002). En efecto, la mortalidad por SA fue menor en las aves de los tratamientos APC (5.5%) y CC (3.7%) y el mayor porcentaje se encontró en las aves que consumieron LSP (10.5%) producto que contiene más carpaína que la cáscara y menos que las hojas de la papaya (Acosta, 2002) (Cuadro 7).

La menor ganancia de peso estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) en LSP y PP en relación a APC+CC y LCP en el primer experimento, se convirtió en mayor ganancia de peso numérica en el segundo experimento aunque dicho beneficio no resultó ser estadísticamente significativo ( $P > 0.05$ ) (Cuadros 2 y 7).

En cuanto a LCP, en el experimento 1 a los 21 días, la ganancia de peso de estos pollos fue similar a la del grupo control APC+CC ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2). En cambio en el segundo experimento, los pollos de LCP ganaron 51 g más de peso a los 21 días y 177g más a los 49 días en comparación a APC+CC (Cuadro 7), aunque dicho incremento no resultó estadísticamente significativo ( $P > 0.05$ ) debido a la gran variabilidad en la ganancia de peso que mostraron los pollos en las replicas de cada tratamiento. Esta variabilidad no solo se observó en la diferente velocidad de crecimiento entre unas aves y otras del mismo tratamiento, sino también en el fenotipo de los pollos (Figura 4).

Por otra parte, las aves de DB a los 49 días ganaron 113g y 214 g de peso más que las aves de APC+CC y de CC, respectivamente (Cuadro 7). La menor ganancia de peso aunque no significativa en APC+CC y CC pudiera ser atribuida al coccidiostato (nicarbazina hasta 21 días y monensina de 21 a 49 días) ya que es el factor en común en las dos dietas y pudo disminuir el consumo como ha sido señalado en el caso de la nicarbazina (Froyman y Hales, 1984; McDougal y McQuiston, 1980 y Keshavarz y McDougal, 1981).

#### ***Determinación del rendimiento de la canal y grado de pigmentación***

Al igual que en los parámetros productivos, en el rendimiento de canal, pechuga, pierna y muslo no se apreciaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos (Cuadro 8). No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en enrojecimiento en vivo y en canal ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, el amarillamiento en vivo fue mayor en los pollos de DB, APC+CC y CC ( $P < 0.05$ ) mientras que la medición del amarillamiento en las canales frías, fue mayor en CC, LCP, LSP y PP con respecto a los otros tratamientos (Cuadro 9).

La adición del CC, LCP, LSP y PP no solo mejoró la pigmentación amarilla de las canales, sino que incrementó el amarillamiento superando el mínimo recomendado para cumplir con las exigencias del mercado mexicano (Cuadro 9) (Fernández, 2001; Martínez y col., 2004).

Los resultados obtenidos de amarillamiento pudieran deberse en parte, a que el nivel de amarillamiento después del procesamiento se incrementa ya que no interfiere el enrojecimiento debido a la presencia de sangre en la red vascular subcutánea y a la solidificación de la grasa subcutánea durante el enfriamiento (Castañeda y col., 2005). Se ha determinado que en los pollos con trastornos gastrointestinales disminuye la absorción de los pigmentos de la dieta (Merida, 2008). Por lo que, es posible que las propiedades antibacterianas y antiparasitarias (posible anticoccidiano) de los componentes de los liofilizados empleados o la papaína en particular, pudieran haber contribuido a la conservación de la salud intestinal favoreciendo así la absorción del pigmento y el depósito de este en la grasa subcutánea y en la piel (Acosta, 2002; Palacios, 1997; Emeruwa, 1982) (Cuadro 9).

#### ***Ooquistes por gramo de heces***

A los 21 días de edad no se encontró presencia de coccidias en ninguno de los tratamientos. Sin embargo, a los 42 días todos los tratamientos mostraron presencia de ooquistes de *Eimeria acervulina*, siendo APC el que tuvo un conteo mayor (Figura 5). A los 49 días de edad se detectaron tanto ooquistes de *Eimeria acervulina* y de *Eimeria tenella*, sin signos clínicos aparentes. Aparentemente, la exposición a coccidias varió de un tratamiento a otro ya que, en PP el número de ooquistes supera al de todos los demás tratamientos y en CC fue menor que en APC+CC a pesar que en ambos la cantidad de coccidiostato fue semejante. Inclusive en el tratamiento PP (Figura 5). Dicha variabilidad a la exposición de ooquistes en el presente estudio no permite evaluar el efecto anticoccidial de los liofilizados de papaya. La variabilidad en la exposición resulta del efecto de varios factores ambientales ya que, el número de ooquistes que llegan a esporular y son infectivos depende de las condiciones adecuadas de humedad en la cama, sombra, presencia de oxígeno y temperatura (Yuño y Gogorza, 2008). Para poder determinar el efecto anticoccidial de los liofilizados y de la papaína es necesario realizar otro estudio en el que la exposición a coccidias este controlada por medio de un inóculo con dosis por especie de *Eimeria* conocida y condiciones experimentales homogéneas.

#### ***Lesiones macroscópicas y microscópicas***

##### **Hígado**

En el presente estudio, la palidez del parénquima hepático correspondiente a hepatitis fue corroborada histológicamente en todos los tratamientos con severidad semejante de degeneración y cambio graso que se incrementó con el tiempo ( $P>0.05$ ) (Cuadros 10, 11 y 12; Figura 6). La degeneración hepática o hepatitis asociada a la colangitis y

proliferación de conductos biliares observadas durante todo el experimento (Figura 7, 8) es señalada en la literatura especializada en procesos tóxicos y en particular de micotoxiosis (Valdivia y col., 2001; Denli y Perez, 2006). Ya que no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la severidad de la hepatitis, se considera que los liofilizados y la papaína pura adicionada en la dieta no tuvieron efecto tóxico y que por lo tanto, estas lesiones pudieran deberse a aflatoxicosis. La presencia de aflatoxinas en el alimento no fue determinada.

Otras lesiones microscópicas observadas en hígado fueron infiltración linfocítica y heterofílica periportal, así como colangitis supurativa (Figura 9) que sugiere infección bacteriana secundaria de curso subagudo. Estas lesiones se generalizaron en todos los tratamientos a los 49 días ya sea en forma leve o moderada (Cuadro 12). Por otra parte, estas lesiones periportales pudieron deberse a una posible disbacteriosis intestinal de difusión ascendente vía vena porta. Debido a esto puede inferirse que el efecto antibacteriano de los liofilizados no fue significativo.

#### Riñón

El riñón es otro órgano blanco de procesos tóxicos y en el presente estudio este no presentó degeneración en ningún tratamiento, a diferencia del hígado, por lo que los liofilizados de papaya y papaína no fueron nefrotóxicos (Cuadro 10, 11 y 13). La nefritis intersticial de leve a moderada observada en todos los tratamientos a los 49 días de edad, ha sido asociada en la literatura especializada, a infección o reacción vacunal por coronavirus (Bronquitis infecciosa) o por birnavirus (Infección de la Bolsa de Fabricio) (Saif y col., 2003).

#### Intestino

La enteritis linfocitaria presente en todos los tratamientos de leve a moderada (Figura 10), a lo largo del estudio y que coincide con la posible infección periportal señalada anteriormente, puede corresponder al desarrollo de un proceso de disbacteriosis (Cuadro 14). En intestino, al igual que en el caso de la posible bacteriosis periportal hepática, se puede deducir que el efecto antibacteriano de los liofilizados no fue apreciado.

### ***Morfometría de mucosa intestinal***

A los 21 y 49 días de edad, la longitud de las vellosidades intestinales fue mayor en LSP y PP en comparación con los otros tratamientos ( $P < 0.05$ ) (Figura 11). Sin embargo, el peso y la longitud de tibio tarso a estas edades, fue semejante en todos los grupos ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 15). Al igual que en el experimento 1 la longitud de las vellosidades intestinales no está en relación ni influye en la ganancia de peso de los pollos.

### ***Porcentaje de proteína excretado***

Al ser la papaína una enzima proteolítica, y estar presente en la cáscara y semilla de la papaya, se esperaba un mayor aprovechamiento de la proteína de la dieta por las aves de esos grupos experimentales (Niklas y Marler, 2007). Este aprovechamiento, se reflejaría en una excreción menor de proteína verdadera (PV), lo cual no corresponde a los resultados obtenidos en el presente estudio ya que el porcentaje de PV fue semejante en todos los tratamientos a los 21 y 49 días de edad ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, el porcentaje de excreción, de proteína cruda (PC) en las heces a los 21 días de edad en APC+CC fue el valor mayor y en DB el menor valor. A los 49 días el valor mayor fue en APC y PP. El porcentaje de nitrógeno no proteico (NNP) presente en las excretas a los 21 días se comportó igual que en el caso de PC, el valor mayor fue en APC+CC y el menor en DB; a los 49 días nuevamente a semejanza de los valores de PC, los valores mayores de NNP fueron en APC, LCP y PP (Cuadro 16). La relación entre los valores de PC y NNP observada en el presente estudio es explicable debido a que la PC está constituida por NNP y proteína verdadera (PV). El nitrógeno presente en las excretas de las aves está compuesto tanto por NNP y nitrógeno proteico o PV. La PV corresponde a la proteína dietaria que no fue degradada y absorbida, mientras que el NNP en mayor proporción proviene del ácido úrico de la orina (Egaña, y Morales, 1997). Probablemente el hecho de que el valor de NNP en PP a los 49 días sea superior a todos los demás pudiera deberse al incremento de ácido úrico producto del efecto proteolítico de la papaína.

### **Conclusiones**

1. En el presente estudio, la adición de LCP, LSP y PP al igual que en el experimento 1, no mostró efectos adversos en los pollos, ya que, el porcentaje de mortalidad en estos tratamientos no se incrementó y no se encontraron lesiones sugerentes de toxicidad en hígado ni riñón.

2. Tanto los liofilizados de papaya como la papaína no mejoraron la ganancia de peso, el índice de conversión y el rendimiento en canal de los pollos ya que tuvieron un comportamiento productivo similar al de los pollos de APC+CC, APC y CC.
3. Aparentemente la papaína estimuló el crecimiento de las vellosidades tanto en el primer experimento como en el segundo en LSP y PP a pesar de que, esta última es probablemente, un factor anti-nutricional como fue percibido en el primer experimento.
4. El efecto de los liofilizados sobre la salud intestinal, no fue determinante ya que en todos los tratamientos el daño total microscópico en intestino fue semejante a los 21 y 49 días de edad.
5. La inclusión de los liofilizados al igual que el coccidiostato mejoraron significativamente el grado de amarillamiento en la canal fría.
6. El posible efecto anticoccidial de los liofilizados no pudo ser determinado en el presente estudio, debido a que la infestación espontánea por coccidia fue muy variable entre las replicas de cada tratamiento.

