



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CONSUMO DE ALIMENTO INOCULADO CON FUMONISINAS B₁ Y B₂ SOBRE LAS VARIABLES PRODUCTIVAS, ALTERACIONES MORFOLÓGICAS Y CAMBIOS BIOQUÍMICOS EN EL SUERO DE POLLOS DE ENGORDA INFECTADOS CON *Eimeria spp.*”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

ITZEL CRISTINA BAUTISTA BORJAS

ASESOR:

Dr. JUAN CARLOS DEL RÍO GARCÍA

COASESORES:

M. en C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT

Dr. GUILLERMO VALDIVIA ANDA



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

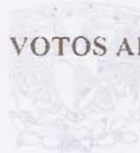
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN:L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

"Evaluación del efecto del consumo de alimento inoculado con fumonisinas B1 y B2 sobre las variables productivas, alteraciones morfológicas y cambios bioquímicos en el suero de pollos de engorda infectados con Eimeria spp"

Que presenta la pasante Itzel Cristina Bautista Borjas

Con número de cuenta: 301139513 para obtener el título de:
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 7 de diciembre de 2010

PRESIDENTE Dr. José Juan F. Ortega Sánchez De Tagle

VOCAL Dr. Juan Carlos Del Río García

SECRETARIO MC. María Del Carmen Barrón García

1er SUPLENTE MVZ. María De Lourdes Jara Ramírez

2º SUPLENTE MC. Celso López López

AGRADECIMIENTOS Y APOYOS OTORGADOS.

Este trabajo fue financiado por los proyectos:

**Programa de Apoyo a Proyectos para el Mejoramiento de la Enseñanza PAPIME
PE200707**

PROCEDIMIENTO EDUCATIVO DE INTEGRACIÓN DE LA MEDICINA EN
PEQUEÑAS ESPECIES Y FAUNA SILVESTRE

**Programas de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica
(PAPIIT) UNAM No. IN216005 Efectos sobre el sistema inmune de cepas de
Escherichia coli Enterohemorrágica**

**Programa de Apoyo para Cátedras de Investigación, Vinculación y Educación
(PACIVE) Mecanismos de Patogenicidad Microbianos CONS 210 Responsable
2008-2009**

**BECARIA DEL PROYECTO Programas de Apoyo a Proyectos de Investigación e
Innovación Tecnológica (PAPIIT) UNAM No. IN216005 Efectos sobre el sistema
inmune de cepas de *Escherichia coli* Enterohemorrágica**

El trabajo fue realizado con el equipo e instalaciones de:
Laboratorio de Patogenicidad Microbiana (L-3) de la Unidad Multidisciplinaria de
Investigación en Salud Animal, Edificio de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación
de la FESC campo IV.

Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario DIVET®

Dedicatorias

A mi *alma mater*, UNAM

Porque hace 10 años abrió sus alas para cobijarme y de esta manera me ayudó a moldearme como futura profesionista y ser humano.

A mis padres

Por confiar en mí y apoyarme a lo largo de 25 años. Simplemente me faltaría vida y palabras para agradecerles todo lo que han hecho por mí. Los amo.

A mis hermanos

Adrián y Quetza, bien dicen por ahí que no se escoge a la familia... Yo creo que el destino, la vida o como quieran llamarle me dio a los mejores hermanos del mundo: Gracias por todo.

A mi familia

A todos mis primos, tíos, abuelos: Gracias por ser mi ejemplo de superación y lucha constante.

A mis amigos

Anita, Carlitos, Chos, Marc s, Marco, Migue, Tere: Por intentar entender mi rara amistad y a cambio brindarme la suya, lo cual agradezco infinitamente. Gracias por formar parte de mi vida amigos, los quiero.

Agradecimientos:

A todos mis pollitos

Porque nunca hubiera podido concluir este trabajo sin ustedes, gracias.

Al Laboratorio 14 –Preservación de semillas, granos y sus derivados- y 3 –Patogénesis microbiana- de la Unidad de Investigación multidisciplinaria y al Laboratorio de Parasitología, por abrirme sus puertas.

Dr. Juan Carlos Del Río García

Padre!! ¿Como podría agradecer lo que has hecho por mí? Gracias por apoyarme en todo, por ser parte de mi formación como futura profesionalista, por ser un ejemplo a seguir, por aguantar a una hija caprichosa , pero sobre todo porque encontré en ti a un amigo.

A mis asesores

M.C. Juan Pablo Martínez Labat y Dr. Guillermo Valdivia Anda, por todo el tiempo, conocimiento, apoyo y espacio brindado por ustedes.

A mi jurado

Dr. José Ortega Sánchez De Tagle, M.C. María del Carmen Barrón, MVZ Lourdes Jara Ramírez y M.C. Celso López, por ayudarme a enriquecer este trabajo así como por los consejos que recibí de su parte.

A todos los compañeros y amigos, que me han acompañado y brindado palabras de aliento y con quienes he compartido buenos momentos: Normigueta, Florecita, Yesi, Chucho, Nora, Arturo, Adris, Juan, Miguel Mtz., Javier, Gabino, Luis, Gustavo (si olvido a alguno de ustedes, no se ofendan, es culpa de este alemán)

A Ernesto Marín, Luis Mendoza Casas, Moisés Hernández ,Omar Hernández, Paolo César Cano, Miguel Lazcano: Muchísimas GRACIAS por ayudarme a limpiar, hacer necropsias, tomar fotos, revisar laminillas, conseguirme pollitos, rehacer la instalación eléctrica, inocular, etc, cuando con voz chillona solicité su apoyo y valioso tiempo.

A mis profesores de la carrera

Pocos son aquellos académicos que marcan la vida de un alumno con la enseñanza y experiencia brindadas de todo corazón, Dr. Javier Hernández, Dr. Jorge L. Tórtora, Dr.

Juan C. Del Río, M.C. Víctor M. Petrone, Dr. Humberto A. Martínez, Dr. Hugo Ramírez, MVZ Lourdes Jara, M.C. Juan Pablo Martínez Labat, MVZ. Ernesto Marín, M.C. César Cuenca, M.C. Jesús Zavaleta, MVZ Rodolfo Córdoba: GRACIAS por ejercer su trabajo con entusiasmo y dedicación así como por todo el conocimiento que en su momento compartieron conmigo, son una fuente de inspiración.

RESUMEN

Evaluación del efecto del consumo de alimento inoculado con fumonisinas B₁ y B₂ sobre las variables productivas, alteraciones morfológicas y cambios bioquímicos en el suero de pollos de engorda infectados con Eimeria spp.

Autor: Itzel Cristina Bautista Borjas; **Asesor:** Juan Carlos Del Río García; **Coasesores:** Juan Pablo Martínez Labat, Guillermo Valdivia Anda

En la industria avícola el alimento representa la mayor parte de los costos productivos y es una de las principales fuentes de exposición a agentes infecciosos para los animales. En el presente trabajo se evaluó el efecto del consumo de alimento contaminado con fumonisinas B₁ (FB₁) y B₂ (FB₂) sobre el comportamiento productivo, alteraciones morfológicas macroscópicas y microscópicas, así como la bioquímica sérica ante una infección simultánea con *Eimeria spp.*, por un periodo de 35 días. Se utilizaron 60 pollitos de 1 día de edad de la estirpe Ross x Ross, se pesaron y distribuyeron aleatoriamente formando 4 tratamientos con dos repeticiones por tratamiento: Testigo negativo (TN), expuesto a fumonisina (F), expuesto a la infección por *Eimeria spp.* (C) y expuesto a la infección por *Eimeria spp.* más fumonisina (CF). A los grupos F y CF se les ofreció la dieta basal, previamente inoculada y ajustada a una concentración de 3 ppm de FB₁ y FB₂ desde el primer día hasta el término del experimento y el inóculo de *Eimeria spp.* se administró vía oral al día 15 de edad a los grupos C y CF. Al término del experimento, las variables productivas no presentaron diferencia significativa ($p>0.05$) entre los tratamientos TN y F, los grupos C y CF se comportaron de manera similar. Se encontró un incremento significativo ($p<0.05$) en el peso del hígado, riñón e intestino en los tratamientos C y CF. El análisis microscópico mostró mayores grados de lesión ($p<0.05$) en los tratamientos en los que se suministró fumonisina en la dieta, siendo aún mayores en el tratamiento infectado con *Eimeria spp.* El hematocrito, proteínas totales, albúmina y las globulinas, mostraron diferencia significativa ($p<0.05$) en los tratamientos C y CF en el periodo de infección aguda por *Eimeria spp.* Las transaminasas se mantuvieron sin cambios significativos entre los tratamientos ($p>0.05$). De la misma manera, el tiempo de pasaje gastrointestinal se mantuvo sin diferencia significativa ($p>0.05$) entre tratamientos.

ÍNDICE

PÁGINAS

INTRODUCCIÓN	1
Breve panorama de la avicultura en México	1
Aspectos históricos de las micotoxinas.....	3
Hongos, micotoxinas y micotoxicosis.....	4
Micotoxinas en animales y su importancia en medicina veterinaria.....	8
Micotoxinas en México.....	9
JUSTIFICACIÓN.....	10
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS PARTICULARES.....	11
HIPÓTESIS.....	12
MARCO TEÓRICO- ETIOLOGÍAS.....	13
Fumonisinias.....	13
Taxonomía de <i>Fusarium moniliforme</i>	13
Síntesis y estructura.....	15
Mecanismo de acción.....	16
Toxicidad y estabilidad.....	18
Toxicidad en pollo de engorda.....	19
<i>Eimeria spp.</i> (eimeriosis, coccidiosis aviar).....	21
Etiología.....	21
Epidemiología.....	23
Ciclo de vida.....	23
Patogenia.....	25
Cuadro clínico y lesiones.....	26
Coccidiosis intestinal.....	26
Coccidiosis cecal.....	27
Interacción entre micotoxinas y <i>Eimeria spp.</i>	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
Animales de experimentación.....	29
Alimento.....	29
Producción de fumonisinias.....	30
Inóculo e infección.....	30

VARIABLES PRODUCTIVAS.....	31
Evaluación de las alteraciones morfológicas macroscópicas.....	32
Evaluación de las alteraciones morfológicas microscópicas.....	32
Hematología y química sanguínea.....	32
Prueba de tránsito gastrointestinal.....	34
Análisis estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIÓN.....	62
REFERENCIAS.....	64
APÉNDICES.....	73

ÍNDICE DE CUADROS**PÁGINAS**

Cuadro 1. Especies de hongos que afectan los granos	5
Cuadro 2. Clasificación taxonómica del Género <i>Fusarium</i>	14
Cuadro 3. Características diferenciales para siete especies de <i>Eimeria</i> de las aves...	22
Cuadro 4. Eliminación promedio semanal de ooquistes en el transcurso del experimento.....	36
Cuadro 5. Peso corporal promedio semanal de las aves durante el periodo experimental	38
Cuadro 6. Ganancia de peso promedio semanal de las aves durante el periodo experimental.....	39
Cuadro 7. Consumo promedio de alimento semanal de las aves durante el periodo experimental.....	41
Cuadro 8. Índice de conversión promedio semanal de las aves durante el periodo experimental.....	42
Cuadro 9. Peso relativo promedio de los órganos de los pollos al día 35 de edad.....	43
Cuadro 10. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el hígado de los pollos al término del periodo experimental.....	45
Cuadro 11. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el riñón de los pollos al término del periodo experimental.....	46
Cuadro 12. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el bazo de los pollos al término del periodo experimental.....	47
Cuadro 13. Resultados promedio de la evaluación microscópica en la bolsa cloacal de los pollos al final del periodo experimental.....	48
Cuadro 14. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el duodeno de los pollos al término del experimento.....	49
Cuadro 15. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el yeyuno-íleon de los pollos al final del periodo experimental.....	50
Cuadro 16. Resultados promedio de la evaluación microscópica en los ciegos de los pollos al final del periodo experimental.....	51
Cuadro 17. Valores promedio de la determinación del hematocrito de los pollos del primer (21 días de edad) y segundo muestreo (35 días de edad).....	53
Cuadro 18. Valores promedio de la determinación de proteínas séricas de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).....	54

Cuadro 19. Valores promedio de la determinación de enzimas en el suero de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).....	56
Cuadro 20. Valores promedio de la determinación de bilirrubinas en el suero de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).....	57
Cuadro 21. Valores promedio de la determinación de proteínas séricas de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).....	58
Cuadro 22. Valores promedio de la determinación de enzimas en el suero de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).....	59
Cuadro 23. Resultados de la determinación de bilirrubinas en el suero de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).....	60
Cuadro 24. Resultados de las pruebas de tránsito gastrointestinal realizadas en los pollos a los días 14 y 34 de edad.....	60
Cuadro 25. Tipificación del inóculo de <i>Eimeria spp.</i>	77
Cuadro 26. Cantidad de ooquistes esporulados y no esporulados en el inóculo.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS	PÁGINAS
Figura 1. Producción Pecuaria en el 2008.....	2
Figura 2. Representación simplificada de algunas relaciones generales en una micotoxicosis.....	7
Figura 3: Resumen de la síntesis de esfingolípidos <i>de novo</i> en la célula animal	17
Figura 4. Ciclo de vida de <i>Eimeria spp.</i>	24
Figura 5. Metodología para la determinación de fumonisinas mediante columnas de inmunofinidad.....	74
Figura 6. Metodología para la determinación de aflatoxinas mediante columnas de inmunofinidad.....	75
Figura 7. Metodología para la determinación de Ocratoxina A mediante columnas de inmunofinidad.....	76
Figura 8. Fotografía del hígado (H), bazo (B) y bolsa cloacal (BC) de los tratamientos al día 35 de edad.....	81
Figura 9. Fotografía de duodeno (D), yeyuno-íleon (Y) y ciego (C) de los tratamientos al día 35 de edad.....	81

ABREVIATURAS

- A.C.: antes de Cristo
AFB: aflatoxinas
ALT: alaninaminotransferasa
AP: fosfatasa alcalina
Ap: apoptosis
AST: aspartatoaminotransferasa
A.T.A: aleukia tóxica alimentaria
AV: acortamiento de vellosidades
C: expuesto a la infección por *Eimeria spp*
CF: expuesto a la infección por *Eimeria spp* más fumonisina
Co: congestion
Cr: *Cryptosporidium spp*
DA: degeneración albuminosa
De: depleción
DECB: descamación del epitelio de conductos biliares
DG: degeneración grasa
DON: deoxinivalenol
Ed: edema
EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
EV: edema de vellosidades
F: expuesto a fumonisina
FB: fumonisinas
FB₁: fumonisina B₁
FB₂: fumonisina B₂
FB₃: fumonisina B₃
FV: fusión de vellosidades
GDE: grado de descamación epitelial
GGT: gamaglutamiltransferasa
He: hiperplasia epitelial
HPCB: hiperplasia de conductos biliares
IH: infiltrado de heterófilos
IL: infiltrado linfocitario
N: necrosis
PDA: agar papa dextrosa
PIB: producto interno bruto
SCPA: Sin cambios patológicos aparentes.
TN: Testigo Negativo
URRS: Unión de Repúblicas Soviéticas Socialistas

INTRODUCCIÓN

Breve panorama de la avicultura en México

La avicultura se estructura como una cadena de producción, transformación y distribución de productos de origen aviar. El primer eslabón consiste en producir material genético, huevo fértil para incubar mediante granjas tanto de progenitoras (stocks de abuelas) como de reproductoras (híbridos de las cruas anteriores). En segundo plano esta la incubación, crianza y desarrollo de gallina ponedora, pollo y pavo para engorda. En tercero, la producción de pollo y pavo en canal y la de huevo de plato; en una cuarta etapa la distribución o procesamiento de sus productos finales para los consumidores. También en este complejo participan algunas industrias de apoyo como las de alimentos balanceados, productos fármaco-biológicos, servicios colaterales, que incluyen desde la fabricación de cajas, empaques, infraestructura e instalaciones, hasta la asesoría técnica y administrativa. En México la avicultura se afianzó desde los años cincuenta, pasando de un sistema de producción de traspatio a un sistema de producción altamente tecnificado y poco a poco se ha ido consolidando como una de las ramas más dinámicas de la producción pecuaria nacional (Hernández y Vázquez, 2009).

En el año 2008, la producción de carne de pollo en canal fue de 2,580,779 toneladas, con un valor de producción de 55,857,406 millones de pesos, cifra que equivale al 38.31% de la producción pecuaria de ese año (SIAP, 2009).

Actualmente, México ocupa el quinto lugar mundial como productor de carne de pollo y huevo para plato, por debajo de Estados Unidos, China, Brasil y la Unión Europea. La avicultura en México es una de las principales actividades pecuarias, representando el 63% de la producción pecuaria nacional y contribuyendo con aproximadamente el 34% del Producto Interno Bruto (PIB) pecuario, **figura 1** (Financiera Rural, 2009).