**Cuadro 6. Composición de dietas basales para pollos de engorda de 1 a 49 días de edad (%).**

<b>Ingrediente</b>	<b>Dietas basales (%)</b>		
	<b>Inicio</b>	<b>Crecimiento</b>	<b>Finalización</b>
Sorgo 9%	60.33	64.46	64.90
Pasta de soya 48%	32.69	27.71	25.52
Aceite vegetal	2.350	3.267	4.764
Fosfato de calcio	1.871	1.801	1.674
Carbonato de calcio	1.544	1.493	1.405
Sal	0.487	0.410	0.385
Premezcla vitaminas *	0.135	0.135	0.135
DL-Metionina 98	0.262	0.349	0.272
L-Lisina	0.134	0.178	0.200
Premezcla mineral *	0.084	0.083	0.083
Cloruro de Colina al 60%	0.100	0.100	0.100
Antioxidante	0.015	0.015	0.015
Pigmento amarillo vegetal	-	-	0.533
L-Treonina	-	-	0.008
<b>Nutriente</b>		<b>Análisis calculado</b>	
EM Kcal/kg	2,930	3,013	3,100
(%)			
Proteína cruda	21.20	19.2	18.8
Lisina	1.17	1.07	1.05
Metionina	0.57	0.63	0.50
Metionina + cisteína	0.85	0.88	0.82
Triptófano	0.27	0.25	0.25
Treonina	0.79	0.71	0.74
Fósforo disponible	0.5	0.48	0.45
Calcio	0.99	0.96	0.90
Sodio	0.2	0.17	0.18

\*Premezcla vitamínica y mineral por kg: Vitamina A 3 000 000 UI, D3 750 000 UI, E 6 000 UI, K 1.0 g, Tiamina 1.25 g, Riboflavina 4 g, Piridoxina 3.0 g, B12 0.060 g, Niacina 25 g, g), Biotina 0.063g, Hierro 100g, Zinc 50 g, Manganeso 100 g, Cobre 10 g, Selenio 0.2g, Iodo 0.3 g y Cobalto 0.1 g.

**Cuadro 7. Parámetros productivos acumulados a los 49 días de edad de los pollos de engorda.**

Tratamientos	Parámetros productivos				
	Mortalidad (%)	Peso final (g)	GDP (g)	CA (g)	IC
DB	12.9	3042 ± 254.2	2995 ± 253.8	5373 ± 184.4	1.80± 0.13
APC+CC	16.6	2930 ± 69.6	2882 ± 69.5	4977 ± 178.5	1.73 ± 0.07
APC	11.1	2982 ± 50.2	2935± 50.5	5158 ± 176.6	1.76 ± 0.03
CC	9.2	2828 ± 65.1	2780 ± 65.5	4897 ± 63.1	1.76 ± 0.06
LCP	12.9	3107 ± 68.0	3059 ± 67.7	5207± 89.6	1.70 ± 0.06
LSP	11.1	2973 ± 107.1	2926 ± 106.8	5105 ± 330.5	1.74 ± 0.08
PP	11.1	3013 ± 196.7	2966 ± 197	5136 ± 476.6	1.73 ± 0.03

- Los valores representan el promedio de 54 pollos evaluados por tratamiento (restando la mortalidad y las aves sacrificadas durante el experimento).
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- Mortalidad: porcentaje de mortalidad acumulado por tratamiento hasta los 49 días de edad.
- GDP: ganancia de peso. Promedio de ganancia por ave a los 49 días menos la media de peso corporal al día de edad.
- CA: consumo de alimento promedio acumulado hasta los 49 días de edad
- IC: índice de conversión (consumo de alimento promedio acumulado hasta los 49 días de edad entre promedio de ganancia de peso al cabo de 49 días).
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 8. Rendimiento en canal, pechuga, pierna y muslo de pollos de engorda a los 49 días de edad.**

Tratamientos	Peso vivo	Canal		Pechuga		Pierna y muslo	
	g	g	%	g	%	g	%
<b>DB</b>	3094	2339	75.5	533	17.2	662	21.4
<b>APC + CC</b>	2913	2161	74.1	522	17.9	621	21.3
<b>APC</b>	3030	2223	73.9	506	16.7	666	22.0
<b>CC</b>	2793	2073	74.2	496	17.8	613	21.9
<b>LCP</b>	3106	2302	74.0	542	17.4	681	21.8
<b>LSP</b>	2987	2175	72.7	513	17.2	638	21.3
<b>PP</b>	2979	2174	73.0	500	16.8	643	21.6

- Promedio de 18 pollos por tratamiento
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- El rendimiento en la canal: peso de la canal eviscerada x 100 / peso vivo del pollo.
- Rendimiento de pechuga (pectoral externo): peso de la pechuga x 100 / peso de la canal eviscerada.
- Rendimiento de pierna con muslo: peso de la pierna con muslo x 100 / peso de la canal eviscerada.
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (P>0,05).

**Cuadro 9. Pigmentación cutánea del pollo de engorda vivo y en canal a los 49 días de edad.**

Tratamientos	Amarillamiento		Enrojecimiento	
	PV	CF	PV	CF
DB	18.0 <sup>a</sup>	37.8 <sup>z</sup>	2.1	1.9
APC + CC	17.6 <sup>a</sup>	39.8 <sup>y</sup>	2.1	2.6
APC	15.7 <sup>ab</sup>	38.0 <sup>z</sup>	2.4	2.6
CC	17.9 <sup>a</sup>	45.5 <sup>x</sup>	1.6	1.6
LCP	14.1 <sup>b</sup>	42.2 <sup>xy</sup>	2.2	2.6
LSP	15.1 <sup>ab</sup>	43.4 <sup>xy</sup>	1.5	1.6
PP	15.7 <sup>b</sup>	44.6 <sup>x</sup>	2.1	1.6

- <sup>a,b</sup> Cifras con letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05) para valores de pigmentación en vivo. Cada valor corresponde a la media de 18 aves por tratamiento
- <sup>x,y</sup> Cifras con letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05) para valores de pigmentación en la canal fría. Cada valor corresponde a la media de 18 aves por tratamiento
- PV= pollo vivo.
- CF= canal fría después de salir del tanque de enfriamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura

**Cuadro 10. Lesiones macroscópicas en pollos de engorda a los 21 días de edad.**

Lesiones	Tratamientos													
	DB		APC+CC		APC		CC		LCP		LSP		PP	
	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev
<b>Molleja</b>														
Queratolisis en limite ístmico	17	2	50	1	83	1	0	-	0	-	33	1	0	-
Queratolisis difusa	0	-	17	1	0	-	33	2	83	1.6	33	1	83	1.8
<b>Hígado</b>														
Palidez	0	-	0	-	0	-	0	-	17	2	17	2	0	-
<b>Riñón</b>														
Palidez	0	-	0	-	17	3	17	3	17	2	50	2.3	17	2
Nefromegalia	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	50	2	17	2

- Promedio de 6 pollos por tratamiento
- Sev= Severidad de la lesión macroscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (-)= Lesión ausente.
- %= Porcentaje de presentación de la lesión por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 11. Lesiones macroscópicas en pollos de engorda a los 49 días de edad.**

Lesiones	Tratamientos													
	DB		APC+CC		APC		CC		LCP		LSP		PP	
	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev	%	Sev
<b>Duodeno</b>														
Partículas de alimento	100	2.1	0	-	17	1	0	-	17	2	0	-	0	-
Área hemorrágica			0	-	50	1.3	17	3	33	1	50	1.3	50	1.3
Moco naranja	17	1	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
<b>Yeyuno</b>														
Hiperemia de mucosa	100	1.6	50	2	17	2	0	-	17	1	0	-	0	-
Área hemorrágica	0	-	0	-	17	1	67	2	50	2	83	1.8	0	-
Moco naranja	0	-	0	-	0	-	0	-	17	2	0	-	0	-
<b>Íleon</b>														
Hiperemia de mucosa	0	-	17	3	33	1.5	0	-	0	-	0	-	0	-
Área hemorrágica	0	-	0	-	0	-	50	1	0	-	17	2	17	1
Moco naranja	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	17	2	0	-
<b>Hígado</b>														
Palidez	0	-	0	-	33	2	83	1	83	2	67	1.5	33	2
<b>Riñón</b>														
Palidez	0	-	0	-	0	-	33	1	0	-	33	1.5	0	-
<b>Corazón</b>														
Hidropericardio	0	-	0	-	0	-	0	-	50	2.3	0	-	0	-

- Promedio de 6 pollos por tratamiento
- Sev= Severidad de la lesión macroscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (-)= Lesión ausente.
- %= Porcentaje de presentación de la lesión por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos (P>0,05).

**Cuadro 12. Severidad de las lesiones microscópicas en hígado de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos						
		DB	APC + CC	APC	CC	LCP	LSP	PP
Cambio graso	21	1	1.7	0.7	1.3	1	0.7	1
	49	0	0	0	0	0	0.3	0.7
Degeneración	21	0	0	0	0	0	2	0.7
	49	2.3	1.7	3	2.3	2	1.3	2
Infiltración linfoide alrededor de conductos biliares	21	0.7	0	1.7	0.3	0.3	1.3	1.7
	49	2.7	1	0.6	1.3	1.3	2	1.3
Proliferación de conductos biliares	21	0.3	0.3	0.3	0	0.3	1	1.7
	49	2	0.7	0.3	0	0.7	0.7	0.3
infiltración periportal linfoide	21	1	0.7	1	0.7	0.6	0.7	0.7
	49	1.7	1.7	2.3	1.3	2.3	1.7	2
infiltración periportal heterofílica	21	0	0.7	0	0	0	1.3	0.3
	49	1	1.7	0.7	0.3	2.3	0.7	0.7
<b>DAÑO TOTAL</b>	<b>21</b>	<b>0.6b</b>	<b>0.6b</b>	<b>0.7ab</b>	<b>0.4b</b>	<b>0.5b</b>	<b>1.1a</b>	<b>0.9a</b>
	<b>49</b>	<b>1.6</b>	<b>1.2</b>	<b>1.3</b>	<b>1</b>	<b>1.3</b>	<b>1</b>	<b>1.2</b>

- Promedio de 3 muestras por tratamiento
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (0)= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en intestino medio
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas por lesión entre tratamientos ( $P > 0,05$ ).

**Cuadro 13. Severidad de las lesiones microscópicas en riñón de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos						
		DB	APC+CC	APC	CC	LCP	LSP	PP
Degeneración	21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	49	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Infiltración intersticial linfoide	21	1.0	1.3	1.0	0.7	1.3	1.7	1.7
	49	2.0	1.0	1.7	0.7	1.3	2.3	1.7
Tumefacción glomerular	21	0.3	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.7
	49	0.7	0.3	0.3	0.7	0.0	1.3	0.7
<b>DAÑO TOTAL</b>	21	<b>0.5</b>	<b>0.8</b>	<b>0.7</b>	<b>0.3</b>	<b>0.6</b>	<b>0.7</b>	<b>0.5</b>
	49	<b>1.1</b>	<b>0.8</b>	<b>1.1</b>	<b>0.6</b>	<b>0.9</b>	<b>1.2</b>	<b>1</b>

- Promedio de 3 muestras por tratamiento
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (0)= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en intestino medio
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas por lesión entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 14. Severidad de las lesiones microscópicas de intestino medio de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos						
		DB	APC+CC	APC	CC	LCP	LSP	PP
Fusión de vellosidades	21	0.3	0.5	0.0	0.2	0.0	0.4	0.3
	49	0.2	0.8	0.8	1.2	0.6	1.2	0.6
Infiltración linfoide	21	0.7	0.2	0.5	0.2	0.5	1.2	0.7
	49	2.2	1.8	0.8	1.8	1.6	1.8	1.4
Infiltración heterofílica	21	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3
	49	0.0	0.6	1.0	0.0	0.0	0.0	0.2
Hemorragias / hiperemia	21	2.2	1.8	1.2	0.8	0.3	1	0.8
	49	1.8	1.8	2.4	1.5	1.8	1.8	1.6
<b>DAÑO TOTAL</b>	21	<b>0.55a</b>	<b>0.4ab</b>	<b>0.3ab</b>	<b>0.2ab</b>	<b>0.1b</b>	<b>0.47ab</b>	<b>0.4ab</b>
	49	<b>1a</b>	<b>1a</b>	<b>1.2a</b>	<b>1.1a</b>	<b>1a</b>	<b>1.1<sup>a</sup></b>	<b>1a</b>

- Promedio de 3 muestras por tratamiento
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y (0)= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en intestino medio
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas por lesión entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 15. Longitud de vellosidades, peso corporal y longitud de tibia tarso de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.**

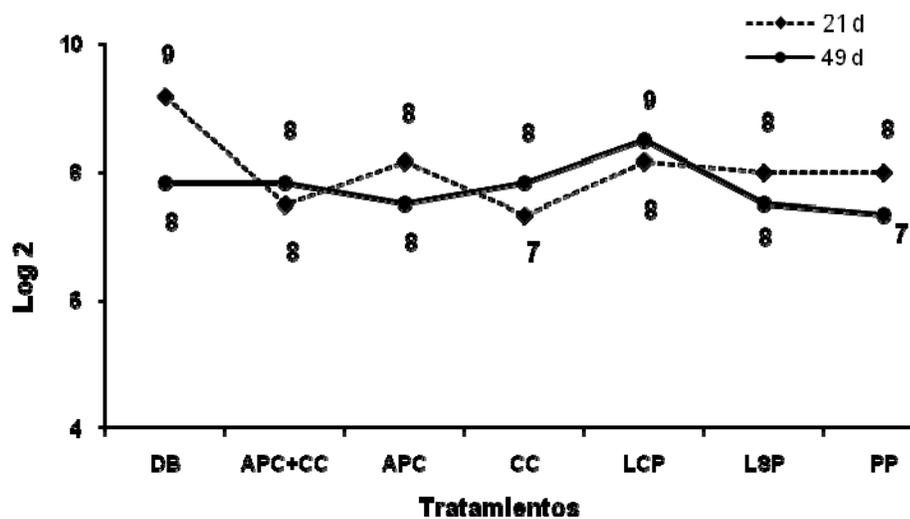
Tratamientos	DB	APC+CC	APC	CC	LCP	LSP	PP
<b>21 días</b>							
Long vellosidades ( $\mu\text{m}$ )	1171 $\pm$ 202 <sup>c</sup>	1233 $\pm$ 100 <sup>b</sup>	1233 $\pm$ 101 <sup>b</sup>	1154 $\pm$ 170 <sup>c</sup>	1183 $\pm$ 134 <sup>b</sup>	1408 $\pm$ 106 <sup>a</sup>	1255 $\pm$ 94 <sup>a</sup>
Peso corporal (g)	699 $\pm$ 118	659 $\pm$ 47	628 $\pm$ 124	678 $\pm$ 85	703 $\pm$ 64	752 $\pm$ 89	623 $\pm$ 135
Long Tibio tarso	7.0 $\pm$ 0.5	6.9 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 0.2	6.7 $\pm$ 0.3
<b>49 días</b>							
Long vellosidades ( $\mu\text{m}$ )	1354 $\pm$ 313 <sup>c</sup>	1634 $\pm$ 201 <sup>b</sup>	1369 $\pm$ 262 <sup>c</sup>	1581 $\pm$ 308 <sup>b</sup>	1618 $\pm$ 166 <sup>b</sup>	1661 $\pm$ 298 <sup>a</sup>	1792 $\pm$ 288 <sup>a</sup>
Peso corporal (g)	3122 $\pm$ 328	2806 $\pm$ 371	2932 $\pm$ 694	3036 $\pm$ 517	3244 $\pm$ 367	3207 $\pm$ 242	2974 $\pm$ 415
Long Tibio tarso	11.4 $\pm$ 0.5	11.3 $\pm$ 0.5	11.5 $\pm$ 0.8	11.4 $\pm$ 0.6	11.6 $\pm$ 0.8	11.7 $\pm$ 0.4	11.6 $\pm$ 0.6

- <sup>a,b,c</sup> Las literales diferentes en cada fila indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ )
- Longitud de vellosidades: Los valores representan el promedio de las 10 vellosidades medidas en cada uno de los 6 pollos por tratamiento.
- Peso corporal: Peso en gramos promedio de las 8 aves por tratamiento a los 21 días de edad.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
 APC+CC=Dieta convencional  
 APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
 CC= Dieta basal con coccidiostato  
 LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Dieta basal con papaína pura

**Cuadro 16. Porcentaje de proteína cruda, proteína verdadera y nitrógeno no proteico excretado a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.**

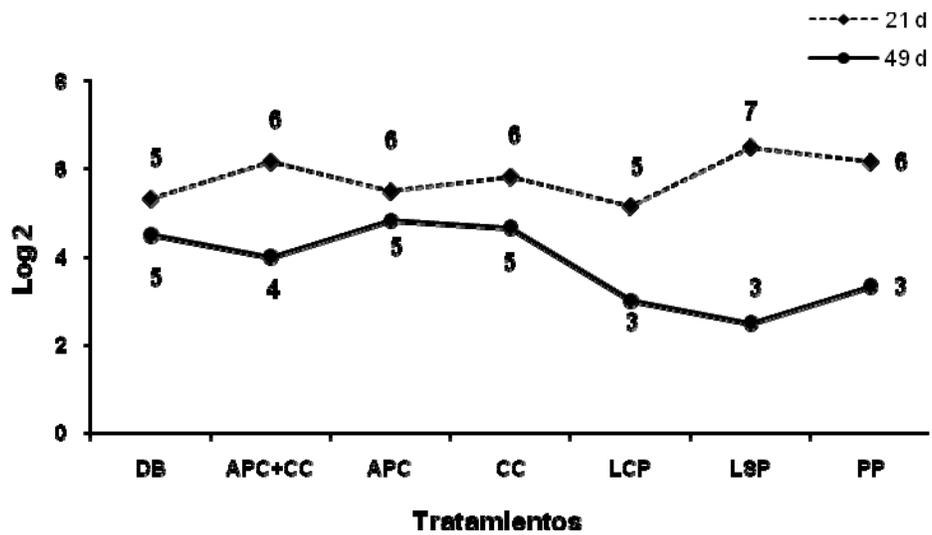
	Edad (días)	Tratamientos						
		DB	APC+CC	APC	CC	LCP	LSP	PP
PV (%)	21	11.6	12.9	10.0	13.6	12.2	12.9	10.9
	49	10.3	10.8	11.1	10.6	8.05	10.7	10.5
PC (%)	21	22.55 <sup>c</sup>	26.2 <sup>a</sup>	23.05 <sup>bc</sup>	25.15 <sup>ab</sup>	25.15 <sup>ab</sup>	24.75 <sup>abc</sup>	24.6 <sup>abc</sup>
	49	23.3 <sup>ab</sup>	22.7 <sup>ab</sup>	24.7 <sup>a</sup>	22.8 <sup>ab</sup>	21.7 <sup>b</sup>	23.0 <sup>ab</sup>	24.6 <sup>a</sup>
NNP (%)	21	10.95 <sup>b</sup>	13.35 <sup>a</sup>	13.05 <sup>ab</sup>	11.55 <sup>ab</sup>	13 <sup>ab</sup>	11.9 <sup>ab</sup>	13.7 <sup>a</sup>
	49	12.95 <sup>ab</sup>	11.85 <sup>b</sup>	13.5 <sup>a</sup>	12.2 <sup>ab</sup>	13.6 <sup>a</sup>	12.25 <sup>ab</sup>	14.1 <sup>a</sup>

- <sup>a,b,c</sup> Las literales diferentes en cada fila indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05).
- Los valores representan el promedio de tres replicas por tratamiento.
- PC= Proteína cruda o total
- PV= Proteína verdadera
- NNP= Nitrógeno no proteico
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura



**Figura 2. Títulos de anticuerpo contra la Enfermedad de Newcastle a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.**

- Cada valor corresponde a la media de 6 aves por tratamiento.
- Los anticuerpos contra ENC son expresados como Log. Base 2 en donde: 7= dilución 128, 8= dilución 256 y 9= dilución 512



**Figura 3. Títulos de anticuerpo contra Influenza Aviar a los 21 y 49 días de edad de los pollos de engorda.**

- Cada valor corresponde a la media de 6 aves por tratamiento.
- Los anticuerpos contra IA son expresados como Log. base 2 en donde: 3= dilución 8, 4= dilución 16, 5= dilución 32, 6= dilución 64 y 7= dilución 128. Títulos a partir de 1:16 o Log 4, se consideran positivos.



**Figura. 4. Diferencia fenotípica observada en pollos de engorda machos de la estirpe Cobb 500. A) Macho con cresta bien dentada y barbillas grandes, de color rojo intenso; B) Macho con cresta y barbillas pequeñas, de color rojo pálido; C) Hembras.**

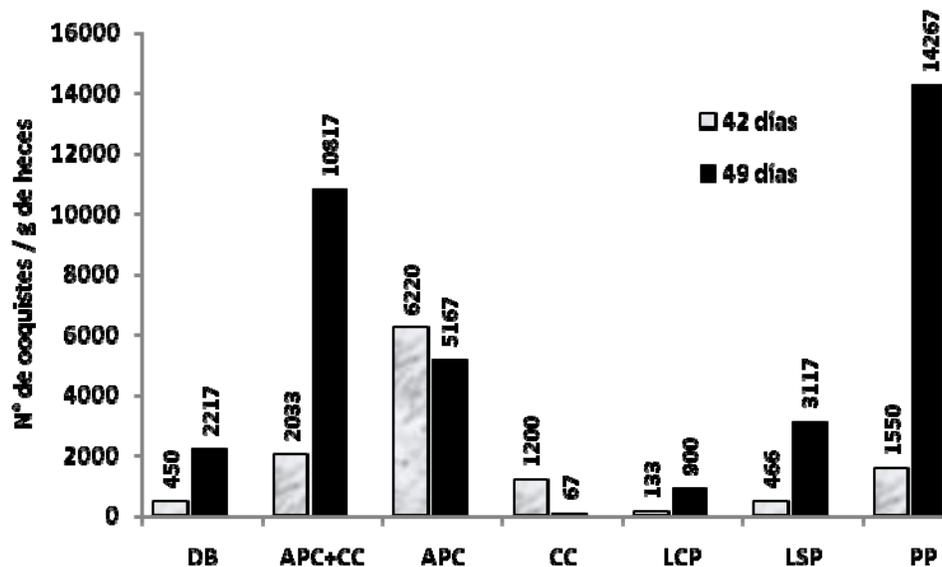
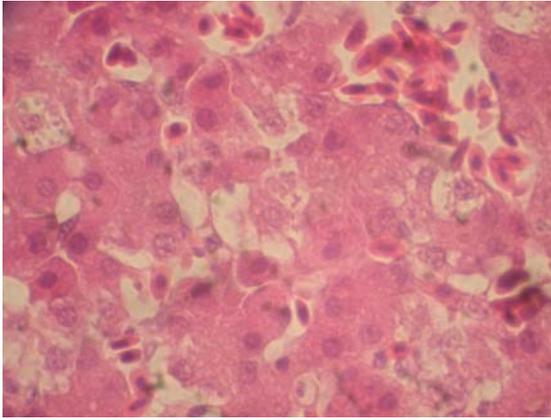
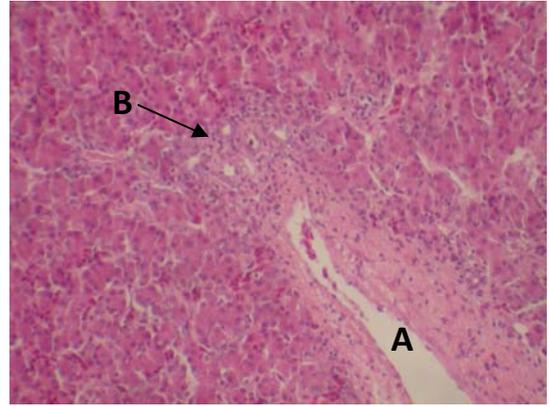


Figura 5. Cantidad de ooquistes por gramo de heces excretados a los 42 y 49 días de edad de los pollos de engorda.