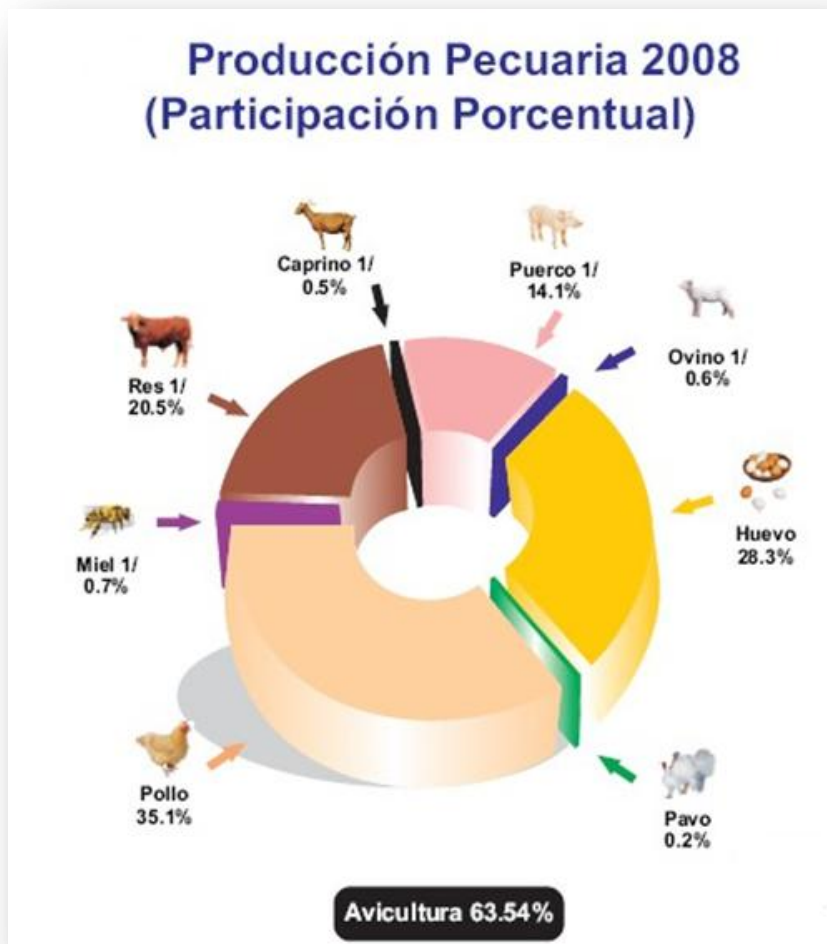


Figura 1. Producción Pecuaria, 2008. Tomado de Financiera Rural, 2009.

En la industria avícola, el alimento es el principal componente del costo de producción total en la producción de carne y huevo. El maíz y la harina de soya continúan siendo internacionalmente los ingredientes de elección en las dietas para aves, si bien en algunos países se incluye el trigo en dichas dietas. El alimento es probablemente el factor más importante en la industria avícola, que puede exponer a las aves a una amplia variedad de posibles patógenos a través del tracto gastrointestinal. El sistema inmune del ave es de especial importancia en avicultura debido a que las parvadas comerciales son criadas en sistemas intensivos, condiciones bajo las cuales las parvadas son vulnerables a una rápida diseminación de agentes infecciosos (Yegani y Korver, 2008).

Las micotoxinas son metabolitos producidos por hongos filamentosos de diversos géneros que contaminan los granos destinados a la alimentación humana y animal, estas tienen efectos inmunotóxicos a través de varios mecanismos, los cuales se manifiestan con

una respuesta reducida del sistema inmune; dichos efectos inmunotóxicos tornan a las aves susceptibles a diversas enfermedades infecciosas, reducen la producción y desarrollo, resultando en pérdidas económicas importantes para la industria avícola (Girish y Smith, 2008). Por otra parte, la infección por *Eimeria spp* es la enfermedad parasitaria más importante en la avicultura, al producir pérdidas económicas importantes, pudiendo ocurrir de manera única, en interacción con diversos patógenos o imbalances nutricionales (Williams, 2005).

Aspectos históricos de las micotoxinas

Se ha tenido conocimiento de las micotoxicosis desde épocas muy remotas, siendo reportadas principalmente en casos de ergotismo, la cual es una intoxicación producida por las toxinas del cornezuelo de centeno (*Claviceps purpurea*). En China se utilizaba desde hace más de 3000 años en obstetricia. Los asirios lo refieren en una tablilla, que data del año 600 a.C, como una pústula nociva en las espigas del centeno. En Persia, alrededor del año 400 a. C., se explica que su consumo por mujeres embarazadas causa abortos, o bien la muerte del producto durante el parto (Soriano, 2007).

En los siglos VIII y VII a.C. se instauró el festival de la Robigalia en honor del Dios Robigus, a quien era necesario propiciar para proteger el grano y los árboles. Se celebraba en abril, por ser la época del año en la que era más probable que las cosechas resultaran atacadas por las “roñas” o “el mildú”. En la edad media, los brotes de ergotismo alcanzaron proporciones de pandemia, mutilando y matando a cientos de personas en Europa (Peraica *et al*, 2000).

Desde los siglos IX al XIV se declaraban epidemias de dicha enfermedad, especialmente en las regiones de Francia, Rusia y Alemania, cuyas consecuencias resultaban más temibles, incluso que las de la lepra. Así, por ejemplo, se recuerda que durante el reinado de Felipe VI, en 1130, estalló una epidemia en la región de La Lorena, Francia, enfermando gravemente una gran cantidad de personas. Esta enfermedad recibió los nombres de fuego sagrado, mal de los ardientes o fuego de San Antonio, este último nombre data del siglo XI, en que se fundaron los monasterios de San Antonio ermitaño para atender a las víctimas. En 1597, la Facultad de Medicina de Marburgo, Alemania, decidió investigar los posibles orígenes de la enfermedad, llegando a la conclusión de que

era exclusivamente debida a la ingestión de pan amasado con harina de centeno contaminada con el cornezuelo de centeno (Laval, 2004).

Se tienen registros del periodo comprendido entre los años de 1724-1753 en Inglaterra, hechos por el Doctor John Huxham en donde describe una enfermedad de origen alimentario denominada fiebre nerviosa lenta. En 1742, Baker describe la misma enfermedad, notando que afecta a familias e incluso ciudades enteras. Ambos sospecharon del alimento como la fuente del problema. Durante la primera mitad del siglo XVIII se describió otro tipo de fiebre, la fiebre pútrida maligna, que en 1942 se diagnosticó como aleukia toxica alimentaria (A.T.A). Ésta es causada por las toxinas del hongo *Fusarium tricinctum*: los tricotecenos o toxina T-2 (Kilbourne, 1981). Se reportó que los granos de cereales colonizados por *Fusarium sporotrichioides*, también productor de la toxina T-2, causó la muerte de cientos de miles de personas en la Unión de Repúblicas Soviéticas Socialistas (URSS) durante los años cercanos a la segunda guerra mundial (Nelson *et al*, 1994).

Se tiene conocimiento de otras enfermedades, como la enfermedad del arroz amarillo producida por las toxinas de *Penicillium citreonigrum* (citrinina) en Japón, la enfermedad de Urov en el este de Siberia, Corea del Norte y norte de China y de la enfermedad de Akababi-byo en Japón, ambas ocasionadas por toxinas producidas por hongos del género *Fusarium* (Nelson *et al*, 1994; Peraica *et al*, 2000).

Hongos, micotoxinas y micotoxicosis

Los hongos son organismos ubicuos en la naturaleza y son vitales para el reciclamiento de los nutrientes contenidos en la materia orgánica. Existen diversos géneros de hongos que contienen especies causantes de enfermedades en las plantas, animales y el hombre.

Estos hongos se pueden categorizar en dos grupos con base a su patogenicidad: 1) hongos saprófitos que pueden ser patógenos oportunistas, ingresando al organismo por heridas o debido a un estado de debilidad del hospedero, 2) verdaderos patógenos, que dependen de las plantas o tejidos animales para su nutrición, sin embargo pueden sobrevivir fuera del hospedero (De Lucca, 2007).

Los hongos que invaden los granos pueden clasificarse en dos grupos: los hongos de campo y los hongos de almacenaje, los principales géneros de hongos comprendidos en ambas clasificaciones se muestran en el **cuadro 1**. Los hongos de campo son aquellos que invaden los granos antes de la cosecha o tras la siega y requieren altos niveles de humedad; estos son principalmente del género *Fusarium* y *Alternaria*. La colonización de la parte aérea de las plantas comienza tan pronto como son expuestas al aire. Las bacterias suelen aparecer primero, luego las levaduras y al final los hongos filamentosos saprófitos y/o patógenos; estos se desarrollan a lo largo de todo el crecimiento de la planta, lo que se acentúa cuando envejece y las semillas maduran. Los hongos de almacenaje invaden el grano con contenidos inferiores de humedad y los principales géneros son *Penicillium* y *Aspergillus*. Los factores que influyen en su desarrollo son el contenido de humedad del sustrato, la temperatura, el tiempo de almacenaje, el grado de invasión fúngica antes del almacenamiento y la actividad de insectos y ácaros que facilitan la diseminación (Antón y Lisazo, 2001; Carrillo, 2003).

Cuadro1.- Especies de hongos que afectan los granos.

Tipo de Contaminación	Especies de Hongos
Hongos de campo	<i>Fusarium</i> (<i>F. moniliforme</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. tricinctum</i> , etc.), <i>Alternaria</i> sp, <i>Helminthosporium</i> sp, <i>Cladosporium</i> sp, <i>Penicillium</i> (<i>P. oxalicum</i> , <i>P.funiculosum</i> , <i>P. oydrinum</i> , etc.).
Hongos de almacenaje	<i>Aspergillus</i> (<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>), <i>Penicillium</i> sp.

Modificado de Perusia y Rodríguez R., 2001.

En su crecimiento, los hongos forman una serie de sustancias químicas denominadas metabolitos primarios, los cuales son ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos; la formación de estos metabolitos primarios se asocia con la fase de crecimiento rápido.

Los metabolitos secundarios son compuestos no esenciales para el crecimiento de los hongos en cultivo, dentro de este grupo están los antibióticos y las *micotoxinas*. Si bien todas las micotoxinas son de origen fúngico, no todos los compuestos tóxicos producidos por hongos se denominan micotoxinas. Los metabolitos fúngicos que son tóxicos para bacterias (como es la penicilina) se denominan antibióticos; los metabolitos fúngicos que son tóxicos para las plantas se denominan fitotoxinas y los metabolitos fúngicos que son tóxicos para los vertebrados se denominan micotoxinas (Bennett y Klich, 2003). La palabra

micotoxina deriva de la palabra griega *mikes* y de la latina *toxicum* que significan hongo y tóxico, respectivamente. Las micotoxinas son sustancias que se producen cuando la fase de crecimiento llega a su etapa final y durante la fase estacionaria, estando a menudo asociados con la diferenciación y esporulación (González *et al*, 2006). En general, la biosíntesis de micotoxinas es específica, mientras más compleja es la ruta biosintética de estos metabolitos secundarios, más restringido es el número de especies de hongos productores (Carrillo, 2003).

Las *micotoxicosis* son las enfermedades ocasionadas por el consumo de micotoxinas; los síntomas de una micotoxicosis dependen del tipo de micotoxina, la cantidad y duración de la exposición, edad, estado de salud y sexo del organismo expuesto así como de muchos otros efectos sinérgicos que involucran genética, estatus de la dieta e interacciones con otros tóxicos, tal como se muestra en la **figura 2** (Bennett y Klich, 2003). La toxicidad de las micotoxinas en los animales puede ser aguda, tras una elevada ingestión de la toxina, o crónica tras una prolongada exposición a niveles bajos de micotoxina (Denli y Pérez, 2006).

Se puede presentar más de una micotoxina en los alimentos como resultado de contaminaciones simultáneas con diferentes especies de hongos productores de micotoxinas. Como cualquier otro tóxico, las micotoxinas pueden ocasionar efectos diversos al presentarse tipos diferentes en un mismo alimento. El efecto *aditivo* tiene lugar cuando el efecto combinado de dos sustancias es igual a la suma de los efectos de cada una de ellas administradas por separado. El efecto *sinérgico* aparece cuando el efecto de la combinación de dos sustancias es mayor que el efecto de cada una por separado. La *potencialización* consiste en que una sustancia que carece de efecto tóxico sobre un órgano o sistema determinado, al añadirsele otro agente hace que el primero sea más tóxico. (Klaassen y Watkins III, 2005). La Food and Agriculture Organization (FAO) estima que más de un 25% de la producción de alimentos en el mundo está contaminada con un cierto grado de micotoxinas. La mayoría de los hongos crecen en los cereales produciendo sus toxinas cuando las condiciones son favorables, así se estima que entre el 25 y 40 % de los cereales puede estar contaminado con una o varias micotoxinas. Hasta el momento se han descrito alrededor de 300 micotoxinas, de las cuales solo unas pocas reciben atención especial por su peligro potencial para la salud pública o animal. Las principales

micotoxinas por su impacto en la salud son: aflatoxinas (AFB), ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas (FB) y alcaloides ergóticos (Denli y Pérez, 2006).

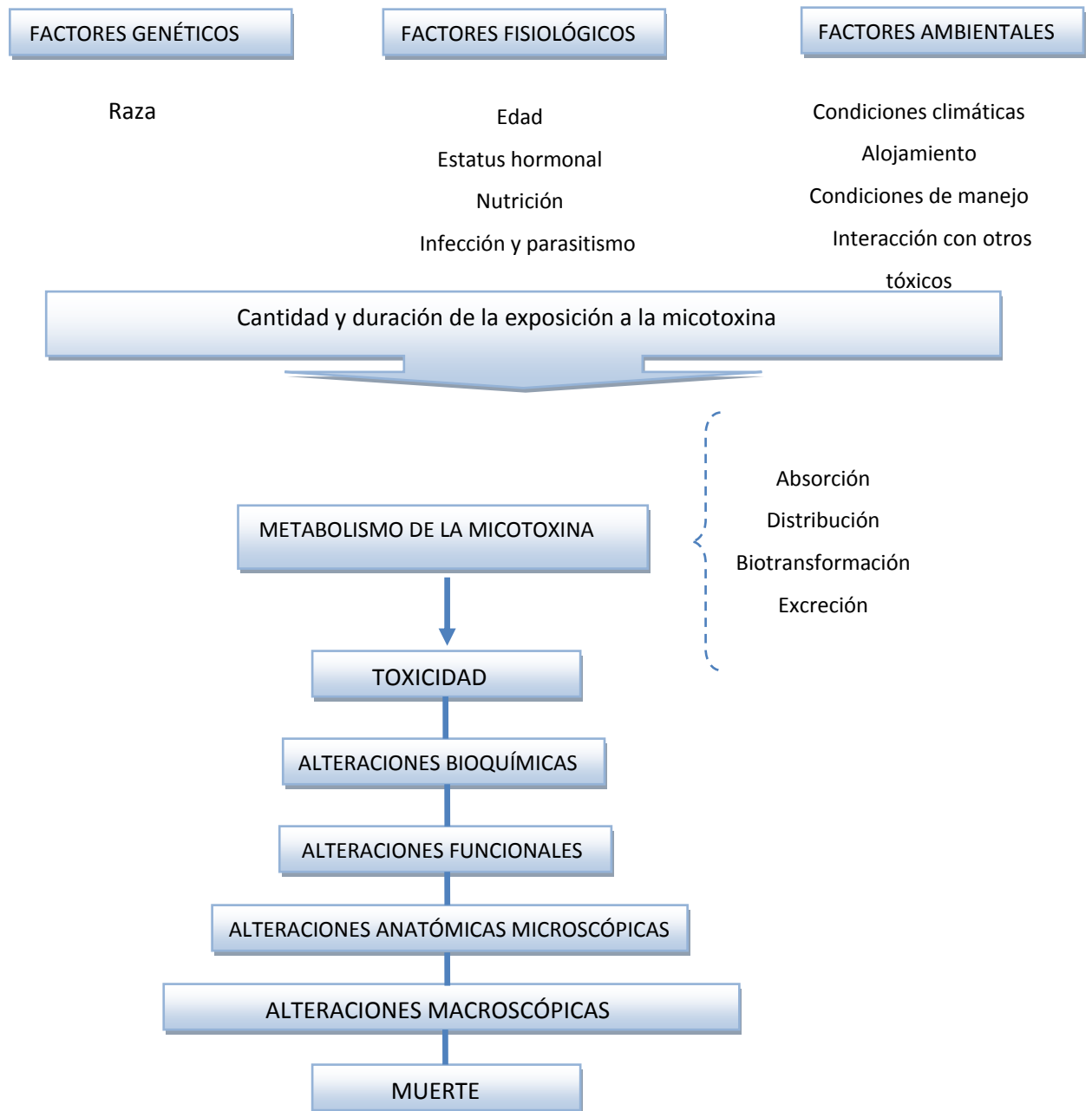


Figura 2. Representación simplificada de las relaciones generales en una micotoxicosis. Modificado de Bryden WL, 2007

Micotoxinas en animales y su importancia en Medicina Veterinaria

El término micotoxina se acuñó en 1962, como resultado de una inusual crisis veterinaria en Londres Inglaterra, durante el cual murieron aproximadamente 100,000 pavos, y se denominó “enfermedad X de los pavos”. Esta misteriosa enfermedad se ligó al consumo de harina de cacahuete contaminada con metabolitos secundarios de *Aspergillus flavus* (aflatoxinas) (Bennett y Klich, 2003; Binder M.E., 2007).

Brotos de enfermedades como los síndromes hemorrágicos, caracterizados por diarrea sanguinolenta, lesiones necróticas orales y hemorragias extensivas aparecían esporádicamente en bovinos, cerdos y aves en los Estados Unidos y se asociaban a la ingestión de cereales mohosos. Los brotes de síndromes estrogénicos se han reportado en muchos países, particularmente en cerdos y son ocasionados por el consumo de cereales (principalmente maíz y cebada) contaminados por el metabolito zearalenona.

Los brotes de rechazo del alimento asociados con emésis se reportan en Estados Unidos y Japón principalmente en cerdos, siendo ligados a la contaminación de los granos con deoxinivalenol. Las pasturas de invierno de festuca alta en Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda se asocian con los brotes de campo de una enfermedad conocida como pie de festuca; esta enfermedad se caracteriza por claudicación, pérdida de peso, espalda arqueada, fiebre y gangrena seca de las patas traseras, punta de la cola y orejas, si bien no está esclarecida la etiología de esta enfermedad, se vincula con la presencia de alcaloides ergóticos. La enfermedad de dengala se presenta en búfalos y ganado alimentado casi exclusivamente con paja de arroz, de la cual se han aislado *Fusarium equiseti* y *Fusarium semitectum*, sin embargo, las toxinas involucradas no han sido aisladas y la etiología de enfermedad permanece desconocida (Nelson *et al*, 1994).