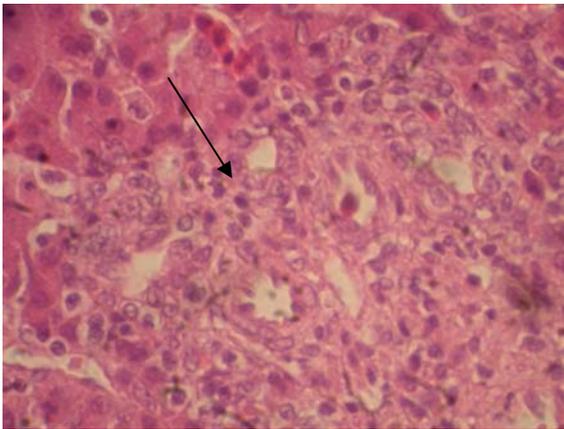
- Cada valor corresponde a la media de 3 muestras por tratamiento
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas por lesión entre tratamientos ( $P>0,05$ ).



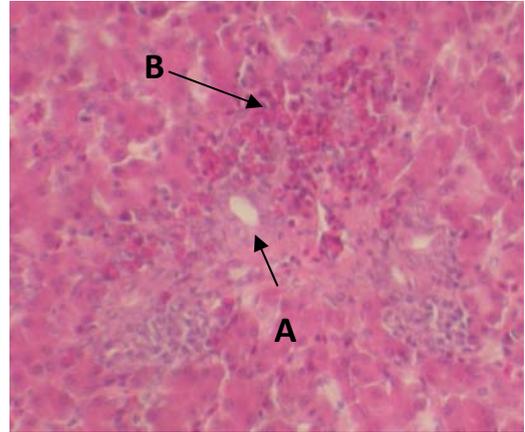
**Figura 6. Degeneración hepática severa (40x).**



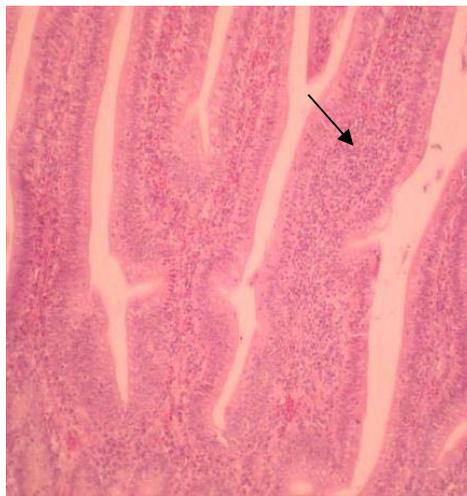
**Figura 7. Proliferación de conductos biliares (10x). A) Espacio porta, B) Conductos biliares.**



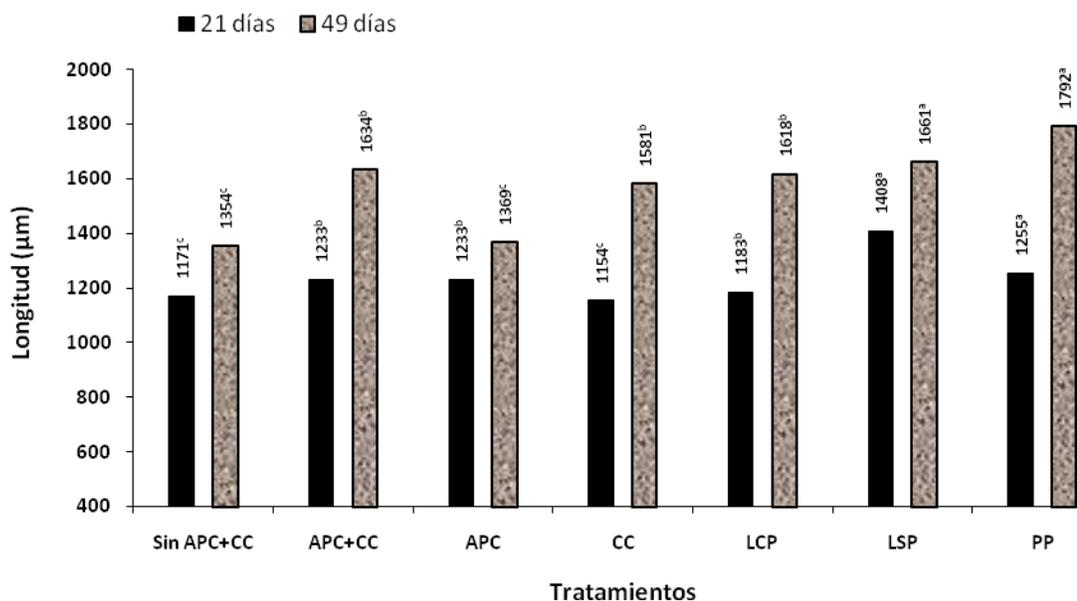
**Figura 8. Proliferación de conductos biliares (40x)**



**Figura 9. Colangitis supurativa (10x). A) Conducto biliar, B) Heterófilos**



**Figura 10. Infiltración linfoide en la lamina propia de las vellosidades intestinales (10x).**



**Figura 11. Longitud de las vellosidades intestinales de pollos de engorda a los 21 y 49 días de edad.**

- <sup>a,b,c</sup> Cifras con letra diferente, indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ )
- Las medias que presentan diferente literal indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ )
- Longitud de vellosidades: Los valores representan el promedio de las 10 vellosidades medidas en 6 pollos por tratamiento a los 21 y 49 días de edad
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
 APC+CC=Dieta convencional  
 APC= Dieta basal con antibiótico promotor de crecimiento  
 CC= Dieta basal con coccidiostato  
 LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Dieta basal con papaína pura

### **EXPERIMENTO 3. EFECTO ANTICOCCIDIAL DE LOS LIOFILIZADOS DE PAPAYA**

---

#### **Introducción**

La coccidiosis causa de pérdidas cuantiosas para la industria avícola, es causada por protozoarios intracelulares del género *Eimeria* que invaden la mucosa intestinal de las aves, por lo que limita las áreas de absorción de nutrientes (Yuno y Gogorza, 2008). Por tal motivo, la coccidiosis interfiere en el crecimiento, incrementa la mortalidad por proliferación secundaria de bacterias intestinales patógenas y por lo tanto perjudica la productividad de los pollos (Fukata y col., 1991).

El uso de algunos fármacos anticoccidiales, que a pesar de su origen antibiótico, no ha sido prohibido aún, si es controlado por la Unión Europea. El uso de fármacos anticoccidiales por periodos prolongados, ha favorecido la selección y desarrollo de poblaciones de coccidias resistentes (Saif y col., 2003). El surgimiento de cepas de *Eimerias* campo resistentes, ha estimulado la búsqueda de nuevas estrategias para su control tales como la vacunación con coccidias susceptibles a los coccidiostatos actuales (Dalloul y Lillehoj, 2005). Sin embargo, la vacunación representa varias limitantes a saber: si la replicación del protozoario vacunal no es controlada puede afectar la inmunidad y rendimiento del ave o bien no protege ante cepas de diferentes sitios geográficos (Juárez, y col., 2007). Por lo anterior, las estrategias para el control de la coccidiosis no han sido totalmente eficaces, y el uso de los anticoccidiales al igual que los APC, pudieran ser prohibidos en la UE. Por lo tanto, es necesario evaluar la eficacia de nuevos aditivos para el control de este padecimiento tales como los productos de papaya que contienen papaína y bencil-isotiocianato a los que se le ha atribuido propiedades antibacterianas y antiparasitarias (Morton, 1987; Vega, 2001; Palacios, 1997).

#### **Justificación**

Para evaluar el posible efecto anticoccidial de los liofilizados y de la papaína pura se realizó un tercer experimento en el que la exposición a coccidias fue por medio de un inoculo con las especies de *Eimeria* más comunes y de mayor importancia económica en el pollo de engorda.

### **Hipótesis**

La adición de liofilizados de cáscara y semilla de papaya en la dieta de inicio, crecimiento y finalización de pollos de engorda disminuirá la proliferación de coccidias en las aves.

### **Objetivo**

Evaluar el efecto anticoccidial de los liofilizados de cáscara y semilla de papaya, así como el de la papaína en pollos desafiados con tres especies de *Eimeria*.

Objetivos específicos:

1. Determinar la diferencia entre la cantidad de ooquistes inoculados y los excretados.
2. Evaluar el tipo y severidad de las lesiones intestinales macroscópicas y microscópicas debido a infestación por coccidias.
3. Determinar el grado de absorción del pigmento a nivel intestinal midiendo la concentración de xantofilas en suero.
4. Analizar el efecto de la infestación por coccidias sobre la ganancia de peso, consumo de alimento, índice de conversión y mortalidad de las aves.

### **Materiales y Métodos**

#### ***Animales y dietas experimentales***

El experimento se llevó a cabo en las unidades de aislamiento del Departamento de Producción Animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. 72 pollos de engorda Cobb 500 de 1 día de edad provenientes de una incubadora comercial, fueron distribuidos en 6 tratamientos con 12 aves cada uno. Durante los primeros 14 días de vida fueron alojados en batería y posteriormente en corrales de 1m<sup>2</sup> con cama de aserrín hasta el término del experimento a los 42 días de edad.

La alimentación constó de tres fases: dieta basal de iniciación de 1 a 10 días de edad; de 11 a 21 días dieta basal de crecimiento con 30 mg/kg de alimento de xantofilas amarillas saponificadas de flor de cempasúchil y de 22 a 49 días de edad dieta basal de finalización con 90 mg/kg de alimento de xantofilas amarillas (Cuadro 17). A la dieta

basal de cada etapa formuladas con base en sorgo-soya y balanceadas de acuerdo a las recomendaciones del manual para pollo de engorda (Cobb, 2008), les fueron agregados los ingredientes experimentales para formar así 6 tratamientos.

- DB= Dieta basal sin antibiótico promotor de crecimiento (APC) y sin coccidiostato (CC)
- APC+CC= Dieta basal más APC (de bacitracina zinc 0.5g/kg de alimento durante todo el experimento) y CC (de nicarbazina 0.125g/kg de alimento en las dietas de iniciación y crecimiento y de monensina sódica 0.100g/kg de alimento en finalización)
- CC= Dieta basal con CC (en los tiempos y cantidades señalados para APC+CC)
- LCP= Dieta basal más liofilizado de cáscara de papaya 5.0g/kg de alimento
- LSP= Dieta basal más liofilizado de semilla de papaya 5.0g/kg de alimento
- PP = Dieta basal más papaína pura 2.0g/kg de alimento

### ***Desafío de las aves***

Al día 14 de edad todas las aves de los 6 tratamientos fueron desafiadas individualmente por medio de una sonda esofágica con cepas vacunales<sup>\*\*</sup>. La dosis fue de 124,000 ooquistes esporulados por ave con 49% de *E. acervulina*, 19% de *E. máxima* y 32% de *E. Tenella*, suministrada por medio de sonda esofágica.