La importancia de las micotoxinas en Medicina Veterinaria implica un doble peso. Por una parte, la presencia de micotoxinas en piensos para animales afecta el crecimiento, la producción láctea, la producción de huevo y la reproducción e inmunidad de los animales afectados debido a cuatro mecanismos primarios: 1) rechazo del alimento, 2) alteración en el contenido de nutrientes del alimento, así como en la absorción y metabolismo de los mismos, 3) efecto en los sistemas endócrino y exócrino y 4) supresión del sistema inmunológico. Algunas veces las micotoxinas se presentan en concentraciones lo suficientemente altas para causar pérdidas importantes en la salud y desarrollo de los

animales sin embargo, lo más común es encontrarlas en bajas concentraciones, interactuando con otros agentes, ocasionando pérdidas subclínicas en el comportamiento productivo, reproductivo e incrementando la incidencia de enfermedades (Whitlow y Hagler, 2002). Si bien el costo total por pérdidas debido a micotoxicosis resulta difícil de calcular, en 1986 se estimaron pérdidas económicas en Estados Unidos por alrededor de 140 millones de dólares, sólo por la disminución en el peso de pollos de engorda que consumieron bajos niveles de micotoxinas (Flores *et al*, 2006).

Por otra parte, una segunda repercusión de las micotoxicosis es en salud pública. Esta se produce al ingerir huevo, carne o leche de animales que consumieron piensos contaminados con micotoxinas (Carrillo, 2003).

Micotoxinas en México

Carvajal y Arroyo (1997) realizaron un estudio en Tamaulipas, en el cual detectaron que los niveles de aflatoxinas en el maíz analizado tuvieron un promedio de 66 ppb/Kg de grano y un 90% de incidencia del total de las 42 muestras analizadas.

Dombrink-Kurtzman y Dvorak (1999) realizaron un estudio en México, en donde detectaron niveles de fumonisinas en productos derivados del maíz (masa y tortillas) en concentraciones promedio de 790 ppb/Kg.

Robledo *et al* (2001), realizaron un estudio en el estado de Nayarit, en donde reportaron niveles promedio de 2541 ppb/Kg de fumonisina B₁ en todas las muestras analizadas de maíz forrajero, en el 15% de las muestras detectaron un promedio de 1610 ppb/Kg de zearalenona y en solo una muestra identificaron contaminación por toxina T-2 con 7 ppb/Kg.

Flores *et al* (2006) realizaron un estudio en el que analizaron muestras de granos y alimento balanceado de aves, cerdos y bovinos. En este se detectó que el 57 % de las muestras analizadas tuvieron algún grado de contaminación por micotoxinas, la mayor incidencia fue de ocratoxina A, con un rango de 1-353 ppb/Kg de alimento, seguido por zearalenona en un rango de 7-122 ppb/Kg de alimento y toxina T-2 en un rango de 2-110 ppb/Kg de alimento, citrinina en un rango de 1-90 ppb/Kg de alimento y aflatoxina B₁ a concentraciones de 2-77 ppb/Kg de alimento.

JUSTIFICACIÓN

Existen diversos estudios evaluando la interrelación entre aflatoxinas y *E. acervulina* (Marcano *et al*, 2005), también con ocratoxina A y *E. acervulina* (Koynarski *et al*, 2007) así como fusariotoxinas (deoxinivalenol) y *E. acervulina* , *E. maxima* y *E tenella* (Girgis *et al*, 2008); sin embargo, la interacción entre fumonisinas y *Eimeria* no ha sido estudiada hasta el momento a pesar de que se ha demostrado un decremento de los mecanismos inmunológicos por acción de las fumonisinas, así como alteración de la integridad estructural de órganos como el hígado a concentraciones de 10 ppm (Del Bianchi *et al*, 2005). Otra alteración reportada por acción de las fumonisinas es la disminución de la función de barrera del intestino (Girish y Smith, 2008), lo cual podría favorecer el establecimiento de diversos agentes, entre ellos parásitos como *Eimeria spp*, afectando negativamente el desempeño productivo en una explotación avícola.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto de las fumonisinas FB₁ y FB₂ en las variables productivas, cambios morfológicos macroscópicos y microscópicos en diversos órganos, así como las alteraciones bioquímicas mediante pruebas de laboratorio en pollos de engorda infectados con *Eimeria spp.*

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el efecto en las variables productivas, índice de conversión, ganancia de peso y consumo de alimento en pollos que consumieron alimento con fumonisinas B₁ y B₂ y que se infectaron con *Eimeria spp.*
- Detectar las alteraciones morfológicas macroscópicas y microscópicas de hígado, riñón, bazo, bolsa cloacal e intestino (duodeno, yeyuno-íleon y ciegos) en pollos que consumieron alimento con fumonisinas B₁ y B₂ y que se infectaron con *Eimeria spp.*
- Conocer las alteraciones en la concentración sérica de proteína total, albúmina, globulinas, relación A/G, bilirrubinas y transaminasas en pollos que consumieron alimento con fumonisinas B₁ y B₂ y que se infectaron con *Eimeria spp.*
- Medir el tiempo de tránsito gastrointestinal en pollos que consumieron alimento con fumonisinas B₁ y B₂ y que se infectaron con *Eimeria spp.*

HIPÓTESIS

El consumo de alimento contaminado con 3ppm de fumonisinas FB₁ y FB₂ afectará de forma negativa las variables productivas, morfología de hígado, riñón, bazo, bolsa cloacal e intestino así como las concentraciones séricas de proteínas plasmáticas y transaminasas de los pollos de engorda ante una infección simultánea con *Eimeria spp.*

MARCO TEÓRICO DE LAS ETIOLOGÍAS

FUMONISINAS

Taxonomía de *Fusarium moniliforme*

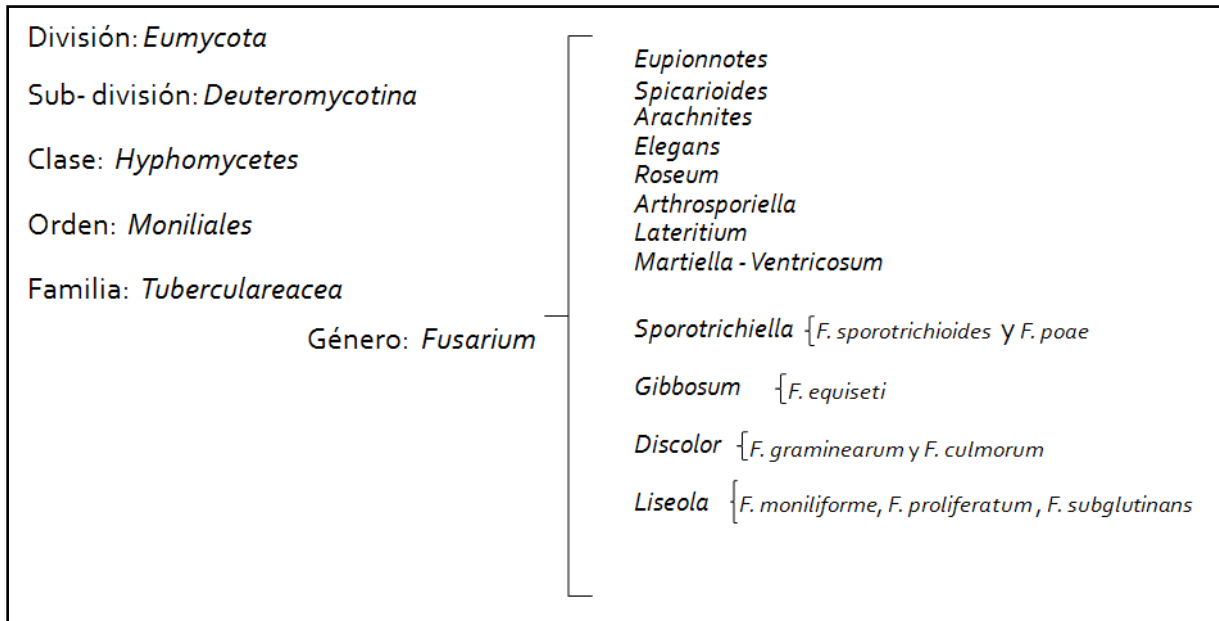
El género *Fusarium* pertenece al Phylum *Ascomycota*, el Phylum más grande de los hongos; comprende casi el 50% de todas las especies de hongos conocidos y aproximadamente 80% de las especies patógenas y oportunistas. Debido a la complejidad del género, no ha habido acuerdos internacionales en la nomenclatura de este género. Los diferentes números de taxones aceptados por los especialistas del género *Fusarium*, son una clara evidencia de confusión; un ejemplo es la especie *Fusarium moniliforme*, la cual se considera ser una especie válida por Nelson *et al*, y un sinónimo de *Fusarium verticillioides* de acuerdo con Nirenberg y Gams, siendo ambos nombres usados ampliamente (Guarro *et al*, 1999); sin embargo, pese a lo anterior, se ha alcanzado un considerable consenso en la taxonomía de las especies de *Fusarium* (Nelson *et al*, 1994).

Las especies de *Fusarium* han sido importantes por muchos años como patógenos causantes de enfermedades en los granos de cereales y cosechas hortícolas. En años recientes las especies del género *Fusarium* se han estudiado debido a que producen micotoxinas que pueden ser una amenaza para la salud humana y animal. Las especies de *Fusarium* se distribuyen ampliamente, son comunes en climas tropicales, templados y también los podemos encontrar en áreas desérticas, alpinas y árticas en donde prevalecen las condiciones climáticas adversas. Son vistos frecuentemente como hongos de la tierra porque son abundantes en ésta y se asocian con las raíces de las plantas ya sea como parásitos o saprófitos; sin embargo, muchos tienen medios de dispersión pasivos o activos en la atmósfera, siendo colonizadores comunes de las partes aéreas de las plantas, donde pueden resultar en enfermedades de considerable importancia económica (Nelson *et al*, 1994).

El género *Fusarium* se divide en secciones; una sección se usa para géneros con un gran número de especies, con la finalidad de agrupar especies con características morfológicas similares. En algunas secciones como son *Elegans* y *Sporotrichioides* solo hay una especie por sección, en otras secciones como son *Gibbosum* y *Discolor* puede haber de cinco a diez

especies por sección. Existen 12 secciones dentro del género *Fusarium*: *Eupionnotes*, *Spicarioides*, *Arachnites*, *Elegans*, *Roseum*, *Arthrosporiella*, *Lateritium*, *Martiella-Ventricosum*, *Sporotrichiella*, *Gibbosum*, *Discolor* y *Liseola* (Yescas, 2001). La clasificación taxonómica de la especie *Fusarium moniliforme* se muestra en el **cuadro 2**.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del Género *Fusarium*.



Modificado de Yescas, 2001.

La taxonomía de *Fusarium* se basa en numerosas características morfológicas. Las características primarias incluyen la forma de la macroconidia, la presencia o ausencia de microconidia, la forma de ésta y si los conidios se originan en cadena. Algunas características macroscópicas como la textura de las colonias, pigmentación y tasa de crecimiento también pueden ser útiles (Guarro *et al*, 1999).

Esta es la especie del género *Fusarium* que recibe más atención, debido a que es uno de los hongos mayormente asociados a materias primas de la dieta (principalmente el maíz) básica de humanos y animales. Esta especie es productora de diversas micotoxinas con un gran impacto en la salud, ya sea humana o animal. Las principales micotoxinas producidas, con repercusiones en la salud y productividad animal son: fumonisinas, moniliformina y fusarina (Nelson *et al*, 1994). Las FB fueron las micotoxinas causantes de la leucoencefalomalacia equina, descrita en 1988 (Bezuidenhout *et al*, 1988), del edema

pulmonar porcino (Ross *et al*, 1990) y en humanos se ha asociado con incidencia alta de cáncer esofágico (Marasas, 2001).

Síntesis y estructura

Las FB son producidas principalmente por *Fusarium moniliforme*, aunque también otras especies dentro de la sección *Liseola*, (*F.proliferatum*, *F. napiforme*, *F. nygamani*) y *Alternaria alternata* pueden producirlas (Nelson *et al*, 1992). Si bien las FB aparecen principalmente en el maíz y sus derivados, se ha documentado su presencia natural en sorgo, arroz y frijol (Comisión del Codex Alimentarius, 2009).

Las condiciones de temperatura y humedad son factores cruciales que desencadenan la infección por hongos y la producción de micotoxinas en los granos de cereales infectados por *Fusarium moniliforme* (Yazar *et al*, 2008). Se ha observado que los años cálidos y secos dan como resultado una mayor concentración de fumonisinas en las cosechas que los años fríos; también existe una fuerte relación entre el daño al maíz ocasionado por insectos y las concentraciones de fumonisinas, los granos de maíz con pericarpo delgado son más susceptibles a las heridas por insectos y esto facilita el acceso para el hongo (FAO, 1999).

La fumonisina B₁ (FB₁) se aisló por primera vez en 1988 de cultivos de *F. moniliforme*, cepa MRC 826, en el mismo año, fue caracterizada la estructura de las fumonisinas por Bezuidenhout *et al*. A la fecha se han aislado un total de 28 fumonisinas que se dividen en cuatro series conocidas como A, B, C y P; las fumonisinas más importantes y biológicamente activas son las pertenecientes a la serie B (FB₁, FB₂ y FB₃) (Shephard, 2005; Soriano *et al*, 2005; Yazar *et al*, 2008).

En el maíz contaminado naturalmente la relación FB₁/ FB₂ es aproximadamente 3:1, y las FB₁ representan alrededor del 70% del total de fumonisinas presentes en el grano contaminado naturalmente y la FB₃ se observa con poca frecuencia. Se han cuantificado los niveles de fumonisinas dando relaciones de FB₁:FB₂:FB₃ de 10:3:1; se conoce poco sobre la presencia natural de FB₄ (la producen cepas de *Fusarium verticilloides* = *F. moniliforme*, por lo general en concentraciones inferiores al resto de las fumonisinas de la misma serie) (Comisión del Codex Alimentarius, 2009).

La FB₁ es un diéster de ácido propano-1,2,3-tricarboxílico y un pentahidroieicosano, en los cuales, los grupos hidroxilo de los carbonos 14 y 15 se esterifican con los grupos carboxilo terminales del ácido propano-1,2,3-tricarboxílico. La FB₂ es el C-10-deoxi análogo de FB₁ y la FB₃ es el C-5-deoxi análogo de la FB₁ (Bezuidenhout *et al*, 1988).

Mecanismo de acción

Las moléculas de fumonisinas son estructuralmente similares a las bases esfingoides, esfingosina y esfinganina, las cuales son un componente de las moléculas de esfingolípidos. Estas micotoxinas actúan interrumpiendo el metabolismo de los esfingolípidos al inhibir la enzima ceramida sintasa (N-acetiltransferasa), actuando como inhibidor competitivo (ocupa los sitios activos de la esfinganina y Acil-Coenzima A) dando como resultado una alteración de la síntesis *de novo* de los esfingolípidos (Merrill *et al*, 2001; Soriano *et al*, 2005).

La síntesis *de novo* de los esfingolípidos (**figura 3**) ocurre en la cara citosólica del retículo endoplásmico; comienza con la condensación de la serina y el palmitoil-CoA catalizada por la enzima palmitoil-transferasa de serina, la resultante 3-cetoesfinganina se reduce para formar esfinganina, la cual se fosforila para formar esfinganina-1-fosfato o se N-acetila para formar dihidroceramida y ésta se desatura para formar ceramida. La ceramida entonces se transforma a esfingomielina al añadirsele fosfocolina. La esfingomielina se convierte a glicolípidos (por la adición de oligosacáridos) o forma esfingosina (por la acción catalítica de la ceramidasa). La fosforilación de la esfingosina por la esfingosina-cinasa, produce esfingosina-1-fosfato. La esfinganina-1-fosfato y la esfingosina-1-fosfato producen fosfato de etanolamina y un aldehído graso. El ciclo se cierra cuando estos últimos productos se convierten a serina y palmitoil-CoA (Soriano *et al*, 2005).

Como consecuencia de la inhibición de la ceramida sintasa se da la acumulación de esfinganina y en menor proporción de esfingosina, por lo que se interfiere la síntesis *de novo* de esfingolípidos y la consecuente disminución o bloqueo de la formación de esfingolípidos complejos (Merrill *et al*, 2001; Soriano *et al*, 2005).