### ***Evaluación de parámetros productivos***

Fueron evaluados los mismos parámetros productivos que en el experimento 1, siguiendo la misma metodología, pero con un ciclo productivo de 42 días.

### ***Cuantificación de ooquistes***

El conteo de ooquistes se realizó mediante la técnica de MacMaster a partir de una muestra de excretas obtenidas de los 12 pollos por tratamiento, durante tres días consecutivos a partir de los días 21, 28, 35 y 42 de edad (Long y Rowell, 1958). El resultado fue reportado como el valor promedio del conteo de los tres días.

### ***Determinación de pigmento amarillo en el suero***

A partir de los 14 días de edad, cada semana hasta finalizar el experimento, se midió la concentración de pigmento amarillo en el suero de 3 aves por tratamiento. De acuerdo con lo sugerido por Allen, (1987) a 0.5 ml de suero de cada ave le fueron añadidos 4.5

---

\* ADVENT-Novus: vacuna anticoccidia elaborada con cepas de *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* sensibles a drogas anticoccidianas actuales. Lote Ax0103

ml de acetona (sin agitar), y fueron centrifugados a 3000 rpm por 3 min. A partir del sobrenadante el resultado fue leído a una absorbancia de 430nm. Cada muestra fue analizada por duplicado.

### ***Índice de la severidad de lesiones macroscópicas intestinales***

Al día 21 y 28 de edad fueron sacrificadas 3 aves de cada tratamiento por el método utilizado en el experimento 1 (SICUAE, 2008). Las lesiones macroscópicas sugestivas de coccidias de acuerdo a la escala de Johnson y Reid (1970), que asigna por especie de *Eimeria* una calificación de 0 a 4+, siendo 0= ausencia de lesiones y 4+ = lesión severa, fueron evaluadas a partir de la mucosa de duodeno, yeyuno-íleon y ciegos.

### ***Análisis histológico***

De las tres aves sacrificadas por tratamiento fueron obtenidas muestras de 1cm de intestino en tres diferentes secciones: 1) parte media del asa proximal del duodeno; 2) a un centímetro antes del divertículo de Meckel y 3) en la parte media de los ciegos. Las muestras fueron fijadas en formalina al 10% por 24 hrs, y procesadas de acuerdo a las técnicas establecidas por Lee (1968), y teñidas con hematoxilina y eosina.

### **Análisis estadístico**

Las variables productivas, fueron estudiadas por medio de un análisis de varianza para un modelo completamente aleatorizado.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon(i)j$$

En donde  $Y_{ij}$  es la j-ésima observación de la variable de respuesta del i-ésimo tratamiento;  $\mu$  es la media poblacional;  $T_i$  es el efecto del i-ésimo tratamiento y  $\epsilon(i)j$  es el error aleatorio,  $N, D(0, \sigma^2)$

Para las variables lesiones macroscópicas y microscópicas se utilizó un modelo completamente aleatorizado con un arreglo factorial, siendo los factores tratamiento, edad (21 y 49 días), lesión macroscópica duodeno, yeyuno y ciegos (1,2 y 3), tipo de lesión microscópica en duodeno, yeyuno-íleon (1,2,3 y 4) y en ciegos (1,2 y 3), y severidad de la lesión microscópica (1,2, y 3).

En caso de encontrar diferencias entre tratamientos a una  $P < 0.05$  en las variables analizadas, se realizó comparación múltiple de medias con la prueba de Student-Newman-Keuls (SNK).

Debido a que la variable cantidad de ooquistes por gramo de heces no tiene distribución normal, los datos fueron analizados por medio de un modelo no paramétrico con la prueba de Wilcoxon y Kruskal-Wallis Test.

Para la variable densidad óptica determinada en el suero, los valores fueron transformados a raíz cuadrada y posteriormente se analizaron por medio de análisis de varianza. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico procedente del SAS versión 8.0.

## **Resultados y discusión**

### ***Cuantificación de ooquistes***

En los monitoreos a los 14 días de edad no se encontraron ooquistes de *Eimeria*, por lo que las aves de todos los tratamientos permanecieron libres a la infección antes del desafío. A 7 días posdesafío, el número de ooquistes fue menor ( $P < 0.05$ ) en los tratamientos APC+CC y CC. A los 14 días posdesafío, la replicación de coccidias disminuyó drásticamente en todos los tratamientos hasta el final del experimento (Cuadro 18). Sin embargo, a pesar de esto, el número de ooquistes/g de heces a los 14, 21 y 28 días posdesafío siempre fue menor en APC+CC y CC en comparación a los otros tratamientos ( $P < 0.05$ ), por lo que el efecto del coccidiostato adicionado a la dieta de estos tratamientos fue siempre significativamente benéfico. A pesar de que la edad en la que las aves fueron desafiadas era de mayor susceptibilidad y la dosis empleada fue 120 veces mayor a la vacunal, aparentemente la patogenicidad de las cepas vacunales en el presente estudio fue menor a la mostrada en otros estudios para las cepas de campo. Laguna y col., (2009), que utilizaron un inoculo vacunal con 60,400 ooquistes esporulados por ml, observaron que la cantidad de ooquistes en el grupo sin coccidiostato disminuyó 40% a los 14 días posdesafío en forma semejante al presente estudio. En el presente estudio la mayor cantidad de ooquistes alcanzada con la dieta vacunal fue de 270,833 ooquistes/ g de heces apreciada en DB a los 7 días PD, sin embargo, Juárez, y col., (2007) en condiciones experimentales semejantes a las del presente estudio, obtuvieron una cantidad de hasta 3, 000,000 ooquistes/gr utilizando cepas de campo. Por lo tanto la replicación de las cepas de campo aparentemente es mayor a la de las cepas vacunales (Cuadro 18). Por otra parte las aves desarrollaron inmunidad y control de la infección rápidamente hacia los 14 posdesafío. Otra causa atribuible a la disminución de ooquistes excretados pudiera ser a que las aves al tener

un espacio óptimo de comedero no consumieran cama alterando el proceso de re-infección.

### ***Severidad de las lesiones intestinales macroscópicas conforme a la escala de Jonson y Reid y lesiones microscópicas.***

La infiltración linfoide y la descamación del epitelio está relacionada a la replicación de las coccidias (Figura 12 y 13) (Riddell, 1996). En el presente estudio a los 7 días posdesafío (21 días de edad) las lesiones macroscópicas y en duodeno, yeyuno-ileon y ciegos fueron semejantes en todos los tratamientos ( $P>0.05$ ) (Cuadros 19). Sin embargo, la severidad histológica del daño total solo en duodeno, fue menor en los pollos de APC+CC y CC ( $P<0.05$ ), lo cual puede atribuirse al efecto del coccidiostato incluido en la dieta de ambos tratamientos (Cuadro 20). A los 14 días posdesafío las lesiones por presencia de *Eimeria* no fueron observadas en ninguna de las secciones intestinales de los seis tratamientos, ni macro ni microscópicas lo cual coincidió con la disminución de la cantidad de ooquistes excretados y asociado a las características de las cepas vacunales señaladas anteriormente. (Cuadro 19, 20, 21 y 22). La infiltración de heterófilos en duodeno y ciegos a los 14 días posdesafío en DB, CC, LCP y PP e infiltración linfoide severa en casi todos los tratamientos denota un proceso de disbacteriosis y la ineficacia de los liofilizados de papaya como antibacteriano (Smits y col., 2000) (Cuadro 20 y 22).

### ***Determinación de xantofilas totales en el suero***

La concentración de xantofilas totales en el suero antes del desafío con coccidias vacunales, fue similar entre tratamientos ( $P>0.05$ ). A los 7 y 14 días posdesafío, la concentración mostro una tendencia a ser menor en los tratamientos sin coccidiostato DB, LCP, LSP y PP a una  $P<0.06$  (Cuadro 23; Figura 14 y 15). Aparentemente la absorción del pigmento de la dieta fue afectada negativamente en los tratamientos sin coccidiostato, teniendo relación con el mayor número de ooquistes encontrado en estos tratamientos a los 7 días posdesafío. Piraces y Cortés (1991), reportan reducción de xantofilas plasmáticas en aves inoculadas con *Eimerias* de campo. De igual manera Gabriel y col., (2003), señalan una disminución de 47% de pigmento en suero de pollos inoculados con *E. acervulina*, y del 50% en los pollos inoculados con *E. máxima*. Esta reducción es debida a la replicación de las coccidias que necrosa los enterocitos que son remplazados por células epiteliales inmaduras con menor capacidad de absorción (Tejeda, 2002).

### ***Variables productivas***

A pesar de que los tratamientos APC+CC y CC mostraron una infestación menor de coccidias en comparación a los otros grupos ( $P < 0.05$ ), no se observaron diferencias significativas en cuanto a parámetros productivos ( $P > 0.05$ ) pero la ganancia de peso fue menor a la señalada en el estándar de la estirpe Cobb 500 (Cuadro 24). Por lo que el daño causado en la mucosa intestinal por la replicación de las coccidias, pudo ocasionar absorción deficiente de nutrientes, afectando la ganancia de peso en los pollos de todos los tratamientos. Gabriel y col., (2003) así como Juárez y col., (2007) observaron que la disminución de la GDP de pollos desafiados con coccidias está relacionada con el número de ooquistes inoculados.

### **Conclusiones**

1. Los liofilizados de papaya y papaína pura no mostraron efecto anticoccidial, ya que no disminuyeron significativamente la replicación de coccidias en los tratamientos en los que fueron incluidos.
2. El daño de lesión microscópico en duodeno a causa de la infestación por coccidia y la cantidad de ooquistes excretados fue menor en APC+CC y CC en comparación a los grupos experimentales, por lo que el efecto del coccidiostato no es reemplazable por los liofilizados de papaya.
3. Los APC no son sustituibles por los liofilizados de papaya y PP ya que no impidieron el desarrollo de disbacteriosis manifiesta por infiltración de heterófilos.
4. La infestación por coccidia interfirió en la absorción de pigmento en los tratamientos con liofilizados de papaya y con dieta basal.
5. Los liofilizados de papaya no beneficiaron la ganancia de peso ante el desafío con coccidias vacunales.
6. De igual manera, la inclusión de coccidiostato no mejoró los parámetros productivos en APC+CC y CC ya que no se apreció diferencia significativa con los otros tratamientos.

**Cuadro 17. Composición de dietas basales para pollos de engorda de 1 a 49 días de edad (%).**

Ingrediente	Dietas basales (%)		
	Inicio	Crecimiento	Finalización
Sorgo 9%	60.33	64.46	64.90
Pasta de soya 48%	32.69	27.71	25.52
Aceite vegetal	2.350	3.267	4.764
Fosfato de calcio	1.871	1.801	1.674
Carbonato de calcio	1.544	1.493	1.405
Sal	0.487	0.410	0.385
Premezcla vitaminas *	0.135	0.135	0.135
DL-Metionina 98	0.262	0.349	0.272
L-Lisina	0.134	0.178	0.200
Premezcla mineral *	0.084	0.083	0.083
Cloruro de Colina 60	0.100	0.100	0.100
Antioxidante	0.015	0.015	0.015
Pigmento amarillo vegetal	-	-	0.533
L-Treonina	-	-	0.008
<b>Nutriente</b>		<b>Análisis calculado</b>	
EM Kcal/kg	2,930	3,013	3,100
(%)			
Proteína	21.20	19.2	18.8
Lisina	1.17	1.07	1.05
Metionina	0.57	0.63	0.50
Metionina + cisteína	0.85	0.88	0.82
Triptófano	0.27	0.25	0.25
Treonina	0.79	0.71	0.74
Fosforo disponible	0.5	0.48	0.45
Calcio	0.99	0.96	0.90
Sodio	0.2	0.17	0.18

\*Premezcla vitamínica y mineral por kg: Vitamina A 3 000 000 UI, D3 750 000 UI, E 6 000 UI, K 1.0 g, Tiamina 1.25 g, Riboflavina 4 g, Piridoxina 3.0 g, B12 0.060 g, Niacina 25 g, g), Biotina 0.063g, Hierro 100g, Zinc 50 g, Manganeso 100 g, Cobre 10 g, Selenio 0.2g, Iodo 0.3 g y Cobalto 0.1 g.