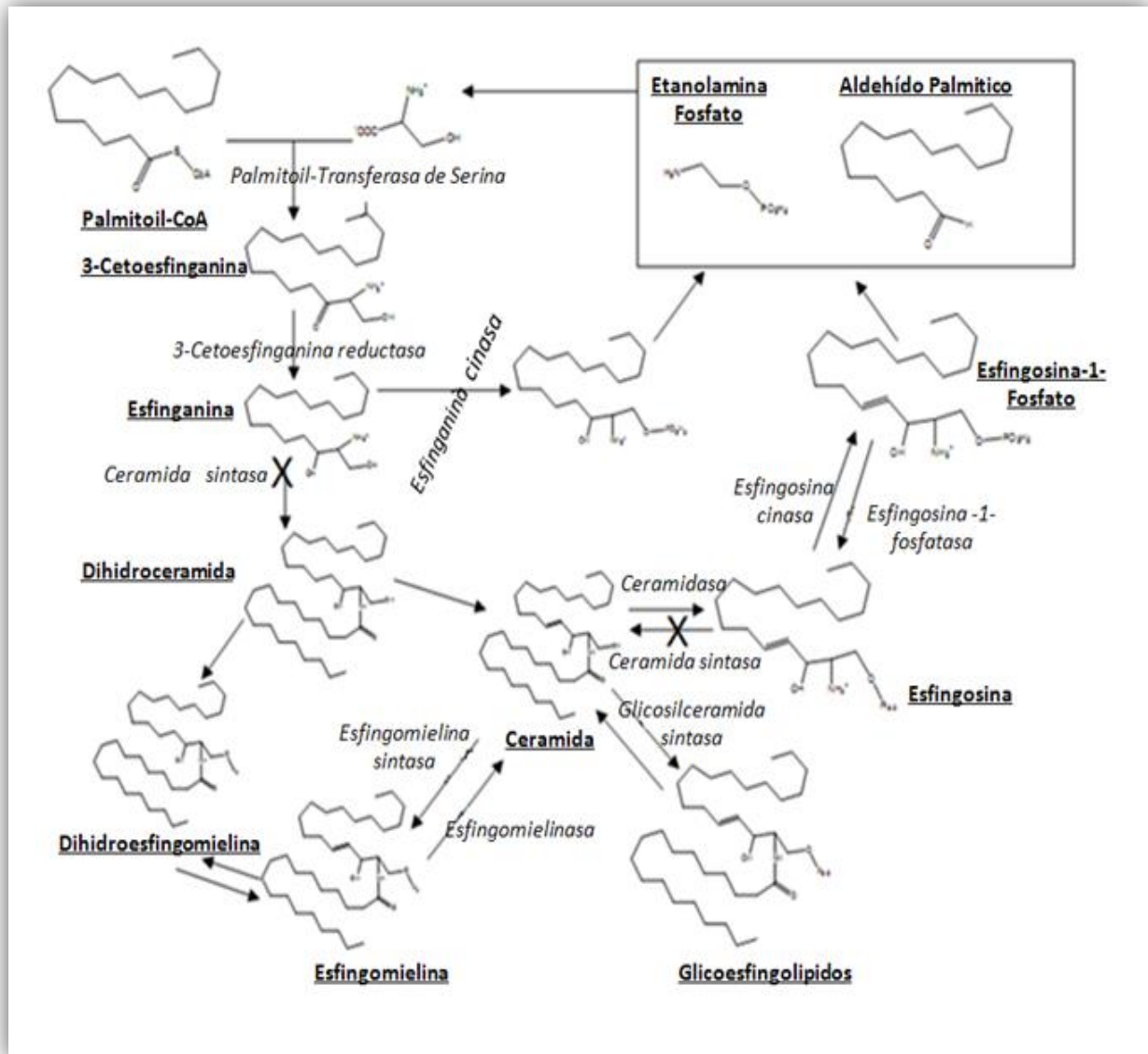


Figura 3: Síntesis de esfingolípidos *de novo* en la célula animal (el símbolo **X** indica las vías enzimáticas inhibidas por fumonisina B₁). Modificado de Soriano *et al*, 2005.

La esfingosina y esfingánina tienen efectos proapoptóticos, citotóxicos, e inhibidores del crecimiento. Otros efectos se relacionan con la disminución de la ceramida y el incremento de la esfingosina-1-fosfato, ambas implicadas en la regulación del proceso de

apoptosis, así como promotoras de mitosis y regeneración. La ceramida está implicada en la regulación y diferenciación celular, apoptosis y senescencia celular (Merrill *et al*, 2001; Voss *et al*, 2007; Yazar *et al*, 2008). También hay evidencia de que las fumonisinas modulan la inmunidad y resistencia del hospedero e inhiben la adhesión célula-célula o célula-matriz (Voss *et al*, 2007).

El epitelio digestivo de los animales que consumen dietas basadas en maíz de baja calidad se puede exponer a altas concentraciones de fumonisinas, de ahí que el tracto gastrointestinal también puede ser un blanco de las fumonisinas puesto que los glicosfingolípidos son receptores para patógenos microbianos y sus toxinas, la inhibición de la ceramida sintasa en el tracto digestivo puede alterar la expresión de los sitios de unión de los glicosfingolípidos o el transporte de toxinas microbianas y consecuentemente la sensibilidad de los animales a los agentes infecciosos (Soriano *et al*, 2005).

Toxicidad y estabilidad

El efecto tóxico y patogénico de las fumonisinas se ha estudiado extensivamente en animales de laboratorio, principalmente en ratas. El hígado y riñón son los principales órganos blanco sin embargo, existen diferencias que ocurren en respuesta a la dosis, especie y sexo (Voss *et al*, 2007).

Estas toxinas son la causa de la encefalomalacia equina, edema pulmonar e hidrotórax en porcinos, hemorragia cerebral en conejos, cáncer renal y hepático en ratas así como problemas congénitos (principalmente defectos del tubo neural). Adicionalmente, producen toxicidad de leve a fatal en hígado, riñón y corazón en caballos, cerdos, bovinos, ovinos, pollos, patos, conejos, ratas y ratones. El efecto de toxicidad de las fumonisinas se ha observado en linfocitos de pollo y pavo, macrófagos de pollo y en células de riñón de conejo (RK13) (Yazar *et al*, 2008). Debido a que son solubles en agua, es improbable que se acumulen FB en los tejidos animales, por lo cual no se han detectado o se han encontrado en cantidades muy bajas en leche, huevo y carne (Comisión del Codex Alimentarius, 2009).

Se han realizado estudios para evaluar la resistencia térmica de dichas toxinas, se correlacionaron tiempo y temperatura a 10 minutos, 38 minutos, 175 minutos y 8 horas a 150 °C, 125 °C, 100 °C y 75 °C respectivamente y no se encontró una destrucción

significativa de la micotoxina por medio de los principales procesos de secado o tratamiento térmico del grano (Dupuy *et al*, 1993). Sin embargo se ha demostrado que a temperaturas mayores de 150 °C, se tiene una disminución significativa de dicha micotoxina (Comisión del Codex Alimentarius, 2009).

Toxicidad en pollo de engorda

Los pollos de engorda son aparentemente más resistentes a las fumonisinas que otras especies, al requerir niveles más elevados de micotoxina para inducir efectos medibles (Witlow y Hager, 2002).

Las fumonisinas son de importancia en pollos de engorda, puesto que el maíz ocupa una parte importante de la dieta balanceada para esta especie. Estudios realizados en gallinas de postura han demostrado que después de la administración intravenosa de fumonisina marcada con carbono catorce (C₁₄-FB₁) a una concentración de 2 ppm/Kg de peso corporal, la tasa de eliminación de la FB₁ marcada fue bi-exponencial. La radioactividad no se distribuyó a los tejidos y solo se detectaron cantidades traza en hígado y riñones después de 24 horas. Al administrar oralmente 2 ppm/Kg de peso corporal, la absorción de FB₁ marcada fue de 0.02 de la dosis y se eliminó rápidamente del organismo (de manera similar a la administración intravenosa). Solo algunos tejidos del tracto gastrointestinal, la inglobia, el intestino delgado, el ciego, el hígado y los riñones tuvieron cantidades detectables después de 24 horas, ≤ 0.01 de la dosis oral de FB₁ marcada (Voss *et al*, 2007).

Ledoux *et al* (1994) utilizaron material de cultivo de *Fusarium moniliforme* con diferentes concentraciones de fumonisina B₁ (0, 100, 200, 300, 400 ppm/Kg de alimento) por un periodo de tres semanas, al término del experimento reportaron una disminución lineal ($p < 0.05$) de la ganancia de peso con el incremento de fumonisinas en la dieta, de la misma manera reportó un incremento lineal ($p < 0.05$) del peso absoluto de hígado, proventrículo y ventrículo. La revisión histopatológica reveló, depleción tímica cortical en dietas con ≥ 100 ppm de fumonisina/Kg de alimento; hiperplasia y focos de necrosis múltiple en hígado en dietas con ≥ 200 ppm de fumonisina/Kg de alimento; necrosis hepática multifocal, hiperplasia de conductos biliares y raquitismo con dietas de ≥ 300 ppm y ≥ 400 ppm de fumonisina/Kg de alimento. También reportaron un incremento lineal

($p < 0.05$) de AST (aspartatoaminotransferasa), un incremento cuadrático ($p < 0.05$) del colesterol, glucosa y calcio y un incremento cúbico ($p < 0.05$) de la albúmina sérica.

Javed *et al* (1995) utilizaron material de cultivo de *Fusarium proliferatum* conteniendo niveles conocidos de fumonisina B₁ y moniliformina, así como fumonisina B₁ purificada sola o en combinación con moniliformina purificada. En los tratamientos en que emplearon únicamente fumonisina B₁ (125 y 274 ppm/ kg de alimento) reportaron elevación moderada de la ALP (fosfatasa alcalina), AST y ALT (alaninaminotransferasa) y elevación significativa ($p < 0.05$ - 0.01) de GGT (gama glutamil transferasa), con disminución en la concentración de glucosa, elevación del ácido úrico y nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), incremento en los valores de colesterol, incremento en las globulinas, disminución en los eritrocitos (RBC), hematocrito, la hemoglobina (Hb) y los leucocitos.

Li *et al* (1999) utilizaron cuatro tratamientos a los cuales añadieron material de cultivo de *Fusarium moniliforme* con niveles conocidos de fumonisina B₁ (0, 50, 100 y 200 ppm/Kg de alimento) y encontraron que no hubo diferencia significativa en la ganancia de peso, consumo e índice de conversión en comparación con los pollos del tratamiento control. En los pollos alimentados con 200 ppm/Kg de alimento del cultivo, encontraron que 180 minutos después de una inyección intravenosa de *E. coli*, hubo una eliminación sistémica retardada de la bacteria; los pollos alimentados con 100 ppm/Kg de alimento de fumonisina tuvieron más unidades formadoras de colonias (UFC) en sangre que los pollos del grupo control ($p < 0.05$), ambos tratamientos se acompañaron de un número incrementado de bacterias en hígado y bazo, lo que indicó que la capacidad de los pollos para eliminar a la bacteria del organismo estaba afectada debido a una disminución en la capacidad de lisis y fagocitosis del sistema retículo endotelial ocasionada por la acción de las fumonisinas. Por último, se encontró una disminución significativa ($p < 0.05$) en el título de anticuerpos ante la revacunación contra la enfermedad de Newcastle en los pollos que recibieron 200 ppm/Kg de alimento con fumonisina B₁.

Del Bianchi *et al* (2005) utilizaron 10 ppm/ Kg de alimento de fumonisina B₁ sola o en combinación con diferentes concentraciones de aflatoxina B₁. En los tratamientos en los cuales utilizaron únicamente fumonisina B₁ no reportaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en eritrocitos, hematocrito, concentración de hemoglobina, conteo leucocitario, enzimas séricas (ALP, AST, ALT, GGT), proteínas totales, albúmina, urea, creatinina, ácido úrico y colesterol, ni en el peso relativo de los órganos ($p > 0.05$). En el análisis

histológico se reportó en hígado, degeneración vacuolar e hiperplasia de los conductos biliares con fibrosis e infiltrado de células mononucleares.















***Eimeria spp* (eimeriosis, coccidiosis aviar)**

Etiología

La coccidiosis aviar es la enfermedad parasitaria que tiene el mayor impacto económico en la producción avícola. El costo anual mundial en pérdidas por coccidiosis se ha estimado en alrededor de 800 millones de dólares, estas pérdidas incluyen mortalidad, mala absorción de nutrientes, ineficiente utilización del alimento, disminución de la tasa de crecimiento y pobre pigmentación así como la necesidad de medicación profiláctica (Allen y Fetterer, 2002, Saif *et al*, 2008). Esta enfermedad es causada por protozoarios del género *Eimeria*, pertenecientes al phylum *Aplicomplexa* y a la familia *Eimeriidae*; estos parásitos presentan ooquistes con cuatro esporoquistes y a su vez, cada esporoquiste contiene dos esporozoitos y un ciclo de vida monóxeno. Actualmente se citan siete especies de *Eimeria* que parasitan al pollo de engorda: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* y *E. tenella* (Cordero *et al*, 1999). Los criterios principales para la identificación de las diferentes especies se muestran en el **cuadro 3**.

De estas especies *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, y *E. tenella* se consideran como virulentas al producir manifestaciones clínicas características, lo que las hace fácilmente identificables y sus rangos de virulencia varían de moderada a severa. Por otra parte *E. mitis* y *E. praecox* no producen mortalidad o lesiones características, sin embargo, las infecciones experimentales dan como resultado enteritis, diarrea y eficiencia alimenticia reducida, lo que indica que su presencia puede ocasionar diversas pérdidas económicas. Las especies de *Eimeria* presentan una marcada especificidad de hospedador, se asientan en regiones intestinales particulares y generan una inmunidad celular y humoral específica (Cordero *et al*, 1999; Allen y Fetterer, 2002).

Cuadro 3. Características diferenciales para siete especies de *Eimeria* de las aves.

	<i>E. acervulina</i>	<i>E. brunetti</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. mitis</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. praecox</i>	<i>E. tenella</i>	
Lesiones macroscópicas	Zona parasitada							
	Tipo de lesiones	Infección leve: lesiones redondas blanquecinas Infección grave: lesiones coalescentes, engrosamiento de la pared intestinal.	Necrosis coagulativa, enteritis hemorrágica en colon, recto y ciegos.	Engrosamiento de la pared intestinal, exudado mucohemorrágico, petequias.	No hay lesiones, exudado mucoide	Manchas blancas (esquizontes), petequias, exudado mucoide hemorrágico.	No hay lesiones, exudado mucoide	Hemorragia en el lumen seguida de engrosamiento, mucosa blanquecina, excretas sanguinolentas.
Características microscópicas	Micrometros	10 20 30	10 20 30	10 20 30	10 20 30	10 20 30	10 20 30	
	Ooquistes							
	Largo x Ancho µm Largo µm Ancho	X= 18.3 x 14.6 17.7 - 20.2 13.7 - 16.3	X= 24.6 x 18.8 20.7 - 30.3 18.1 - 24.2	X= 30.5 x 20.7 21.5 - 42.5 16.5 - 29.8	X= 15.6 x 14.4 11.7 - 18.7 11 - 18	X= 20.4 x 17.2 13.2 - 22.7 11.3 - 18.3	X= 21.3 x 17.1 19.8 - 24.7 15.7 - 19.8	X= 22 x 19 19.5 - 26 16.5 - 22.8
	Forma del ooquiste Índice Largo/ Ancho	ovoide 1.25	ovoide 1.31	ovoide 1.47	Subesférico 1.09	Ovoide oblongo 1.19	ovoide 1.24	ovoide 1.16
	Esquizonte (Max en µm)	10.3	30	9.4	15.1	65.9	20	54
Otras características	Localización del parásito	Epitelial	Esquizontes de 2 generación Subepitelial	Gametocitos Subepitelial	Epitelial	Esquizontes de 2 generación Subepitelial	Epitelial	Esquizontes de 2 generación Subepitelial
	Periodo prepatente (hrs.)	97	120	121	93	138	83	115
	Tiempo de esporulación (hrs.)	17	18	30	15	18	12	18

Modificado de Conway y McKenzie, 2007

Epidemiología

La aparición y desarrollo de coccidiosis depende de una compleja interacción multifactorial. Al tratarse de una enfermedad que se transmite mediante la ingestión de ooquistes eliminados en las heces y que han esporulado en el suelo, la tasa de difusión de la enfermedad depende de la densidad de población de los hospedadores, intervalo de tiempo que se mantienen las heces contaminadas y de la facilidad del hospedador para acceder a estas, así como el periodo de espera entre parvadas y una limpieza inadecuada de las instalaciones (Cordero *et al*, 1999; Taylor *et al*, 2007).

Ocurre una interacción dinámica entre la adquisición de inmunidad de la parvada mediante la infección gradual de los animales, en donde usualmente la inmunidad se adquiere sin que se presente un cuadro clínico de la enfermedad, la excreción de ooquistes se reduce y esto lleva a una caída en la cantidad de ooquistes en la cama. Desde el momento en que las aves se infectan comienza una rápida multiplicación del parásito (alto potencial biótico) y una semana después, una gran excreción de ooquistes (corto periodo prepatente). Si el balance se altera por factores que favorezcan al parásito, como un alto grado de ooquistes en la cama y/o condiciones de esporulación ideal, gran cantidad de ooquistes infectantes serán ingeridos por aves no inmunes y esto resultará en enfermedad, lo que ocurre comunmente de la 3^{ra} a la 6^a semana. También se deben tomar en cuenta otros factores como el tipo de aves criadas, sensibilidad de la raza (estirpe) a la enfermedad, estado de salud inicial, inmunidad adquirida e interacción con otras enfermedades, nutrición del animal, diseminación por el polvo, sistemas de ventilación, trabajadores e invertebrados (Taylor *et al*, 2007; Pattison *et al*, 2008).

Ciclo de Vida

El ciclo biológico de *Eimeria spp.* (**figura 4**) comienza con la ingestión de ooquistes esporulados, la pared de los ooquistes se rompe mediante la acción mecánica del ventriculo y la acción del dióxido de carbono que altera la permeabilidad de la membrana del ooquiste y permite el paso de las sales biliares, lo que libera los esporoquistes. La acción de las sales biliares y enzimas (tripsina, quimiotripsina) altera la superficie del esporoquiste (cuerpo de Stieda) lo que desencadena que los esporozoitos abandonen los esporoquistes mediante movimientos activos.

Los esporozoitos penetran en las células epiteliales mediante el complejo apical o son transportados dentro de los linfocitos intraepiteliales a través de la lámina propia a las criptas de Lieberkühn, dicha migración es común en *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix* y *E. tenella*. En *E. brunetti* y *E. praecox* no se da la migración de los esporozoitos del epitelio a las criptas. Una vez que el esporozoito penetró en el enterocito, este se transforma en trofozoíto, el cual por división nuclear reiterada (esquizogonia) origina un esquizonte de primera generación que al romperse produce la liberación de los merozoitos de primera generación, los cuales solo colonizan células que se encuentren en su vecindad debido a la escasa movilidad que presentan. Estos merozoitos nuevamente se dividen y dan lugar a esquizontes de segunda generación.