**Cuadro 18. Cantidad de ooquistes en excretas de pollos de engorda a los 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad.**

Edad (días)	Tratamientos					
	DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
14	0	0	0	0	0	0
21	270833±25818 <sup>a</sup>	19450±8531 <sup>b</sup>	8283±3652 <sup>b</sup>	178667±38198 <sup>a</sup>	160833±18556 <sup>a</sup>	92500±13314 <sup>a</sup>
28	850±93 <sup>a</sup>	150±132 <sup>b</sup>	200±782 <sup>b</sup>	1000±58 <sup>a</sup>	1250±187 <sup>a</sup>	2300±67 <sup>a</sup>
35	3550±425 <sup>a</sup>	125±144 <sup>b</sup>	25±29 <sup>b</sup>	5700±839 <sup>a</sup>	1950±208 <sup>a</sup>	450±265 <sup>a</sup>
42	5650±874 <sup>a</sup>	25±29 <sup>b</sup>	0±0 <sup>b</sup>	2125±132 <sup>a</sup>	1850±513 <sup>a</sup>	1075±275 <sup>a</sup>

- <sup>a,b,c</sup> Las literales diferentes en cada fila indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05).
- Todas las cantidades son promedio de tres días de muestreo por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
 APC+CC=Dieta convencional  
 CC= Dieta basal con coccidiostato  
 LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Dieta basal con papaína pura

**Cuadro 19. Severidad de las lesiones macroscópicas conforme a la escala Johnson y Reid en intestino de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad**

	Edad	Tratamientos					
		DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
Duodeno	21	1	1	1.3	1	1	1.7
	28	0	0.3	0	0.3	0	0
Yeyuno-ileon	21	0.7	0.3	0	0.7	0.7	0.3
	28	0	0.3	0	0.3	0	0
Ciegos	21	1	0.3	1	0	0.3	1
	28	0	1	1	1	1	1

- La escala de severidad de las lesiones entre 0 y 4+ conforme a Johnson and Reid (1970), el 1+ representa el grado de menor severidad y 4+ el grado de mayor severidad.
- Cada valor es un promedio de la severidad de las lesiones de tres muestras por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No hubo diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0,05$ ).

**Cuadro 20. Lesiones microscópicas en duodeno de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos					
		DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
Infiltración linfoide	21	1.3	1.0	1.3	2.7	1.7	2.0
	28	2.7	1.7	1.0	2.7	3.0	2.7
Infiltración heterofilica	21	0.0	0.0	0.3	0.7	0.0	0.7
	28	1.0	0.0	2.0	1.7	1.0	0.7
Cantidad de nidos coccidias	21	2.3	0.3	0.7	2.0	1.3	3.0
	28	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
Descamación del epitelio	21	1.3	0.3	0.3	2.3	2.3	0.7
	28	0.3	1.3	0.3	1.6	1.6	1.6
<b>DAÑO TOTAL</b>	21	<b>1.7<sup>a</sup></b>	<b>0.8<sup>b</sup></b>	<b>0.8<sup>b</sup></b>	<b>1.9<sup>a</sup></b>	<b>1.1<sup>a</sup></b>	<b>1.3<sup>a</sup></b>
	28	<b>1.5<sup>a</sup></b>	<b>1.0<sup>b</sup></b>	<b>0.8<sup>b</sup></b>	<b>1.7<sup>a</sup></b>	<b>1.6<sup>a</sup></b>	<b>1.8<sup>a</sup></b>

- <sup>a,b,c</sup> Las literales diferentes en cada fila indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05).
- Los valores representan el promedio de la severidad de la lesión presente en las tres muestras evaluadas por tratamiento.
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y 0= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en duodeno
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas por lesión entre tratamientos (P>0,05).

**Cuadro 21. Lesiones microscópicas en yeyuno-ileon de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos					
		DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
Hiperplasia del epitelio	21	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
	28	0.3	1.7	0.0	1.3	0.3	0.3
Infiltración linfoide	21	0.7	0.0	0.7	0.7	0.7	0.7
	28	1.7	1.0	1.0	1.7	1.3	1.0
Infiltración heterofilica	21	0.7	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0
	28	1.0	0.3	0.3	1.0	0.0	0.0
Cantidad de nidos coccidias	21	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	28	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>DAÑO TOTAL</b>	21	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.3</b>	<b>0.8</b>
	28	<b>1.1</b>	<b>0.9</b>	<b>0.6</b>	<b>1.3</b>	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>

- Los valores representan el promedio de la severidad de la lesión presente en tres muestras por tratamiento.
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y 0= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en intestino medio
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 22. Lesiones microscópicas en ciegos de pollos de engorda a los 21 y 28 días de edad.**

Lesiones	Edad	Tratamientos					
		DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
Infiltración linfoide	<b>21</b>	1.3	1.0	0.3	1.7	1.0	1.3
	<b>28</b>	2.7	2.0	2.3	2.0	2.0	2.0
Infiltración heterofilica	<b>21</b>	0.0	0.3	0.3	0.3	0.0	0.0
	<b>28</b>	1.0	1.3	0.3	0.7	2.0	1.0
Cantidad de nidos coccidias	<b>21</b>	2.3	0.0	0.0	0.3	0.0	2.0
	<b>28</b>	1.7	0.0	0.0	2.0	3.0	2.0
<b>DAÑO TOTAL</b>	<b>21</b>	<b>1.7</b>	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>	<b>0.9</b>	<b>0.8</b>	<b>2.1</b>
	<b>28</b>	<b>1.8</b>	<b>1.5</b>	<b>0.9</b>	<b>1.9</b>	<b>2.3</b>	<b>1.8</b>

- Los valores representan el promedio de la severidad de la lesión presente en tres muestras por tratamiento.
- Severidad de la lesión microscópica, en donde 3= Severo, 2=Moderado, 1=Leve y 0= Normal.
- Daño total: representa el promedio de las lesiones presentes en ciegos
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).

**Cuadro 23. Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 14, 21, 28, 35 y 42 días de edad.**

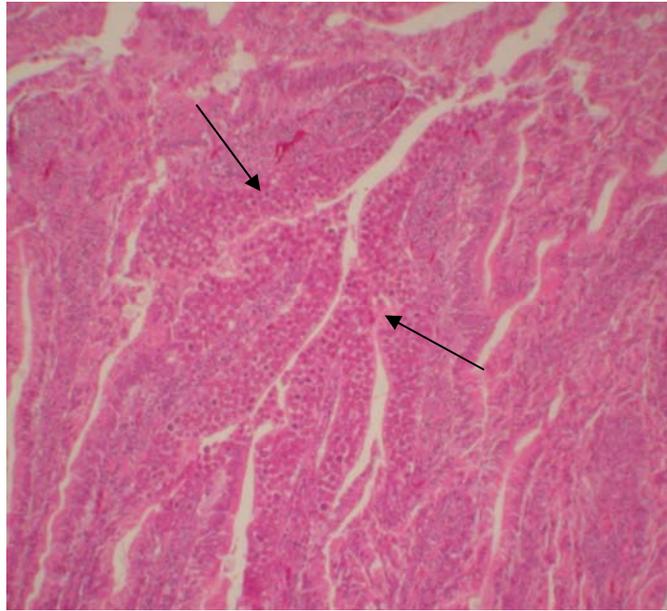
Edad (días)	Tratamientos					
	DB	APC + CC	CC	LCP	LSP	PP
14	0.12±0.02	0.19±0.09	0.17±0.03	0.16±0.02	0.27±0.11	0.23±0.07
21	0.17±0.09	0.30±0.00	0.28±0.09	0.16±0.04	0.16±0.06	0.15±0.03
28	0.14±0.03	0.23±0.09	0.23±0.09	0.10±0.02	0.09±0.01	0.12±0.04
35	0.23±0.04	0.25±0.07	0.26±0.05	0.24±0.02	0.27±0.15	0.18±0.04
42	0.18±0.01	0.23±0.08	0.29±0.02	0.20±0.08	0.23±0.02	0.16±0.03

- Los valores representan el promedio de la densidad óptica de tres muestras de suero por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias estadísticas a una  $P>0.05$
- La diferencia estadística s encontró a  $P>0.06$

**Cuadro 24. Parámetros productivos a los 42 días de edad de los pollos de engorda**

Tratamientos	Parámetros productivos				
	Peso corporal (g)		CA (g)	IC	Mortalidad (%)
	Final	Ganancia			
DB	2310±106	2265±106	4146	1.83	0
APC + CC	2235±342	2190±341	3820	1.74	8.3
CC	2004±199	1960±200	3748	1.91	8.3
LCP	2246±262	2202±258	3977	1.81	8.3
LSP	2298±215	2253±211	4187	1.86	0
PP	2056 ± 196	2012 ± 196	3980	1.98	8.3

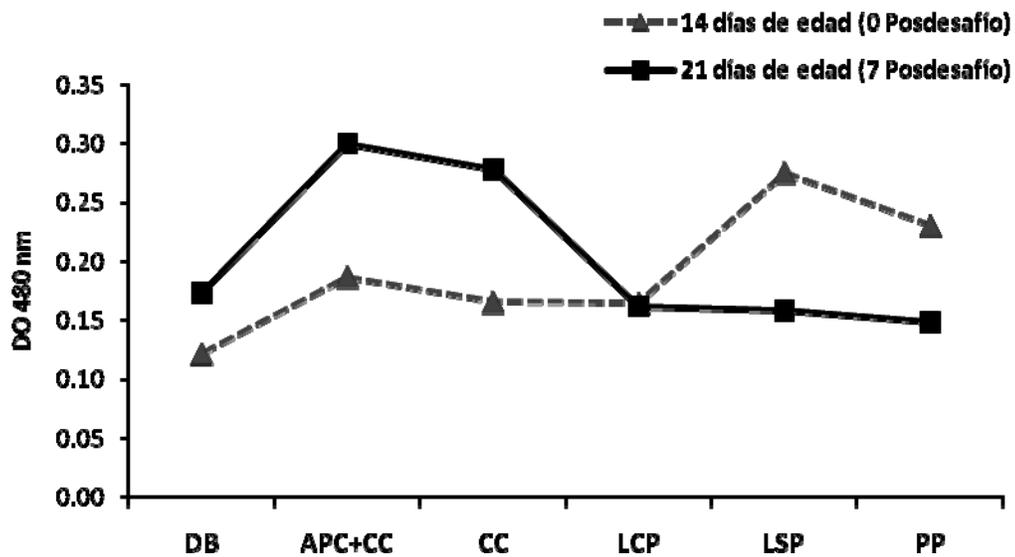
- Los valores representan el promedio de los 12 pollos por tratamiento.
- Ganancia de peso corporal: ganancia promedio por ave a los 42 días menos el promedio del peso corporal al día de edad
- Índice de conversión: relación de consumo de alimento promedio por pollo entre promedio de ganancia de peso corporal por pollo al cabo de 42 días
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
APC+CC=Dieta convencional  
CC= Dieta basal con coccidiostato  
LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
PP= Dieta basal con papaína pura
- No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P>0,05$ ).