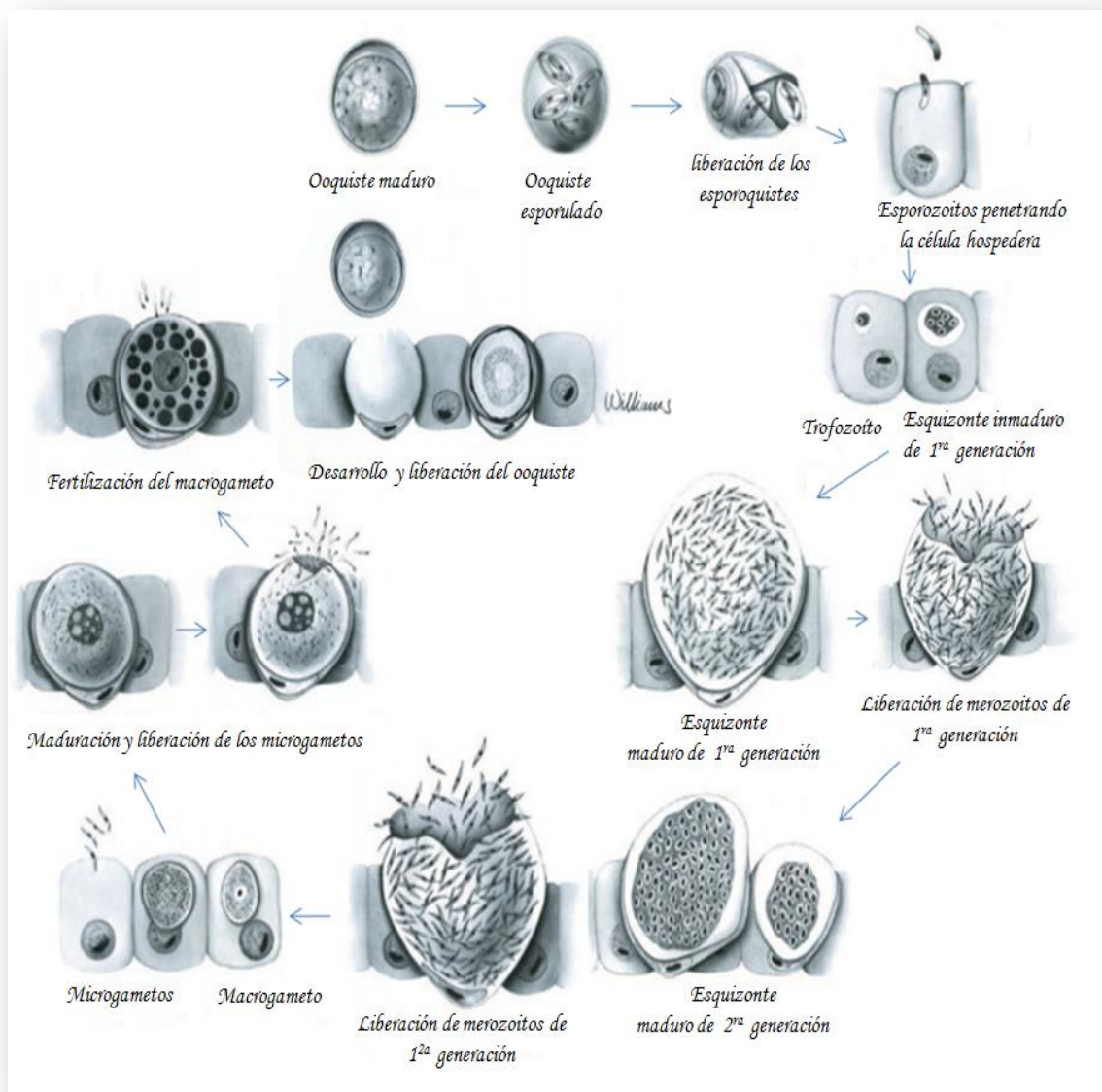


Figura 4 . Ciclo de vida de *Eimeria* spp. Modificado de Conway y McKenzie, 2007.

El número de esquizogonias, tamaño de los esquizontes, número de merozoitos que contienen, localización, tiempo de aparición, etc son dependientes de la especie de *Eimeria*. Una vez que se desarrollaron las esquizogonias, los merozoitos colonizan nuevas células epiteliales para diferenciarse en gametocitos. Parece ser que los merozoitos se desarrollan como machos o hembras de acuerdo al número de gránulos de polisacáridos o de mitocondrias que contienen, al desarrollo de retículo endoplásmico y la presencia o no de vacuolas nutricias. El merozoito que se desarrolla como macho evoluciona a microgamonte, el cual se multiplica por mitosis y origina una multitud de microgametos flagelados. El merozoito que se desarrolla como hembra evoluciona a macrogamonte y posteriormente a macrogameto. Los microgametos fecundan a los macrogametos originando un cigoto. La fusión de los cuerpos de envoltura I y II del macrogameto da lugar a las capas externas del ooquiste no esporulado. La célula que alberga al ooquiste se rompe y este alcanza la luz intestinal, siendo eliminado en las heces (Cordero *et al*, 1999; Allen y Fetterer, 2002; Saif *et al*, 2008).

Patogenia

El desarrollo de los parásitos en las células del hospedero involucra etapas de multiplicación asexual y sexual. La destrucción del epitelio intestinal del hospedero como resultado del desarrollo y multiplicación del parásito lleva a distintas manifestaciones clínicas observadas en los brotes de la enfermedad. El desarrollo de las distintas especies de *Eimeria* incluye variaciones mínimas (Conway y McKenzie, 2007).

En base al poder patógeno de cada especie de *Eimeria*, el cual radica en diversos factores propios de la especie como el número y el tamaño de las esquizogonias, localización de las mismas y la velocidad a la que ocurren en combinación con los factores propios del hospedero (edad, nutrición, estado inmunitario, etc) se desarrollan diversos efectos fisiopatológicos que están originados básicamente por el lugar de desarrollo de las distintas especies de *Eimeria* y la destrucción masiva del epitelio intestinal, afectando al intestino delgado, al intestino grueso o los ciegos, dependiendo de la especie que está presente (Cordero *et al*, 1999).

Lo anterior desencadena efectos en el hospedero como reducción en el consumo de alimento y agua; así como en la ganancia de peso y conversión alimenticia, incremento en

el tiempo de pasaje intestinal, disminución en la viscosidad de las excretas, disminución en la digestión de nutrientes y mala absorción intestinal de los mismos, atrofia de vellosidades, pérdida intestinal de proteínas plasmáticas, así como una deficiente absorción de agua y electrolitos en la porción final del tracto gastrointestinal (Williams, 2005).

Cuadro clínico y lesiones

El cuadro clínico y las lesiones relacionadas con la coccidiosis aviar están determinados por diversos factores como edad del hospedero, estado inmunológico frente al parásito, nutrición, cantidad de ooquistes ingeridos, especie de *Eimeria* involucrada, relación con otras enfermedades, entre otros (Cordero *et al*, 1999).

Las lesiones en la coccidiosis aviar se evalúan mediante la escala de Johnson y Reid (1970). Dicha escala se basa en el desarrollo de una técnica para proveer un grado numérico de la lesión intestinal ocasionada por el parásito. Dicha escala comprende los números 0 al +4, en donde 0 equivale a la ausencia de lesiones y +4 a las lesiones más severas (Conway y McKenzie, 2007).

Coccidiosis intestinal

Debido a que *E. brunetti* y *E. necatrix* presentan una baja capacidad reproductiva y no son capaces de competir con las demás especies de *Eimeria*, estas afectan aves mayores de 9-14 semanas. Las especies de *Eimeria* que afectan al pollo de engorda típicamente son *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. praecox* y *E. tenella* (Saif *et al*, 2008).

E. acervulina invade el asa duodenal del intestino delgado y en infecciones graves se puede extender al yeyuno e íleon. En las infecciones leves se observan bandas blanquecinas transversales que no coalescen y que pueden ser vistas desde la superficie serosa o mucosa, localizándose en duodeno (corresponden a grados +1 y +2). En las infecciones más severas, las lesiones coalescen y las paredes intestinales se tornan engrosadas, congestionadas y con exudado mucoide blanquecino (grados +3 y +4). En infecciones leves, los signos clínicos ocurren 3 días después de la ingestión de ooquistes, estos incluyen pérdida de pigmentación de la piel, disminución ligera en la ganancia de peso y consumo de alimento. En infecciones severas se observa una disminución

significativa del consumo de alimento y ganancia de peso, así como depresión y diarrea (Conway y McKenzie, 2007; Taylor *et al*, 2007).

E. maxima invade la porción media del tracto intestinal, desde la porción posterior del asa duodenal hasta el remanente del saco vitelino (yeyuno). En infecciones leves (+1, +2) se observan petequias en la serosa, yeyunitis catarral y engrosamiento leve o inexistente de la pared intestinal. En infecciones graves (grados +3, +4) se observa inflamación y engrosamiento de la pared intestinal, la mucosa se encuentra irregular y el contenido intestinal presenta desde puntilleos, hasta coagulos de sangre y moco. En las infecciones leves se observa pérdida de pigmentación de la piel y disminución leve de la ganancia de peso, en infecciones severas las aves presentan emaciación extrema, anorexia y diarrea (Taylor *et al*, 2007, Saif *et al*, 2008).

E. mitis y *E. praecox* se consideran especies poco virulentas porque las lesiones solo incluyen un exudado catarral. Los signos clínicos incluyen una leve pérdida de peso y disminución en el consumo de alimento (Taylor *et al*, 2007).

Coccidiosis cecal

E. tenella se considera como una de las especies más virulentas, invade los ciegos y en algunos casos puede llegar a invadir las porciones intestinales cercanas a la unión ileocecal. En casos leves (grado +1) se observan petequias diseminadas desde la mucosa o serosa del órgano. En casos de leve a moderado (grado +2), se observa un sangrado marcado en la superficie mucosa y existe un engrosamiento leve de la pared intestinal, el contenido cecal tiene características normales, salvo por la presencia de sangre. En casos moderados a severos (grado +3) el sangrado es más severo, el contenido cecal se combina con la sangre y forman los moldes cecales (granulomas) , también se aprecia un engrosamiento marcado de la pared cecal y la mucosa se encuentra erosionada. En casos severos (grado +4) se observa un sangrado severo, la pared cecal mucho más engrosada y erosionada, así como los ciegos inflamados y llenos de sangre. Los signos clínicos son leves en las infecciones ligeras, e incluyen leve caída en el consumo de alimento y agua, en casos +2 los signos comienzan a hacerse más evidentes, hay disminución significativa del consumo de alimento y ganancia de peso. En casos +3, hay anorexia, hipotermia, amontonamiento y diarrea sanguinolenta. En casos +4, hay un cese total del consumo de

agua y alimento y comienza a observarse mortalidad a partir del quinto día post-infección (Conway y McKenzie, 2007) .

Interacción entre micotoxinas y *Eimeria spp*

Marcano *et al* (2005) estudiaron la interacción entre AFB₁ a concentraciones de 20 ppm/Kg de alimento y 200 ppm/Kg de alimento y *Eimeria acervulina*. Encontraron que con el nivel menor de AFB₁ se presentó un aumento de la patogenicidad del parásito.

Koynarski *et al* (2007) estudiaron la interrelación entre ocratoxina A (4 ppm /Kg de alimento) y *Eimeria acervulina* , encontrando que en los pollos a los cuales se les ofreció el alimento contaminado ante un desafío simultáneo con *E. acervulina* los signos clínicos, cambios macroscópicos e histopatológicos, depresión del crecimiento y funcionamiento renal anormal se observaron exacerbados.

Girgis *et al* (2008) estudiaron el efecto del deoxinivalenol (DON, 15-acetil DON) en pollos infectados con *E. acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella*. Observaron una disminución en el conteo de monocitos y un aumento de Ig A sérica al final del periodo de desafío seguido de una caída en la concentración del anticuerpo al final del período de recuperación.

Como se puede observar en los trabajos realizados enfocados en la interacción entre *Eimeria spp* y micotoxinas, estas últimas impactan de manera negativa en la respuesta inmunológica, crecimiento corporal e integridad de los órganos, favoreciendo el establecimiento del parásito. La interacción entre micotoxicosis y la coccidiosis aviar es difícil de demostrar en campo y dada la importancia que presentan ambos padecimientos, aunado al carácter intensivo de las prácticas avícolas, es necesario esclarecer la repercusión resultante de los vínculos entre ambos padecimientos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, UNAM, con domicilio en la Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5, Col. San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, CP. 54714. Los animales fueron alojados en la unidad de aislamiento de la sala de necropsias de Patología, de la sección de Ciencias de la Salud Animal.

Animales de experimentación.

Se utilizaron 60 pollitos de 1 día de edad de la estirpe Ross x Ross, obtenidos de una incubadora comercial. Se pesaron y distribuyeron aleatoriamente formando 4 tratamientos con pesos homogéneos, cada tratamiento tuvo dos repeticiones. Se designaron de la siguiente manera: Testigo negativo (**TN**), expuesto a fumonisina (**F**), expuesto a la infección por *Eimeria spp* (**C**) y expuesto a la infección por *Eimeria spp* más fumonisina (**CF**). Los grupos **TN** y **F** fueron alojados en jaulas elevadas (61.5 cm de largo, 45 cm ancho, 39.5 cm de alto) y cada repetición contenía 8 animales, la razón de mantenerlos en jaulas elevadas, fue evitar el contacto con el piso y de esta manera minimizar el riesgo de contaminación con *Eimeria spp*. Los tratamientos **C** y **CF** fueron alojados en piso, en corraletas (1.13 m de largo, 90 cm de ancho, 85 cm de alto) con cama de viruta de madera de aproximadamente 6 cm de grosor y cada repetición contenía 7 animales por grupo. El periodo experimental tuvo una duración de 35 días.

Alimento.

Se les ofreció una dieta basal que reuniera los requerimientos nutricionales conforme al NRC (1994), desde el día uno hasta el término del experimento. El alimento (sin coccidiostatos) y el agua fueron suministrados *ad libitum* a todos los grupos. Se realizó el análisis del alimento mediante el uso de columnas de inmunoafinidad para determinar la presencia de aflatoxinas^I y de ocratoxina A^{II} (ver Apéndice I).

^I Kit AflatestTM para la determinación de aflatoxinas, de laboratorios VICAM.

^{II} Kit OchratestTM, para la determinación de ocratoxina A, de laboratorios VICAM.

El alimento de los grupos **F** y **CF** se ajustó previamente a 3 ppm de fumonisinas. Los animales consumieron una dieta de inicio las primeras dos semanas, a la semana tres se realizó el cambio a una dieta de crecimiento.

Producción de fumonisinas.

Se pesaron 200 g de arroz en un matraz y se ajustó a 34% de humedad agregando 68.18 ml de agua destilada. Se agitó vigorosamente el arroz para favorecer la absorción de agua por el grano. Se dejó reposar 24 horas. Transcurrido este tiempo se esterilizó el arroz. Una vez esterilizado se procedió a la siembra de *Fusarium moniliforme*. De un cultivo de *F. moniliforme* cepa L-1892 en agar papa-dextrosa (PDA), se hicieron cortes de 1cm² y se añadieron al arroz estéril. Se agregó media caja de agar por cada 200g de arroz. Se agitó vigorosamente y se dejó reposar a temperatura ambiente (25 °C) en un lugar con poca luz por 60 días. Los primeros 5 días el arroz se agitó diario, transcurrido este tiempo ya no fue necesario agitar y se dejó reposar el grano inoculado (Dilkin *et al*, 2002).

Una vez transcurrido dicho tiempo se esterilizaron los cultivos de *Fusarium* y se llevó a cabo la determinación de fumonisinas B₁ y B₂^{III} por el método de columnas de inmunoadfinidad (ver Apéndice I).

Inóculo e infección.

Se utilizó un inóculo mixto de *Eimeria* de mediana virulencia obtenido de un caso clínico de campo. Las especies presentes en el inóculo fueron *E. tenella* (41%), *E. acervulina* (32%), *E. mitis* (24%) y *E. máxima* (2.9%), con un 75% de esporulación (ver Apéndice II).

^{III} Kit FumoniTestTM para la determinación de fumonisinas B₁ y B₂ de laboratorios VICAM.

Los ooquistes suspendidos en dicromato de potasio al 2.5% fueron lavados por cinco ocasiones con agua destilada y posteriormente centrifugados^{IV} a 3500 rpm por 4 min., posteriormente se desinfectaron con diez mililitros de cloro comercial^V, con una concentración de 6% de hipoclorito de sodio, por 10 min. Transcurrido ese tiempo, nuevamente se realizaron dos lavados y dos centrifugados bajo las mismas condiciones, para eliminar el exceso de cloro. (Tomley, 1997)

De la suspensión obtenida del proceso de lavado y centrifugado se realizó el conteo de ooquistes^{VI} para ajustar la dosis infectante de *Eimeria*. La metodología que se siguió fue primeramente realizar diez conteos de ooquistes tomando 10 μ l^{VII} del inóculo y a continuación ajustar la cantidad a una dosis de 100,000 ooquistes esporulados/ave (ver Apéndice II). Al día 15 del experimento se inocularon *per os* 100 000 ooquistes por ave a los animales de los tratamientos **C** y **CF**. La tasa de eliminación de ooquistes se evaluó semanalmente mediante la técnica de Mc Master. (Juárez *et al*, 2007)

Variables productivas.

El peso de las aves se obtuvo semanalmente^{VIII}, desde el día uno hasta el día 35. El consumo de alimento también se evaluó de manera semanal^{IX}. Las fórmulas utilizadas para la determinación de cada variable se describen a continuación (Quintana, 1991):

Consumo de alimento semanal: Kg de alimento consumido semanal entre número de aves.

Incremento de peso semanal: Peso actual de las aves menos el peso de la semana anterior.

Peso medio semanal por ave: Peso de las aves entre el número de aves pesadas.

Índice de Conversión semanal: Kg de alimento consumido por semana entre la ganancia de peso semanal.

^{IV} Centrifuga Eppendorf 5403.[®]

^v Clorox.[®]

^{VI} Microscopio Leica, Modelo CME, objetivo de 10x.[®]

^{VII} Pipetman ultra, Gilson 5-20 μ l[®]

^{VIII} Báscula Excell, Max. 5000g, d= 1g.

^{IX} Báscula OHAUS Scout Pro, Max. 400g.

Evaluación de las alteraciones morfológicas macroscópicas.

Para la evaluación macroscópica de los órganos, al término del experimento se pesaron los animales ^{VIII}, se identificaron de acuerdo al tratamiento y se realizó el sacrificio humanitario mediante dislocación cervical, de acuerdo a la NOM-033-ZOO-1995. Los órganos colectados fueron hígado, riñón, bazo, bolsa cloacal e intestino (duodeno, yeyuno-íleon y ciegos), los cuales fueron pesados^X para posteriormente determinar el peso relativo de los órganos expresado como porcentaje o g de órgano/100g de peso vivo. (Del Bianchi *et al*, 2005).

Evaluación de las alteraciones morfológicas microscópicas.

Para la evaluación microscópica de los órganos citados anteriormente, se tomaron fragmentos de 1cm³, los cuales se colocaron en formalina amortiguada al 10% por un periodo mínimo de 24 horas para su posterior procesamiento, mediante inclusión en parafina y corte a 5 µm, después se utilizó la tinción con Hematoxilina-Eosina. Los cortes histológicos fueron observados al microscopio^{XI} con los objetivos de 10x, 20x y 40x, asignándoseles una escala de lesión del cero al tres, en donde “0” significa sin cambios patológicos aparentes (SCPA), “1” leve, “2” moderado y “3” severo. Se revisaron mínimo tres especímenes de cada uno de los órganos colectados por tratamiento, y en cada caso se revisaron cinco campos de manera aleatoria; el procedimiento de revisión se realizó por dos personas para disminuir la variabilidad de los resultados.

Hematología y química sanguínea.

Se realizaron 2 muestreos en el transcurso del experimento. El primer muestreo se realizó seis días post inoculación con *Eimeria spp*, cuando las aves tenían 21 días de edad. Se muestrearon tres aves del tratamiento **TN**, cinco aves del tratamiento **F** y cuatro aves de los tratamientos **C** y **CF**. El segundo muestreo se realizó al final del experimento, 20 días post inoculación; se tomaron muestras de seis aves por cada tratamiento.

^X Báscula Sartorius TE 313s, Max. 310 g, d=0.001.

^{XI} Microscopio Olympus BH-2

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción cardiaca (Javed *et al*, 1995). Se colectaron en total 4 ml de sangre, 1ml se mezcló con anticoagulante (EDTA) para la posterior determinación del hematocrito y 3 ml sin anticoagulante para obtener suero y realizar la determinación sérica de proteínas totales, albúmina, globulinas, AST, ALT y GGT.

La sangre con EDTA se empleó para realizar el microhematocrito. Para esto, por cada tratamiento se llenaron cuatro tubos capilares para microhematocrito (sin anticoagulante), aproximadamente a 3/4 de su capacidad y se selló uno de los extremos de cada tubo capilar con calor. Una vez llenos, los tubos se centrifugaron ^{XII} a 2500 rpm por 10 minutos, transcurrido ese tiempo se llevó a cabo la determinación con la ayuda un lector de microhematocrito ^{XIII}, obteniendo los resultados expresados como porcentaje.

La sangre sin anticoagulante se centrifugó ^{XII} a 2500 rpm por 10 minutos, transcurrido este lapso el suero se recolectó y se congeló a -20 °C hasta su empleo final. El análisis de enzimas séricas, proteínas y bilirrubinas se realizó con el apoyo del laboratorio de análisis clínicos DIVET[®]. El equipo empleado fue un analizador automático ^{XIV}. Los kits comerciales empleados fueron para la determinación de AST,^{XV} ALT,^{XVI} GGT,^{XVII} bilirrubinas ^{XVIII} y proteínas. ^{XIX}

^{XII} Centrífuga Hamilton Bell, Vanguard V6500

^{XIII} Lector de microhematocrito Solbat L-10

^{XIV} Analizador automático A15 de Biosystems[®]

^{XV} Kit Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) Ref. 11531 de Biosystems[®]

^{XVI} Kit Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Ref. 11533 de Biosystems[®]

^{XVII} Kit Gamma Glutamyltransferase (γ -GT) Ref. 11520 de Biosystems[®]

^{XVIII} Kit Bilirubin (Total and Indirect) Ref.11515 de Biosystems[®]

^{XIX} Kit Proti 2 (Proteínas Totales y Albúmina) de Wiener Lab.[®]

Prueba de tránsito gastrointestinal

Se realizaron dos pruebas de tránsito gastrointestinal, al día 14 de edad (previo a la infección con *Eimeria*) y al día 34 de edad. Las pruebas consistieron en medir la diferencia de tiempo en minutos^{XX} entre la administración de un agente marcador (cápsulas de gelatina con óxido férrico 200 mg/Kg de peso de las aves) y su posterior aparición en heces. Para la realización de la prueba, se tomaron seis aves por tratamiento y se les administró vía oral el agente marcador, posteriormente se colocaron en jaulas limpias en donde permanecieron hasta obtener las lecturas. Una vez obtenidos los resultados, las aves se regresaron al alojamiento de sus tratamientos correspondientes. (Juárez *et al*, 2007)

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando un ANOVA completamente al azar de una vía para el peso corporal, consumo de alimento, ganancias de peso, índice de conversión, variables enzimáticas y tiempo de tránsito gastrointestinal; las medias se compararon con la prueba de Tukey. Para las variables que miden la severidad de las lesiones hepáticas, renales, intestinales, bursales y esplénicas, se utilizó una estadística no paramétrica y la comparación de medias se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis. Los datos fueron analizados mediante el uso de un software estadístico^{XXI}, con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

^{XX} Timer digital EAI T-20

^{XXI} Software Statgraphic 5.0®

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Alimento

En general, las concentraciones de micotoxinas encontradas en el alimento fueron bajas. La concentración de aflatoxinas en el alimento comercial utilizado fue de 50 ppb/Kg de alimento y la de ocratoxina A fue de 125 ppb/Kg de alimento.

Los resultados obtenidos de la determinación de AFB₁ y ocratoxina A son concentraciones consideradas bajas. Girish y Smith, (2008) mencionan que las concentraciones de micotoxinas por debajo de 1 ppm/Kg de dieta no producen efectos adversos en los animales bajo condiciones de experimentación. Sin embargo, otros investigadores (Arrieta y *col.*, 2006; Girish y Smith, 2008) consideran que concentraciones bajas, como las encontradas en el alimento, en condiciones de granja podrían llegar a afectar la salud de las aves, haciéndolas susceptibles a distintas enfermedades, teniendo como consecuencia pérdidas económicas en la industria avícola. Ghosh *et al* (1991) encontraron afectación en el sistema inmune celular en pollos de engorda alimentados con AFB₁ a concentraciones de 300 a 1000 ppb/Kg de alimento por seis semanas, por otra parte, Elaroussi *et al* (2006) encontraron disminución en la respuesta inmune humoral y celular en pollos de engorda alimentados con concentraciones de ocratoxina A de 400 a 800 ppb/Kg de alimento por cinco semanas.

De lo anterior podemos concluir que el efecto de las concentraciones de micotoxinas detectadas en el alimento, pudieron llegar a tener un efecto mínimo en los animales de todos los tratamientos empleados en el presente estudio. Es difícil encontrar alimentos libres de micotoxinas, ya que los granos utilizados para su elaboración generalmente se encuentran contaminados por más de una micotoxina, como lo ha reportado la FAO (1994).

Infección

Cuatro días después de la inoculación con *Eimeria spp.* dieron inicio los primeros signos clínicos de la enfermedad en los animales de los tratamientos **C** y **CF**, a los cuales se les provocó la infección. Los pollitos mostraron depresión, plumaje erizado, amontonamiento y disentería. Al día seis postinoculación murieron dos animales del tratamiento **C** y dos animales del tratamiento **CF**, a la necropsia los cuatro animales

mostraron lesiones 4+ por *E. tenella*, tomando como referencia la escala de Johnson y Reid (1970).

Los resultados del promedio de las lecturas de Mc Master se muestran en el **cuadro 4**. Se observó que en los animales alimentados con fumonisinas e infectados con *Eimeria spp*, la eliminación de ooquistes fue mayor respecto a los animales a los que solo se infectó con *Eimeria spp*.

Cuadro 4. Eliminación promedio semanal de ooquistes en el transcurso del experimento.

Ooquistes/ g de heces				
Tratamientos	Semana 1	Semana2	Semana 3	Semana 4
TN	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
F	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
C	Negativo	Negativo	11600	4250
CF	Negativo	Negativo	123800	8375

TN= Testigo Negativo, F= expuesto a fumonisina, C= expuesto a *Eimeria spp*, CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina.

Como se observa en el cuadro 4, los tratamientos que no recibieron la inoculación con ooquistes de *Eimeria spp*. no presentaron eliminación de ooquistes las primeras cuatro semanas, como era de esperarse; los tratamientos que fueron infectados si mostraron eliminación de ooquistes, siendo esta eliminación mayor al estar presente la fumonisina. Un estudio similar al que se presenta aquí fue realizado por Girgis *et al* (2008), en donde se evaluó la eliminación de ooquistes en animales a los cuales se administraron dos concentraciones de deoxinivalenol (DON), de 2.5 y 3.8 ppb/Kg de alimento y fueron infectados con *E. acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella*. Encontraron que al estar presentes dichas concentraciones de DON no hubo ningún efecto en la eliminación de ooquistes.

Yun *et al* (2000) describe que la respuesta inmune montada en las infecciones por *Eimeria spp* es principalmente de tipo celular, con menor participación humoral. La depleción observada en bazo y bolsa cloacal en el presente trabajo, pudo ocasionar cierto grado de inmunodepresión, lo que acarreo una mayor eliminación de ooquistes en las aves alimentadas con fumonisinas, como se describe por Cordero *et al* (1999).

Dicho incremento en la eliminación de ooquistes en las aves expuestas a fumonisinas, también se puede correlacionar con lo descrito por Oswald (2003) y Bohuet *et al* (2004), trabajos en donde se demostró que la presencia de fumonisinas disminuye la resistencia eléctrica transepitelial (TEER), propiedad que brinda al epitelio intestinal la función de barrera, favoreciendo el establecimiento de diversos agentes patógenos, en este caso *Eimeria spp.*

Variables productivas

Peso corporal

Los pesos corporales promedio de los pollitos al día uno y semanal se observan en el **cuadro 5**. Los animales iniciaron con un peso similar entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la semana uno el peso corporal de los animales de los grupos **TN** y **F** fue similar ($p < 0.05$), sin embargo fue estadísticamente diferente de **C** y **CF**, quienes presentaron mayor peso. En la semana dos, el peso de los animales entre los tratamientos **TN**, **F** y **C** no presentó diferencia estadística, pero difirió estadísticamente ($p < 0.05$) del peso de los animales del tratamiento **CF**, quienes presentaron los pesos mayores.

En la semana tres, tras presentarse la infección aguda por coccidia, el peso corporal entre los tratamientos infectados **C** y **CF** no presentó diferencia estadística ($p < 0.05$), sin embargo los pesos fueron más bajos comparados con los tratamientos **TN** y **F**, a los cuales no se infectó. A la semana cuatro, el peso corporal de los tratamientos **C** y **CF** no presentó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre ellos, y fueron los que presentaron los pesos promedio menores, **TN** y **F** fueron estadísticamente diferentes entre sí y respecto al resto de los tratamientos, siendo este último quién obtuvo un mayor peso promedio.

Al día 35, el tratamiento **F** fue quién alcanzó un mayor peso promedio, sin embargo no hubo diferencia estadística del tratamiento **TN**, y a su vez, ambos tratamientos fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) de **C** y **CF**, siendo estos últimos tratamientos quienes presentaron los pesos finales menores.

Cuadro 5. Peso corporal promedio semanal de las aves durante el periodo experimental.

Tratamiento	Gramos de peso corporal					
	Día 1	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4*	Semana 5**
TN	42.3 ± 1.12 ^a	120.2 ± 4.4 ^a	368.6 ± 10.7 ^a	501.5 ± 12.0 ^{bc}	736.3 ± 18.6 ^b	975.1 ± 39.4 ^{bc}
F	43.2 ± 0.69 ^a	131.9 ± 4.4 ^a	383.5 ± 10.7 ^a	525.2 ± 12.0 ^c	798.6 ± 19.2 ^c	1073 ± 39.4 ^c
C	42.5 ± 1.48 ^a	160.8 ± 4.7 ^b	384 ± 11.5 ^a	460.7 ± 13.5 ^a	586.2 ± 24.8 ^a	769.6 ± 39.4 ^a
CF	43.4 ± 0.94 ^a	170.8 ± 4.7 ^b	430.9 ± 11.5 ^b	478 ± 13.58 ^{ab}	636.4 ± 23.5 ^a	872.5 ± 39.4 ^{ab}

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 16,6**), F=expuesto a fumonisina (n= 16,15*,6**), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 14,9*,6**), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n= 14, 10*,6**).

De manera general los resultados obtenidos de los tratamientos **TN** y **F** concuerdan con los obtenidos por Li *et al* (1999), Henry *et al* (2000), Broomhead *et al* (2002), Del Biachi *et al* (2005), quienes trabajaron con diferentes concentraciones de fumonisina en la dieta de pollos de engorda y demostraron que no hay un efecto negativo en las variables productivas de los animales alimentados o no con fumonisinas a concentraciones bajas. En los tratamientos **C** y **CF**, solo se apreció efecto negativo de las fumonisinas en las variables productivas en la semana en que se presentó la fase aguda de la infección por *Eimeria spp*.

El peso corporal se mantuvo de manera general, sin diferencia entre los tratamientos **TN** y **F** a lo largo del experimento, el mismo comportamiento se observó en los tratamientos **C** y **CF**, pero al igual que en la ganancia de peso, los pesos corporales fueron menores respecto a los otros tratamientos. La disminución en el peso corporal de los tratamientos **C** y **CF** a partir de la semana tres fue ocasionada por la infección con *Eimeria spp*, como un efecto de la disminución en la ganancia de peso aunado a un incremento en el catabolismo muscular, como se reporta por Conway *et al* (1990), Idris *et al* (1997), Fetterer y Allen, (2000, 2001).

A pesar de que no hubo diferencia estadística, la razón por la que se obtuvieron pesos corporales mayores en los tratamientos a los que se suministró fumonisina en la dieta (**F** y **CF**) se debe a que, en la evaluación macroscópica el peso del hígado, riñón e intestino de dichos tratamientos fue mayor respecto a los tratamientos libres de fumonisinas, lo que pudo contribuir con el incremento en el peso obtenido por dichos grupos. Hummes (2006) reporta un trabajo en el cual se administró AFB₁ a pavitos en diferentes concentraciones, con dosis de 20 y 50 ppb/Kg de alimento ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ de alimento) se obtuvieron pesos mayores

que el grupo control, aunque no se reportó diferencia estadística significativa, sin embargo, en el trabajo no se explican la razón de dicho resultado.

Ganancia de peso

En el **cuadro 6** se puede observar la ganancia de peso promedio por grupo; en la semana 1 no se presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos **TN** y **F**, sin embargo, ambos tratamientos fueron diferentes ($p < 0.05$) de **C** y **CF**, siendo estos últimos quienes presentaron una mayor ganancia de peso, esto quizá debido a que los animales de los tratamientos **TN** y **F** se encontraban en un periodo de adaptación a las jaulas en las cuales se mantuvieron en el transcurso del experimento.

En la semana dos la ganancia de peso no presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos.

La ganancia de peso en la semana tres no presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos **TN** y **F**, pero dichos tratamientos fueron distintos ($p < 0.05$) de los tratamientos **C** y **CF**, siendo este último tratamiento quien obtuvo una menor ganancia de peso.

En la semana cuatro no se presentó diferencia significativas ($p < 0.05$) entre **TN** y **F**, siendo este último quién ganó mayor peso, ambos tratamientos fueron estadísticamente distintos ($p < 0.05$) de **C** y **CF**, quienes presentaron menor ganancia de peso sin diferencia estadística ($p < 0.05$) entre ellos.

En la última semana la ganancia de peso no presentó diferencias significativas entre tratamientos.

Cuadro 6. Ganancia de peso promedio semanal de las aves durante el periodo experimental.

Tratamiento	Gramos de peso corporal				
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4*	Semana 5**
TN	77.8 ± 3.52 ^a	248.3 ± 10.94 ^a	132.9 ± 19.65 ^b	234.7 ± 21.49 ^{bc}	254.1 ± 28.12 ^a
F	88.7 ± 3.66 ^a	251.5 ± 9.19 ^a	141.7 ± 14.93 ^b	271 ± 23.3 ^c	262.6 ± 55.62 ^a
C	118.2 ± 6.63 ^b	223.1 ± 18.04 ^a	76.7 ± 17.47 ^{ab}	134.6 ± 29.04 ^a	193.5 ± 26.35 ^a
CF	127.4 ± 3.98 ^b	260 ± 14.42 ^a	47 ± 22.18 ^a	159.1 ± 25.91 ^{ab}	202.3 ± 27.27 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 16,6**), F= expuesto a fumonisina (n= 16,15*,6**), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 14,9*,6**), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n= 14, 10*,6**).

La ganancia de peso entre los tratamientos **TN** y **F** se mantuvo sin diferencia a lo largo del experimento, lo mismo ocurrió los tratamientos **C** y **CF**, sin embargo, la ganancia de peso de estos dos últimos grupos fue menor a partir de la semana tres del experimento, lo que concuerda con la mayor multiplicación de los protozoarios. Los resultados concuerdan con lo reportado por Li *et al* (1999), Henry *et al* (2000), Broomhead *et al* (2002), Del Biachi *et al* (2005), quienes no observaron alteración en la ganancia de peso de los animales alimentados con fumonisinas a concentraciones bajas (50, 20, 25 y 10 ppm/Kg de alimento respectivamente).