**Figura 12. Nidos de coccidias en mucosa de duodeno a los 21 días de edad de los pollos de engorda (10x).**



**Figura 13. Descamación de la mucosa intestinal de duodeno asociada a infiltración linfoide severa a los 21 días de edad de los pollos de engorda (10x). A) Descamación, B) Linfocitos.**



**Figura 14. Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 14 y 21 días de edad.**

- Los valores representan el promedio de la densidad óptica de 3 muestras de suero por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
 APC+CC=Dieta convencional  
 CC= Dieta basal con coccidiostato  
 LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Dieta basal con papaína pura

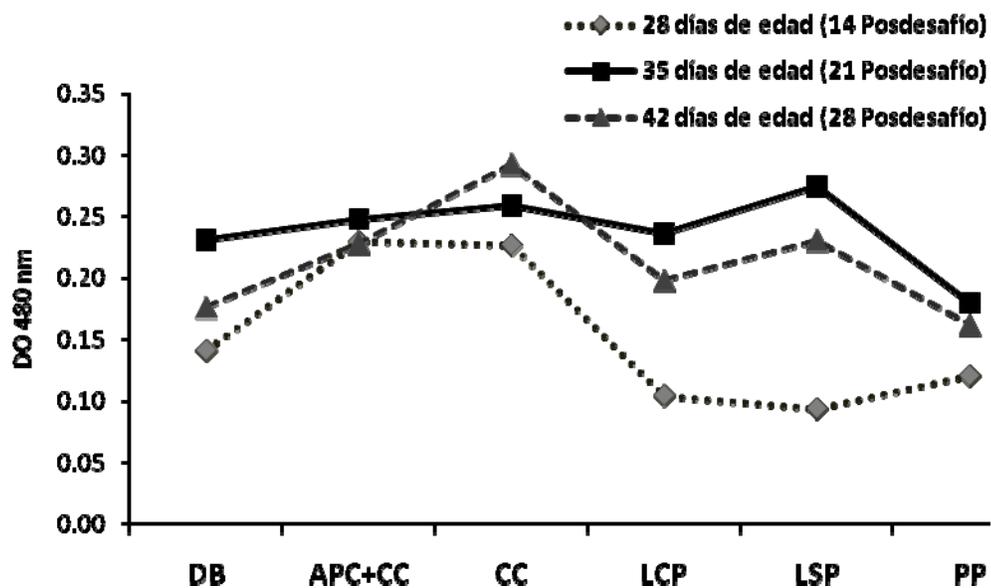


Figura 15. Densidad óptica del suero de pollos de engorda a los 28, 35 y 42 días de edad.

- Los valores representan el promedio de la densidad óptica de 3 muestras de suero por tratamiento.
- DB= Dieta sin antibiótico promotor de crecimiento y sin coccidiostato  
 APC+CC=Dieta convencional  
 CC= Dieta basal con coccidiostato  
 LCP= Dieta basal con liofilizado de cáscara de papaya  
 LSP= Dieta basal con liofilizado de semilla de papaya  
 PP= Dieta basal con papaína pura

## CONCLUSIONES GENERALES

1. En los tres experimentos se determinó que la inclusión de los liofilizados de cáscara y semilla de papaya a razón de 5.0g/kg de alimento en la dieta, no produjo efectos tóxicos en los pollos de engorda ya que no se apreció degeneración hepática ni renal y las aves no manifestaron cuadros clínicos de diarrea por enteritis.
2. La menor ganancia de peso en los pollos que consumieron papaína solo se apreció en los experimentos 1 y 3, pero no en el segundo, por lo que no es posible asegurar el posible efecto anti-nutricional de la papaína.
3. En el experimento 2 y 3 los pollos sin APC, desarrollaron posiblemente un proceso de disbacteriosis con base en la hepatitis heterofílica periportal y la enteritis supurativa observadas principalmente en los tratamientos DB, LCP, LSP y PP, por lo que los liofilizados de papaya y la papaína pura aparentemente no tienen efecto antibacteriano y por lo tanto no son útiles para sustituir a los APC.
4. La inclusión de los liofilizados de papaya no mostró beneficio en cuanto al rendimiento productivo de los pollos de engorda en ninguno de los tres experimentos ya que, resultaron semejantes al de la dieta convencional APC+CC y al del tratamiento control solo con dieta basal (DB).
5. Los liofilizados de papaya y papaína pura no expresaron efecto anticoccidial ya que, no disminuyeron significativamente la replicación de coccidias, en comparación a los tratamientos APC+CC y CC.
6. Con base en el presente estudio se concluye que los liofilizados de papaya a razón de 5g / kg de alimento no son aprovechables en avicultura sin embargo, esta fruta se sigue considerando como una de las fuentes medicinales de origen natural más utilizadas en humanos.

## LITERATURA CITADA

1. Acosta G. A. 2002. Alcaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. Medellin. pp. 33-35.
2. Adebiyi A. G., Adaikan P. y Prasad R. N. 2003. Tocolytic and toxic activity of papaya seed extract on isolated rat uterus. *Life Sci.* 74 (5) 581-92.
3. Allen C. P. 1987. Physiological Responses of chichen tissue to coccidial infection:Comparativa effects of *Eimeria acervulina* and *Eimeria mitis* on Mucosal Mass, carotenoid Content and brush border enzyme activity. *Poultry Sci.* 66:1306-1315.
4. Arce M. J., Ávila G. E. y López C. C. 2008. Comportamiento productivo y cambios morfológicos en vellosidades intestinales del pollo de engorda a 21 días de edad con el uso de paredes celulares del *Saccharomyces cerevisiae*. *Veterinaria México.* 39: 223-228.
5. Arce M. J., Vázquez P. C., López C. C. y Ávila G. E. 1990. Xantofilas en dietas para pollos de engorda. *Sint. Avic.* 6:16-18
6. Arellano C. J. 1999. Estudio desnaturalización de la quimopapaína por medio de fluorescencia. Tesis licenciatura. UAMI. México D.F.
7. Augstburger, F., Berger J. y Censkows K. 2000. Papaya. Agricultura orgánica. Asociación Naturland. 1ed.
8. Barquero A. A. 2007. Plantas sanadoras: pasado, presente y futuro. *Química viva* N° 2. Buenos aires.
9. Benítez R. 2008. Hidrolizados de papaína procesos y aplicaciones. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.* 42(2)227-236
10. Bernard D., Méhul B. y Thomas. 2003. An alysis of proteins with caseinolytic activity in a human stratum corneum extract revealed a yet unidentified cysteine protease and identified the so-called "stratum corneum thiol protease"as cathepsin L2. *J. Invest. Dermatol., Baltimore,* 120(4): 592-600.
11. Bertoluzzo M., Bertoluzzo S. y Rigatuso R. 2000. Reparto de proteínas vegetales en sistemas bifásicos acuosos. ISSN (en línea) 1850-1158.
12. Butcher G. D. y Miles R. D. 2009. Factors causing poor pigmentation of brown-shelledeggs. University of Florida. IFAS.
13. Carretero A. M. 2000. Compuestos nitrogenados. *Panorama Actual Med;* 24 (231): 223-226.
14. Castañeda M. P., Hirschler E. M. y Sams A. R. 2005. Skin Pigmentation evaluation in broiler fed natural and synthetic pigments. *Poult. Sci.* 84:143-147
15. Castillo R. J. 1968. Observaciones clínicas sobre la influencia de la papaína en el tratamiento de condiciones inflamatorias de origen traumático en equinos. Tesis de licenciatura. UNAM. México D.F

16. Chen T. C., Omar S., Schultz D., Dilworth B. C. y Day E. J. 1987. Processing, parts and deboning yields of four ages of broilers. *Poultry Sci.* 66:1334-1349.
17. Cobb 500. 2008. Suplemento Informativo de rendimiento y nutrición del Pollo de Engorde.
18. Dalloul R. A., Lillehoj H. S., Shellem T. A. y Doerr J. A. 2003. Enhanced mucosal immunity against *Eimeria acervulina* in broilers fed a *Lactobacillus*-based probiotic. *Poult. Sci.* 82:62–66.
19. Dalloul R. A. y Lillehoj H. S. 2005. Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. *Avian Dis.* 49:1-8
20. Denli M. y Perez J.F. 2006. Contaminación por micotoxinas en los piensos: Efectos, tratamiento y prevención. XXII Curso de Especialización FEDNA. Barcelona 1- 17.
21. Dibner J. J., Kitchell M. L., Atwell C. A. y Ivey F. J. 1996. The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of the gastrointestinal tract in poultry. *J Applied Poultry Res.* 5:70-77.
22. Domingo S. N. 2002. Cultivo de la Lechosa. 2ed. N° 14. Fundación de Desarrollo Agropecuario. Republica Dominicana. pp 1-6
23. Drago S., López L. y Sainz E. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.* 37(004): 58-68
24. Dussan G. L. 1992. La pigmentación, trabajo de equipo. Memorias de la III Jornada Médico Avícola; México D. F. FMVZ. UNAM.
25. Egaña J. I. y Morales M. S. 1997. Efecto del peletizado y ensilaje de las camas de broilers sobre su valor nutritivo para rumiantes. *Archivo de de zootecnia* 46 (174):159-167.
26. Eliecer C. J. 2002. Producción y aplicación de enzimas industriales production and application of on industrial enzymes. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca, Popayán.
27. Emeruwa A. C. 1982. Anti bacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. *J. Nat. Prod.* 45(2):123-127.
28. Fein H., Maytin E. y Mutasim D. 2005. Topical protease therapy as a novel method of epidermal ablation: Preliminary report. *Dermatol. Surg.*, New York. 31(2): 139-148.
29. Ferket P. R., Parks C. W. y Grimes J. L. 2007. Oligosacáridos mananos versus antibióticos para pavos. Departamento de Ciencia Aviar, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA
30. Fernández S. 2001. Pigmentación en avicultura. Memorias de producción avícola en nutrición y alimentación avícola. UNAM. FMVZ. México D. F. 150-174.
31. Ferreira A. M. 2005. Revisão de estudos clínicos de enfermagem: utilização de papaína para o tratamento de feridas. *Rev. enferm.* 13(3):382-389.