La ganancia de peso de los tratamientos **TN** y **F** descendió en la semana tres respecto a la semana anterior debido a que en esta se realizó el cambio de dieta de los animales y se encontraban en una etapa de adaptación a la nueva dieta. Lo anterior aunado al estrés a que se sometieron los animales de todos los tratamientos, debido a que en este periodo se presentó la fase aguda de la infección y los pollos fueron monitoreados con mayor frecuencia; dado que el estrés es un factor negativo en la producción animal, es muy probable que la caída en la ganancia de peso fuera por tal motivo, tal como lo reporta Tejeda *et al*, 1997. En la misma semana, la disminución drástica en la ganancia de peso de los tratamientos **C** y **CF** fue resultado de la infección por *Eimeria spp.*, como se reporta por Conway *et al* (1990), Fetterer y Allen, (2000, 2001), en donde se observa disminución en la ganancia de peso de las aves infectadas con *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella* en la fase aguda de infección. Si bien no se encontró diferencia estadística, la menor ganancia de peso de **CF** respecto a **C**, se debió al efecto de la interacción fumonisina-parásito; esto concuerda con trabajos anteriores realizados por Marcano *et al* (2005), Koynarski *et al* (2007) en donde se ha visto un decremento en la ganancia de peso en animales inoculados con AFB₁ y ocratoxina A respectivamente, aunadas a una infección por *Eimeria spp.*

Consumo de alimento

Como se observa en el **cuadro 7**, en la semana uno existió diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el consumo de alimento del tratamiento **F** respecto a los tratamientos **TN**, **C** y **CF**; en la semana dos, el consumo de alimento de los tratamientos **TN** y **F** fue similar y estadísticamente diferente de los tratamientos **C** y **CF**. Al término de la semana tres el consumo de alimento de **TN** y **F** fue homogéneo, pero estadísticamente distinto ($p < 0.05$) de **C** y **CF**. El consumo de alimento de los animales al término de la semana cuatro y cinco presentó un comportamiento similar, no hubo diferencia estadística

entre **C** y **CF**, sin embargo la diferencia del consumo de alimento entre **TN** y **F** difirió estadísticamente entre sí y entre los tratamientos **C** y **CF**.

Cuadro 7. Consumo promedio de alimento semanal de las aves durante el periodo experimental.

Tratamiento	Gramos de alimento				
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4*	Semana 5**
TN	144.5 ± 0.04 ^b	256.2 ± 0 ^a	556.2 ± 0 ^c	977.6 ± 16.82 ^c	1048.3 ± 27.23 ^c
F	141.5 ± 0.56 ^a	256.2 ± 0 ^a	556.2 ± 0 ^c	912.5 ± 0 ^b	949.8 ± 24.37 ^b
C	145.1 ± 0.7 ^b	292.8 ± 0 ^b	495.9 ± 0.13 ^a	488.1 ± 5.89 ^a	799 ± 21.01 ^a
CF	144.3 ± 0.56 ^b	292.8 ± 0 ^b	512.2 ± 4.67 ^b	487.5 ± 4.36 ^a	802 ± 15.38 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 16,6**), F= expuesto a fumonisinina (n= 16,15*,6**), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 14,9*,6**), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisinina (n= 14, 10*,6**).

El consumo de alimento de los animales inoculados o no con fumonisininas fue similar en las primeras dos semanas y no hubo alteración en el consumo de los animales del grupo **F** respecto al grupo **TN**, esto concuerda con lo reportado previamente por Del Biachi *et al* (2005), quienes no encontraron alteración en el consumo de alimento en pollos de engorda alimentados con fumonisininas a 10ppm/Kg, concentración mayor a la empleada en el presente estudio. La disminución en el consumo de alimento de los grupos **C** y **CF** de la semana tres hasta el final del experimento estuvo relacionado con la infección por *Eimeria spp*, los resultados coinciden con Fetterer y Allen (2000), Saif *et al* (2008), en donde se reporta que la coccidiosis ocasiona anorexia en las aves infectadas, con la consecuente disminución en el consumo de alimento.

Índice de conversión

En la semana uno, el índice de conversión entre los tratamientos **TN** y **F** no presentó diferencia estadística ($p > 0.05$), siendo estos a su vez estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) de los tratamientos **C** y **CF**. El índice de conversión al final de la semana dos no presentó diferencia estadística ($p > 0.05$) en los tratamientos **TN** y **C**, quienes presentaron los índices de conversión más bajos y estos, a su vez fueron estadísticamente diferentes de los tratamientos **F** y **CF**. El índice de conversión no presentó diferencia estadística entre

grupos ($p>0.05$) de la semana tres hasta el final del experimento, ni en el índice de conversión total. Los resultados se muestran en el **cuadro 8**.

Cuadro 8. Índice de conversión promedio semanal de las aves durante el periodo experimental.

Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4*	Semana 5**	Total
TN	1.86 ± 0.09 ^b	0.99 ± 0.06 ^a	4.2 ± 3.8 ^a	4.1 ± 0.06 ^a	4.1 ± 0.07 ^a	3.1 ± 0.1 ^a
F	1.57 ± 0.09 ^b	1.01 ± 0.06 ^a	3.9 ± 3.8 ^a	3.4 ± 0.06 ^a	3.7 ± 0.07 ^a	2.7 ± 0.1 ^a
C	1.20 ± 0.09 ^a	1.31 ± 0.06 ^b	6.4 ± 3.8 ^a	3.8 ± 0.06 ^a	4.1 ± 0.07 ^a	3 ± 0.1 ^a
CF	1.13 ± 0.09 ^a	1.12 ± 0.06 ^{ab}	15 ± 3.8 ^a	3 ± 0.06 ^a	4.1 ± 0.07 ^a	2.6 ± 0.1 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p<0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 16,6**), F= expuesto a fumonisin (n= 16,15*,6**), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 14,9*,6**), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisin (n= 14, 10*,6**).

En la primera semana, la diferencia entre el índice de conversión de los tratamientos **TN** y **F**, respecto al resto de los tratamientos se ocasionó por el hecho de que los animales de estos tratamientos fueron alojados en jaulas y se encontraban en un proceso de adaptación; sin embargo, no se encontró diferencia entre estos dos tratamientos, lo que concuerda con Henry *et al* (2000), Broomhead *et al* (2002), Del Biachi *et al* (2005), quienes no encontraron diferencias en el índice de conversión de los animales alimentados con concentraciones de fumonisin de 20, 25 y 10 ppm/Kg de alimento respectivamente.

En la semana tres, a pesar de que no existió diferencia estadística entre tratamientos, se puede observar que el índice de conversión de los tratamientos **C** y **CF** se encuentra incrementado respecto a **TN** y **F**; la razón de dicho incremento se puede deber a la infección por coccidia, pues los animales presentaron la fase de infección aguda por *Eimeria spp* en esta semana, el resultado concuerda con lo reportado por Idris *et al* (1997) y Fetterer y Allen (2000), quienes observaron un aumento en los índices de conversión en animales infectados con *E. maxima* y *E. acervulina* respectivamente. Si bien esta variable no presentó diferencia estadística entre tratamientos, es importante recalcar que la ganancia de peso y el consumo de alimento fueron menores en los tratamientos **C** y **CF** de la semana tres hasta el final del experimento, esto debido a la infección por *Eimeria spp*.

Evaluación de las alteraciones morfológicas macroscópicas.

A la evaluación de las alteraciones morfológicas macroscópicas, ningún animal de los tratamientos presentó cambios patológicos aparentes en los órganos evaluados, que fueron hígado, riñón, bazo, bolsa cloacal y tracto gastrointestinal (ver apéndice III).

El resultado del peso relativo de los órganos, expresado como porcentaje del peso corporal, se presenta en el **cuadro 9**. El peso relativo promedio del hígado de las aves del tratamiento **TN** presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) respecto a los tratamientos **F**, **C** y **CF**, quienes tuvieron mayor peso hepático en orden ascendente respectivamente.

El peso relativo promedio de los riñones aparentemente se vio afectado en el tratamiento **CF**, pues tuvo un mayor peso al compararlo con el **TN** ($p < 0.05$), no así con los tratamientos **F** y **C** ($p > 0.05$).

No se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$) en el peso del bazo entre los tratamientos **TN**, **F** y **CF**, sin embargo dichos tratamientos presentaron diferencia ($p < 0.05$) respecto al tratamiento **C**, quien presentó mayor peso.

No hubo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos respecto al peso relativo promedio de la bolsa cloacal.

Se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) en el peso relativo del tracto intestinal de los tratamientos **TN** y **F** comparado con **C** y **CF**, en donde el peso del intestino de estos dos últimos tratamientos fue mayor.

**Cuadro 9. Peso relativo promedio de los órganos de los pollos
al día 35 de edad.**

Tratamientos	% de peso corporal				
	Hígado	Riñón	Bazo	Bolsa Cloacal	TGI
TN	2.6 ± 0.144 ^a	0.84 ± 0.046 ^a	0.062 ± 0.004 ^a	0.18 ± 0.026 ^a	6.8 ± 0.542 ^a
F	3.0 ± 0.217 ^{ab}	0.91 ± 0.033 ^{ab}	0.066 ± 0.003 ^a	0.17 ± 0.011 ^a	7.5 ± 0.37 ^a
C	3.4 ± 0.118 ^b	0.96 ± 0.035 ^{ab}	0.094 ± 0.008 ^b	0.11 ± 0.007 ^a	9.2 ± 0.165 ^b
CF	3.6 ± 0.15 ^b	1 ± 0.037 ^b	0.084 ± 0.008 ^{ab}	0.16 ± 0.016 ^a	10.7 ± 0.483 ^b

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 6), F= expuesto a fumonisina (n= 6), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 6), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=6).

El aumento del peso relativo promedio del hígado y riñón encontrado en este trabajo, utilizando 3 ppm/Kg de alimento de fumonisinas, contrasta con los resultados obtenidos por Henry *et al* (2000), Broomhead *et al* (2002), Del Biachi *et al* (2005), quienes emplearon fumonisina en pollos de engorda a concentraciones de 20, 25 y 10 ppm/Kg de alimento respectivamente, debido a que estos investigadores no encontraron cambios significativos en el peso relativo del órgano.

El peso relativo promedio del bazo de los tratamientos **TN** y **F** no presentó diferencia estadística entre sí, lo mismo ocurrió entre **C** y **CF**. El resultado del peso relativo promedio de la bolsa cloacal no mostró diferencias entre tratamientos. El resultado del peso relativo de ambos órganos, concuerda con lo reportado por Del Biachi *et al* (2005), quienes no reportaron alteración en los pesos de bazo y bolsa cloacal con una concentración de fumonisina de 10 ppm/Kg de alimento.

El peso relativo promedio del intestino no mostró diferencias entre tratamientos, sin embargo, cabe hacer notar que el peso del intestino de los tratamientos **F** y **CF** está por encima del peso de los tratamientos **TN** y **C**. Fetterer y Allen (2001), mencionan que la materia seca y húmeda de los ciegos se incrementa tras la infección por *E. tenella*, esto podría explicar el aumento de peso del órgano en el tratamiento **CF**, que fue infectado con *Eimeria spp.*

Evaluación de las alteraciones morfológicas microscópicas.

Hígado

Las lesiones detectadas en hígado fueron degeneración albuminosa (DA), degeneración grasa (DG), congestión (Co), infiltrado linfocitario (IL), hiperplasia de conductos biliares (HPCB) y descamación del epitelio de conductos biliares (DECB), los resultados se muestran en el **cuadro 10**.

Cuadro 10. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el hígado de los pollos**al término del periodo experimental.**

Tratamientos	DA	DG	Co	IL	HPCB	DECB
TN	1.66 ± 0.159 ^b	0.86 ± 0.191 ^a	0.66 ± 0.125 ^a	0.26 ± 0.118 ^a	0 ^a	0 ^a
F	1.46 ± 0.165 ^{ab}	1.73 ± 0.118 ^b	0.86 ± 0.236 ^a	0.2 ± 0.144 ^a	0.13 ± 0.133 ^a	0.13 ± 0.090 ^a
C	1.43 ± 0.175 ^{ab}	1.6 ± 0.163 ^b	0.66 ± 0.186 ^a	0.33 ± 0.125 ^a	0.23 ± 0.160 ^a	0.66 ± 0.66 ^a
CF	0.87 ± 0.154 ^a	1.87 ± 0.085 ^b	0.75 ± 0.170 ^a	0.37 ± 0.125 ^a	0.37 ± 0.154 ^a	0 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Degeneración albuminosa= DA, degeneración grasa =DG, congestión =Co, Infiltrado linfocitario= IL, hiperplasia de conductos biliares =HPCB y descamación del epitelio de conductos biliares =DECB

La degeneración albuminosa (DA) se apreció en el citoplasma de los hepatocitos, dándoles un aspecto de vidrio esmerilado, este cambio degenerativo no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos **TN**, **F** y **C**, sin embargo, fueron estadísticamente distintos de **CF**, quien presentó un grado menor de lesión. La degeneración grasa (DG) se caracterizó por la presencia de vacuolas transparentes que desplazan el núcleo de los hepatocitos, por lo que se relaciona con cambio de grasa. Este cambio fue más severo en los tratamientos con fumonisinas y/o *Eimeria spp* al compararlo con el tratamiento **TN** ($p < 0.05$). No se observó diferencia estadística en el resto de las lesiones evaluadas.

Riñón

Tal como se muestra en el **cuadro 11**, las lesiones detectadas en riñón fueron degeneración albuminosa (DA), degeneración vacuolar (DV), congestión (Co) e infiltrado linfocitario (IL). El grado de DA no presentó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los tratamientos **TN**, **F** y **C**, pero dichos tratamientos presentaron diferencia ($p < 0.05$) respecto al tratamiento **CF**, quien presentó un grado de lesión mayor. El resto de las lesiones evaluadas no presentaron diferencias entre grupos.

Cuadro 11. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el riñón de los pollos al término del periodo experimental.

Tratamientos	DA	DV	Co	IL
TN	1.2 ± 0.106 ^a	0.2 ± 0.106 ^a	0.73 ± 0.181 ^a	0 ^a
F	1.0 ± 0.033 ^a	0 ^a	0.66 ± 0.232 ^a	0 ^a
C	1.26 ± 0.095 ^{ab}	0 ^a	0.33 ± 0.125 ^a	0.06 ± 0.066 ^a
CF	1.62 ± 0.125 ^b	0 ^a	0.18 ± 0.106 ^a	0.06 ± 0.065 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Degeneración albuminosa =DA, degeneración vacuolar =DV, congestión =Co e infiltrado linfocitario =IL.

Los cambios degenerativos en hígado encontrados en este estudio concuerdan con los reportados por Scavazza (2009), quién encontró degeneración grasa de un grado leve a moderado, con una concentración de fumonisinas de 7 ppm/Kg de dieta en pollos de engorda. Los cambios degenerativos de riñón encontrados en nuestro trabajo contrastan con lo reportado por Del Bianchi (2005), quien no reportó alteraciones importantes en el órgano con concentraciones de fumonisina de 10 ppm/Kg de alimento.

Los cambios degenerativos de los hepatocitos y células renales de los pollos expuestos a fumonisinas (F y CF) se pueden explicar con lo reportado por Merrill *et al* (1997), en donde se describe que como consecuencia del mecanismo de acción de las fumonisinas se interrumpe la síntesis de esfingolípidos y se incrementan las bases esfingoides esfinganina:esfingosina en sangre, las cuales ocasionan cambios en la morfología y permeabilidad de las células.

Como se ha descrito por Cordero *et al* (1999) la infección con *Eimeria spp* favorece infecciones concurrentes con patógenos bacterianos, principalmente *E. coli*, que se tornan sistémicas e infectan otros órganos, esto a su vez puede explicar la presencia de pequeños focos que corresponden a infiltrados de linfocitos y heterófilos en dichos órganos.

Bazo

Las lesiones evaluadas en bazo fueron depleción (De), congestión (Co) y apoptosis (Ap). Los resultados son mostrados en el **cuadro 12**.

Si bien no se observó diferencia estadística ($p>0.05$) en el grado de depleción entre los tratamientos **TN**, **F** y **C**, se puede apreciar una depleción linfóide mayor en los tratamientos que consumieron fumonisina, dicho efecto se pudo observar con mayor intensidad en **CF**, en el cual se aprecia diferencia ($p<0.05$) respecto al resto de los tratamientos. Únicamente se observó apoptosis en el tratamiento **CF** y se encontró diferencia estadística respecto al resto de los grupos, quienes no presentaron dicho cambio.

La congestión se encontró en un rango de SCPA a leve, sin embargo no presentó diferencia estadística entre tratamientos.

Cuadro 12. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el bazo de los pollos al término del periodo experimental.

Tratamientos	De	Co	Ap
TN	0.8 ± 0.136^a	0.86 ± 0.114^a	0^a
F	1.2 ± 0.118^{ab}	0.9 ± 0.148^a	0^a
C	1.1 ± 0.170^a	1.03 ± 0.103^a	0^a
CF	1.6 ± 0.085^b	1.18 ± 0.157^a	0.8 ± 0.223^b

Valores \pm el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p<0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Depleción=De, congestión =Co y apoptosis =Ap.

Bolsa cloacal

Las lesiones encontradas en bolsa cloacal fueron depleción (De), edema (Ed), hiperplasia epitelial (HE), necrosis (N) y la presencia de *Cryptosporidium spp* (Cr). Los resultados se muestran en el **cuadro 13**.

Se observó que la depleción linfóide fue significativamente mayor ($p<0.05$) en los tratamientos inoculados con fumonisina y con coccidias, respecto a los tratamientos **TN** y **C**. La HE no presentó diferencia estadística ($p<0.05$) entre los tratamientos **F**, **C** y **CF**, siendo este último quién presentó lesiones más severas, mientras que en el tratamiento **TN** no se observó esta lesión celular. Se encontró la presencia de *Cryptosporidium spp* en el tratamiento **F** en un grado de SCPA a leve, siendo este resultado estadísticamente significativo ($p<0.05$), respecto al resto de los tratamientos en donde no se observó al protozooario. El tratamiento **CF** fue el único en donde se observó necrosis en los folículos bursales.

Cuadro 13. Resultados promedio de la evaluación microscópica en la bolsa cloacal de los pollos al final del periodo experimental.