32. Fletcher D. L. 2006. Method for estimating the relative degree of saponification of xanthophyll sources and feedstuffs. *Poult Sci.* 85:866–869.
33. Fletcher D. L. y Cason J. A. 1991. Comparison of two methods for determining broiler processing yield. *Poultry Sci.* 1010-1014.
34. Flores V. D. 1994. Evaluación del efecto antihelmíntico de la semilla de papaya deshidratada sobre *Spirocamallanus sp.* En Tilapia. Tesis de licenciatura. UNAM. México D.F
35. Fonnegra R. y Jiménez S. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Universidad de Antioquia. 2ed. Pp 202-204
36. Food and Drug Administration (FDA). 2008. Questions and Answers about FDA's Enforcement Action Regarding Unapproved Topical Drug Products Containing Papain. September 22.
37. Froyman R. y Hales G. B. 1984. Nicarbazin toxicity in broilers. *Veterinary Record.* 8:254-255
38. Fukata T., Hadate Y., Baba E. y Arakawa A. 1991. Influence of bacteria on *Clostridium perfringens* infections in young chickens. *Avian Dis.* 35:224–227.
39. Gabriel I., Mallet S., Leconte M., Fort G. y Naciri M. 2003. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens. *Poult. Sci.* 82:1668-1676.
40. Gentry R., Turski A. y Strother M. 1985. Chymopapain Chemonucleolysis: CT Changes after Treatment. American Roentgen Ray Society. Pp 361-370.
41. Gil J. L. 2009. Efecto de la reducción de proteína en dietas para pollos de engorda sobre el comportamiento productivo y calidad de la canal. Tesis de maestría. UNAM-FMVZ.
42. Hall B. y McCulloch J. 1983. Anaphylactic reactions following the intradiscal injection of chymopapain under local anesthesia. *J Bone Joint Surg Am.* 1983;65:1215-1219.
43. Hernández S. 2001. El descubrimiento de América y la medicina Europea. Universidad Autónoma de Guadalajara. Disponible en URL: <http://www.uag.mx/item/no4/america.htm>
44. Huffman L., Palmer Z. y Carpenter J. 1967. Effect of antemortem injection of sodium chloride, papain and papain derivatives on the tenderness of beef. *J. Anim. Sci.* 26:285-289.
45. Juárez E. M., Nava M. M. y Merino G. R. 2007. Efecto de una vacuna anticoccidial sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos de pollos de engorda. *Veterinaria México.* 38(003): 303-318.
46. Johnson J. y Reid W. M. 1970. Anticoccidial drugs; Lesion scoring techniques in battery and floorpen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.* 28:30-36
47. Kamphuis J. Drenth y Baker E. 1985. Thiol proteases. *J. Mol. Biol.* (182):317–329

48. Keshavarz K. y McDougald L. R. 1981. Influence of anticoccidial Drugs on Losses of Broiler Chickens from Heat Stress and Coccidiosis. *Poult Sci.* 60:2423-2428.
49. Laguna T. L., Hernández V. X., Fuente M. B. y Ávila G. E. 2009. Efecto del uso permanente de un programa anticoccidial en los parámetros productivos de pollo de engorda desafiados con *Eimeria* spp. Segunda reunión anual de la AECACEM. Juriquilla, Querétaro. Pp. 120-124.
50. Lee G. L. 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces of pathology era ed. Ed. Mc Graw-Hill..
51. Long P. L. y Rowell J. G. 1958. Counting oocysts of chicken coccidia. *Lab Pract.* 7:515-51.
52. López A. L. 2000. Estudios cinéticos de la desnaturalización térmica de la caricaina. Tesis de licenciatura. UAMI. México D.F.
53. Lorenzi H. 2002. Plantas medicinales Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
54. Martí E. 2006. Propiedades curativas de las papayas (*Chaenomeles lagenaria* - *Carica Papaya*). AACICAT- Associacio d'Afectats de Colon Irritable de Catalunya. [revista línea] Disponible en URL: <http://www.diarioeltiempo.com.ve/>
55. Martínez P. M, Cortez C. A. y Avila G. E. 2004. Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. *Téc Pecu Méx.* 42(1)105-111.
56. McDougald L. R. y McQuiston T. E. 1980. Mortality from heat stress in broiler chickens influenced by anticoccidial drugs. *Poult. Sci.* 59:2421-2423
57. McMurry J. 2003. Química organica. Ed. Thomson. 6ta ed. Pp. 1012.
58. Merida C. A. 2008. Efecto de los manano-oligosacaridos en pollos de engorda. Tesis de maestría UNAM FMVZ México DF.
59. Morales. L. R. 2007. Las paredes celulares de levadura *Saccharomyces cerevisiae*: un aditivo natural capaz de mejorar la productividad y salud del pollo de engorde. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
60. Morton J. 1987. Papaya (*Carica Papaya* L). In: Fruits of warm climates. p. 336–346
61. Murat N., Bahattin K. y Sermin O. 2007. Quantification of papain-induced rat osteoarthritis in relation to time with the Mankin score. *Acta. Orthop. Traumatol. Turc.* 41(3):233-237.
62. Niklas K. J y Marler T. E. 2007. *Carica papaya* (Caricaceae): A case study into the effects of domestication on plant vegetative growth and reproduction. *American Journal of Botany* 94(6): 999–1002.
63. Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995. 2006. Campaña Nacional contra Influenza Aviar. Diario Oficial SAGARPA. Pp 55-116.

64. Oegema R., Swedenberg L. y Madison M. 1992. Intervertebral discs in dogs Residual chymopapain activity after chemonucleolysis in normal. *J Bone Joint Surg Am.* 74:831-838.
65. Ortiz H. A. 2005. Evaluación de paredes celulares (*Saccharomyces cerevisiae*) y enzimas como promotores del crecimiento y de la salud intestinal en dietas para pollos de engorda. Tesis de maestría. UNAM-FMVZ.
66. Otuka E., Pedrazzani E. y Pioto M. 1996. The use of papain in plantar ulcers. *Rev Bras Enferm.* 49 (2): 207-14
67. Palacios J. W. 1997. Plantas medicinales nativas del Perú. 2a ed. CONCYTEC. Lima Perú. Pp. 206-10.
68. Patil S. y Tang CH-CH. 1974. Inhibition of Ethylene Evolution in Papaya Pulp Tissue by Benzyl Isothiocyanate. *Plant Physiol.* 53: 585-588.
69. Pereira I. 2007. Frutas, um doce remédio. *Revista Viva Saúde* Disponible en URL: <http://revistavivasauade.uol.com.br/edicoes/55/artigo65783-1.asp?o=r>. Acceso em: 15/09/2008.
70. Pinto C., Green D. y Baby A. 2007. Determination of papain activity in topical dosage forms: single laboratory validation assay. *Lat. Am. J. Pharm., Buenos Aires,* 26(5): 771-775.
71. Piracés S. F. y Cortes C. R. 1991. Factores que afectan la pigmentación de pollos de carne. X ciclo de conferencias Internacionales sobre avicultura. AMENA. Pp 103-127.
72. Puig A. y Sánchez O. 2006. Evaluation of drying techniques measuring proteolytic activity of Papain obtained from unripe fruit and skin juice. Bogota. Colombia. Universidad de los Andes.
73. Quintana J. A. 1999. Avitecnia: Manejo de las aves domésticas más comunes. 3ed. Trillas S.A. de C.V. México.
74. Riddell C. 1996. Avian Histopathology. Second edition. Published by American Association of Avian Pathologists, Inc. Saskatchewan Canada. Printed by Rose Printing Tallahassee, Florida.
75. Rodríguez A. D. 2009. Efecto de la inclusion ajustada de las enzimas  $\alpha$ -Galactosidasa,  $\beta$ -Glucanasa y Xilanasa en dietas multigranos sobre los parámetros productivos y la morfología intestinal de pollos de engorda. Tesis de maestría. UNAM-FMVZ.
76. Saif Y. M., Barnes H. J., Glisson J. R y Fadly A.M. 2003. Diseases of Poultry. 11 ed. Iowa State Press.
77. Sankalia G., Mashru C. y Sankalia M. 2005. Papain Entrapment in Alginate Beads for Stability Improvement and Site-Specific Delivery: Physicochemical Characterization and Factorial Optimization Using Neural Network Modeling. *PharmSciTech.* 6(2): E209-E222.

78. Santin E., Maiorka A., Macari M., Greco M., *et al.* 2001. Performance and intestinal mucosa development broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *J. Appl. Poult. Res.* 10: 236-244.
79. Santomá G., Pérez A. P. y Gutiérrez A. A. 2007. Producción de Broilers sin Antibióticos promotores de crecimiento. *Conocimientos actuales.*
80. SAS Institute. 1999. SAS System for Windows Release 8.01. SAS Institute Inc., Cary, NC.
81. Sgarbieri V. C. y Pacheco M. T. 1999. Revisão: alimentos funcionais fisiológicos. *Braz. J. Food Technol.* 2(1):7-19.
82. Sims M. D., Dawson K. A., Newman K. E., Spring P., y Hooge D. M. 2004. Effects of mannanoligosaccharide, bacitracina methylene disalicylate, or both on live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poult. Sci.* 83:1148–1154.
83. Smalling B., Kemp D. y Fox D. 1971. Effect of antemortem injection of papain on the tenderness and quality of dry-cured hams. *J. Anim. Sci.* 32(6):1107-1112.
84. Smits H.M., Soto-Salanova M., Flores A. y ter Huurne A.A.H.M. 2000. Modulación a través de la dieta de confort intestinal de los pollitos. XV Curso de Especialización. *Avances en nutrición y alimentación animal.*
85. Subcomité Institucional para el Cuidado de Animales en Experimentación (SICUAE). 2008. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. Disponible en URL: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/cicuae.html>.
86. Sun X., McElroy A., Webb K.E., *et al.* 2005. Broiler Performance and Intestinal alteration when fed drug-free diets. *Poult. Sci.* 84:1294-1302
87. Swayne C. D, Glsson J. R, Jackwood M. W, Pearson J. E. y Reed W. M. 1998. A laboratory Manual for the isolation and identification of Avian Pathogens 4ta de. de. The American Association of Avian Pathologists.
88. Tejeda G. R. 2002. Efecto del Toltrazuril en la absorción de pigmento, el número de ooquistes de *Eimeria* spp. en las heces y lesiones entéricas de pollos de engorda vacunados contra *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mivati* y *E. tenella*. Tesis Licenciatura FMVZ – UNAM. México D.F.
89. Tejeda H. I. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. *Sintema de Producción Continua en producción Animal.* A. C.
90. The Merck Index Chemical. 2000. *Drugs and Biologics.* 12ª ed Nº 7148, pp. 1205
91. Torres C. y Zarazaga M. 2002. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. Departamento de Agricultura y Alimentación Universidad de La Rioja. Logroño. *Gac Sanit.* 16(2).
92. Torres O. L. y Tapia M. E. 2002. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. 1a ed. Universidad de Barcelona. pp 50-54.

93. Udod V., Storozhuk V. y Trofimenko S. 1983. Effect of the proteolytic enzyme papain on the body organs and systems of experimental animals. *Farmakol Toksikol.* 46(2):95-8
94. Valdivia A. G., Quezada T. T., Ortiz M. R y Martinez A. A. 2001. Implicaciones de la contaminación de alimentos por aflatoxinas. *Investigación y Ciencia.* Pp. 2-10. URL: <http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista23/Articulo%201.pdf>
95. Valle M. L. 1997. Estudios espectroscópicos sobre la enzima papaína. Tesis de licenciatura. UAMI. México D.F.
96. Vega M. 2001. Etnobotánica de la Amazona peruana. Ed. Abya Yala. Pp 72-74
97. Vicente S. J. 2000. Aspectos básicos sobre la pigmentación en la industria avícola. Diplomado en producción avícola. UNAM. FMVZ. México D. F. 94-98.
98. Walton J. R. 1996. Benefits of antibiotics in animal feed. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 19-46.
99. Watson D., Yaguchi M. y Lynn K. 1990. The amino acid sequence of chymopapain from *Carica papaya*. *Biochem J.* 266(1):75-81
100. Yuño M. M. y Gogorza L. M. 2008. Coccidiosis aviar: respuesta inmune y mecanismos de control en la industria avícola. *Rev. Vet.* 19(1): 61-66.
101. Zucker S., Buttle D. y Nicklin M. 1985 The proteolytic activities of chymopapain, papain and papaya proteinase III. *Biochim. Biophys. Acta.* 828(2):196-204.