Tratamientos	De	Ed	HE	Cr	N
TN	0.8 ± 0.081 ^a	0.4 ± 0.190 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
F	1.36 ± 0.103 ^{bc}	0.53 ± 0.236 ^a	0.43 ± 0.188 ^{ab}	0.2 ± 0.106 ^b	0 ^a
C	1.16 ± 0.105 ^{ab}	0.36 ± 0.141 ^a	0.36 ± 0.141 ^{ab}	0 ^a	0 ^a
CF	1.68 ± 0.100 ^c	0.12 ± 0.125 ^a	0.81 ± 0.245 ^b	0 ^a	0.12 ± 0.125 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Depleción= De, edema =Ed, hiperplasia epitelial =HE, necrosis=N y *Cryptosporidium spp* =Cr

A la revisión histológica del bazo, se observó que todos los tratamientos presentaban un grado SCPA a leve de depleción, siendo más marcada en los tratamientos a los que se incluyeron fumonisinas en el alimento, aunado a la observación de apoptosis en el tratamiento **CF**. La depleción en bolsa cloacal observada a la revisión microscópica fue similar a la descrita en bazo, los tratamientos que recibieron fumonisinas en la dieta mostraron un grado mayor de depleción. Los hallazgos microscópicos concuerdan con Girish y Smith (2008), quienes reportan depleción en bazo y bolsa cloacal con una concentración mayor de fumonisinas (10 mg/kg de alimento) y con Scavazza (2009), quien describe depleción en bolsa cloacal con concentraciones de fumonisinas de 7 ppm/Kg de alimento. La depleción y apoptosis encontrada, concuerda con lo reportado por Li *et al* (1999) y Keck y Bodine (2006), quienes en estudios *in vitro* reportan una disminución en la proliferación y viabilidad de linfocitos esplénicos con concentraciones de 2.5 µl/mL (ppm) y 2.5- 50 µl/mL (ppm) de FB₁ respectivamente. Los cambios citotóxicos reportados en linfocitos, probablemente son resultado del mecanismo de acción de las fumonisinas, que ocasionan la acumulación de ceramida y esfingosina, lo que trae como consecuencia inhibición de crecimiento y citotoxicidad celular por vía apoptosis, Merrill *et al* (2001).

Los resultados explicados anteriormente indican que concentraciones de 3 ppm/kg de alimento también son capaces de ocasionar depleción linfoide en las condiciones en que fue conducido este estudio.

Intestino

Duodeno

Las lesiones encontradas en duodeno fueron grado de descamación epitelial (GD), edema de vellosidades (EV), acortamiento de vellosidades (AV), fusión de vellosidades (FV), infiltrado linfocitario (IL), infiltrado de heterófilos (IH) y necrosis de las vellosidades (N). Los resultados se pueden apreciar en el **cuadro 14**.

El grado de descamación, acortamiento de vellosidades y fusión de vellosidades fue estadísticamente ($p < 0.05$) más severo en los tratamientos a los cuales se les suministró fumonisina en la dieta con respecto a los tratamientos libres de fumonisina. El infiltrado linfocitario en el tratamiento **TN** fue diferente ($p < 0.05$) a los tratamientos **F**, **C** y **CF**, los cuales presentaron mayor índice de infiltración linfocitaria. Se presentó necrosis de vellosidades en el tratamiento **C**, el grado de lesión fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$) respecto al resto de los tratamientos, que no la presentaron. El resto de las lesiones evaluadas no presentó diferencia estadística entre tratamientos.

Cuadro 14. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el duodeno de los pollos al término del experimento.

Tratamientos	GDE	EV	AV	FV	IL	IH	N
TN	1.2 ± 0.12 ^a	1.4 ± 0.30 ^a	1.6 ± 0.30 ^a	1.3 ± 0.15 ^a	0.13 ± 0.09 ^a	0.2 ± 0.10 ^a	0 ^a
F	2.5 ± 0.14 ^{bc}	1.5 ± 0.25 ^a	2.1 ± 0.27 ^{ab}	2.1 ± 0.12 ^b	1.26 ± 0.27 ^b	0.5 ± 0.25 ^a	0 ^a
C	1.9 ± 0.15 ^b	0.9 ± 0.13 ^a	1.3 ± 0.11 ^a	1.8 ± 0.21 ^{ab}	1.63 ± 0.24 ^b	0.4 ± 0.19 ^a	0.4 ± 0.23 ^b
CF	2.7 ± 0.14 ^c	1.4 ± 0.14 ^a	2.5 ± 0.10 ^b	2.1 ± 0.12 ^b	1.21 ± 0.18 ^b	0 ^a	0 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Grado de descamación epitelial=GDE, edema de vellosidades= EV, acortamiento de vellosidades=AV, fusión de vellosidades=FV, Infiltrado linfocitario =IL, infiltrado de heterófilos=IH y necrosis=N.

Yeyuno-íleon

Las lesiones encontradas en yeyuno-íleon fueron grado de descamación epitelial (GDE), edema de vellosidades (EV), acortamiento de vellosidades (AV), fusión de vellosidades (FV), infiltrado linfocitario (IL) e infiltrado de heterófilos (IH). Los resultados se aprecian en el **cuadro 15**.

Al igual que en duodeno, el grado de descamación y acortamiento de vellosidades fue distinto ($p<0.05$) en las aves que consumieron fumonisinas en la dieta, respecto a los tratamientos **TN** y **C**. El infiltrado linfocitario no presentó diferencia estadística ($p<0.05$) entre los grupos **TN**, **F** y **C**, sin embargo estos presentaron diferencia ($p<0.05$) respecto al tratamiento **CF**, que presentó un grado de infiltración mayor que el resto de los tratamientos. El infiltrado de heterófilos no presentó diferencia estadística significativa ($p<0.05$) entre los tratamientos **TN** y **CF**, sin embargo estos fueron diferentes ($p<0.05$) de **F**, quien presentó el mayor grado de infiltración, este tratamiento a su vez, no presentó diferencia ($p<0.05$) respecto a **C**. El resto de las lesiones no presentaron diferencias entre tratamientos.

Cuadro 15. Resultados promedio de la evaluación microscópica en el yeyuno-íleon de los pollos al final del periodo experimental.

Tratamientos	GDE	EV	AV	FV	IL	IH
TN	1.6 ± 0.10 ^{ab}	1.0 ± 0.12 ^a	0.86 ± 0.16 ^a	1.1 ± 0.14 ^a	0.76 ± 0.29 ^a	0.13 ± 0.09 ^{ab}
F	2.2 ± 0.14 ^c	1.5 ± 0.23 ^a	1.6 ± 0.25 ^b	1.4 ± 0.22 ^a	0.33 ± 0.15 ^a	0.73 ± 0.20 ^c
C	1.6 ± 0.18 ^a	1.4 ± 0.17 ^a	1.2 ± 0.13 ^{ab}	1.3 ± 0.12 ^a	0.76 ± 0.12 ^a	0.6 ± 0.22 ^{bc}
CF	2.0 ± 0.05 ^{bc}	1.2 ± 0.11 ^a	2.4 ± 0.13 ^c	1.6 ± 0.13 ^a	1.87 ± 0.08 ^b	0 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p<0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Grado de descamación epitelial =GDE, edema de vellosidades= EV, acortamiento de vellosidades=AV, fusión de vellosidades=FV, Infiltrado linfocitario =IL, infiltrado de heterófilos=IH.

Ciegos

Las lesiones encontradas en ciegos fueron grado de descamación, edema de vellosidades, acortamiento de vellosidades, infiltrado linfoide e infiltrado de heterófilos. Los resultados son mostrados en el **cuadro 16**.

El grado de descamación de los tratamientos **TN** y **CF** no presentó diferencia estadística ($p<0.05$) entre ellos, pero fueron diferentes de los grupos **C** y **F**, siendo este último tratamiento quien presentó el grado más alto de lesión. El edema y acortamiento de vellosidades no mostró diferencia ($p<0.05$) entre los grupos **C** y **CF**, pero a su vez estos fueron estadísticamente diferentes del tratamiento **TN**, el cual no mostró dichas lesiones y

del tratamiento **F**, quien presentó el mayor grado de lesión. El infiltrado linfoide fue más severo ($p < 0.05$) en los tratamientos de las aves que consumieron fumonisinas y fue nulo en **TN**. El infiltrado de heterófilos no presentó diferencia estadística entre los tratamientos.

Cuadro 16. Resultados promedio de la evaluación microscópica en los ciegos de los pollos al final del periodo experimental.

Tratamientos	GDE	EV	AV	IL	IH
TN	0.7 ± 0.167 ^{ab}	0.13 ± 0.090 ^a	0 ^a	0 ^a	0.86 ± 0.165 ^a
F	2.1 ± 0.062 ^c	1.8 ± 0.117 ^c	1.8 ± 0.181 ^c	1.6 ± 0.249 ^{bc}	0.33 ± 0.186 ^a
C	1.2 ± 0.160 ^b	1 ± 0.161 ^b	0.93 ± 0.168 ^b	0.92 ± 0.215 ^b	0.66 ± 0.227 ^a
CF	0.5 ± 0.218 ^a	0.87 ± 0.140 ^b	0.78 ± 0.203 ^b	1.87 ± 0.161 ^c	0.9 ± 0.249 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). Grado de descamación epitelial =GDE, edema de vellosidades= EV, acortamiento de vellosidades=AV, Infiltrado linfocitario =IL, infiltrado de heterófilos=IH.

Es importante comentar que se notó la presencia de microgametos y macrogametos en los tratamientos **TN** y **F**, así como ooquistes en los segmentos revisados del tracto intestinal, si bien la cantidad de estructuras parasitarias encontradas no sugieren una infección severa y no se registró eliminación de ooquistes en heces en dichos tratamientos, esto explica el hecho de que estos tratamientos presentaran lesiones microscópicas en los diferentes segmentos del tracto intestinal que se sometieron a revisión.

Al análisis microscópico se observó que las lesiones evaluadas tuvieron grados más severos en los animales alimentados con fumonisinas, en las tres regiones intestinales evaluadas. De manera general los resultados obtenidos de la revisión microscópica se pueden atribuir principalmente a la infección por *Eimeria spp*. Los hallazgos concuerdan con Idris *et al* (1997) y Assis *et al* (2010), quienes encontraron lesiones similares en animales infectados con dosis de 2.5×10^4 de *E. maxima* y por infección natural con *E. acervulina* respectivamente, así como con el trabajo de Zulpo *et al* (2007), quienes utilizaron una dosis de ooquistes de 2×10^4 de *E. acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella* y también encontraron lesiones parecidas a las reportadas en este trabajo, aún cuando la dosis de ooquistes utilizada en el presente estudio fue distinta.

Scavazzo (2009) describe que en los animales alimentados con 7 ppm/Kg de fumonisina en la dieta, se observó descamación del epitelio intestinal, disminución en la profundidad de las criptas de duodeno, yeyuno e íleon, así como reducción en el tamaño de las vellosidades en íleon, respecto a los animales del grupo control. Leung *et al* (2003), Oswald (2003), Bohuet *et al* (2004) describen que las fumonisinas dañan la integridad del epitelio intestinal, al modificar la membrana citoplasmática y de esta forma alteran las uniones célula-célula y célula-matriz del epitelio, la resistencia eléctrica transepitelial (TEER) se emplea como indicador de la alteración de dichas uniones. En intestino, estos autores reportan que la fumonisina ocasiona alteraciones en los valores de TEER, con la consecuente alteración en la función de barrera del epitelio intestinal, ocasionando el establecimiento de cepas patógenas de *E. coli*. Es posible que la presencia de fumonisinas en la dieta de las aves favoreciera el establecimiento de *Eimeria spp*, bajo el mecanismo de alteración en la TEER antes mencionado, lo que explica el mayor grado de lesión intestinal en los pollos alimentados con fumonisinas.

Resultados similares a los encontrados en este trabajo se reportan por Koynarski *et al* (2006), con interacciones entre *E. acervulina* y ocratoxina A, en donde se observan cambios degenerativos más severos en intestino con la presencia de la micotoxina, ante la infección con el parásito.

Hematología y química sanguínea.

Hematocrito

Los resultados del hematocrito del primer y segundo muestreo se muestran en el **cuadro 17**. No se presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos, sin embargo los tratamientos con **C** y **CF** se encontraron por debajo de los rangos de referencia que van de 29% a 45%, según Charles (2003) en el primer muestreo. En el segundo muestreo, los tratamientos **F** y **CF** se encontraron por debajo de rangos normales según Charles (2003), así como respecto al tratamiento **TN**.

Cuadro 17. Valores promedio de la determinación del hematocrito de los pollos del primer (21 días de edad) y segundo muestreo (35 días de edad).

Tratamiento	Primer muestreo (%)	Segundo muestreo (%)
TN	29.3 ± 3.48 ^a	29.5 ± 1.23 ^a
F	31 ± 0.77 ^a	21.1 ± 3.33 ^a
C	25.7 ± 1.7 ^a	30.4 ± 2.2 ^a
CF	26.2 ± 1.1 ^a	24.6 ± 3.051 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna de cada muestreo indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 5), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 4), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=4).

Como resultado del primer muestreo, realizado en la etapa aguda de la infección por *Eimeria spp*, el hematocrito de los tratamientos **TN** y **F** no presentó diferencia estadística significativa, y los valores se encuentran dentro de los descritos por Charles (2003); los resultados concuerdan con los trabajos realizados por Broomhead *et al* (2002), Del Bianchi *et al* (2005), quienes no encontraron cambios en el hematocrito de los animales alimentados con fumonisinas. El hematocrito de los tratamientos **C** y **CF** se encontró por debajo de los rangos descritos por Charles (2003) y de acuerdo al tratamiento **TN**, los resultados de estos tratamientos sugieren que fue debido a la pérdida de sangre ocasionada por *E. tenella*, tal como reportan Fukata *et al* (1997), Cordero *et al* (1999), Allen y Fetterer (2001) y Saif *et al* (2008).

En el segundo muestreo realizado al término del experimento, el hematocrito de los tratamientos **TN** y **C** se mantiene dentro de rangos normales de acuerdo con Charles (2003). Los tratamientos **F** y **CF** presentaron una disminución del hematocrito respecto al resto de los tratamientos, este resultado concuerda con lo reportado por Javed *et al* (1995), en donde se reportó una disminución de eritrocitos, hemoglobina, volumen del paquete celular y células blancas, sin embargo, la concentración utilizada fue mucho más alta (125 y 274 ppm/Kg de alimento) que la empleada en este estudio.

Química sanguínea Primer muestreo

Proteínas

Los resultados de la determinación de los valores promedio de proteínas se aprecian en el **cuadro 18**. La proteína total en el tratamiento **CF** tuvo el valor más alto, y mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto al resto de los tratamientos. Los valores de albúmina no mostraron diferencia significativa entre tratamientos. El valor de globulinas no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el tratamiento **F** y **C**, siendo este último quien presentó el valor promedio más bajo, sin embargo, presentaron diferencias respecto a **TN** y **CF**, siendo este último quien presentó el valor promedio más alto, esto debido a la infección por *Eimeria spp*. La relación albúmina/ globulina no difirió estadísticamente ($p < 0.05$) entre los tratamientos, **TN**, **F** y **C**, pero los valores de dichos tratamientos presentaron diferencia ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento **CF**.

Cuadro 18. Valores promedio de la determinación de proteínas séricas de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).

Tratamiento	g/dL			Relación A/G
	Proteínas Totales	Albúmina	Globulina	
TN	2.5 ± 0.05 ^a	1.2 ± 0.05 ^a	1.3 ± 0 ^{bc}	0.92 ± 0.05 ^{ab}
F	2.3 ± 0.03 ^a	1.2 ± 0.06 ^a	1.1 ± 0.1 ^{ab}	1.0 ± 0.14 ^a
C	2.1 ± 0.03 ^a	1.1 ± 0.06 ^a	1 ± 0.05 ^a	1.1 ± 0.08 ^a
CF	2.9 ± 0.15 ^b	1.4 ± 0.12 ^a	1.4 ± 0.03 ^c	1.0 ± 0.06 ^b

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).

Las proteínas plasmáticas totales se encontraron en el límite mínimo en el tratamiento **TN**, sin embargo no presentan hipoproteinemia según los valores reportados por Charles (2003), la concentración de albúmina y globulinas se encontraron dentro de los rangos observados por Fudge (2000).

Las proteínas totales y globulinas en el tratamiento **F** se encontraron disminuidas respecto a **TN** así como con respecto a los valores reportados por Charles (2003) y Fudge (2000). Los valores de albúmina se encontraron dentro de los rangos reportados por los autores anteriores y respecto a **TN**; dicho resultado contrasta con lo reportado por Henry *et al* (2000), Broomhead *et al* (2002), Del Bianchi *et al* (2005), en donde a pesar de haber utilizado concentraciones mayores de fumonisinas (20, 25, 10 ppm/Kg de alimento respectivamente), no se encontraron alteraciones en las proteínas totales, albúmina y globulinas en los animales. La hipoproteïnemia en este grupo fue ocasionada por la disminución en los niveles de globulinas; este resultado pudo ser ocasionado por una síntesis inadecuada de globulinas por alteración en la integridad de la bolsa cloacal tal como reporta Scavazza (2009).

En los tratamientos **C** y **CF**, las proteínas totales y albúmina se encontraron por debajo y por encima del tratamiento **TN** respectivamente. Los resultados se deben a la pérdida de proteínas plasmáticas como consecuencia de la enteritis ocasionada por el parásito, principalmente como resultado de la infección por *E. tenella* en el tratamiento **C**, tal como reportan Fukata *et al* (1997), Cordero *et al* (1999) y Saif *et al* (2008). En el caso de **CF** los resultados sugieren que las aves de este tratamiento se encontraban deshidratadas como resultado de la infección por *Eimeria spp*, tal como se reporta por Fukata *et al* (1997).

Enzimas

Como se aprecia en el **cuadro 19**, los valores enzimáticos de AST y ALT no presentaron diferencia estadística ($p < 0.05$) entre tratamientos, a pesar de lo anterior se observa que el tratamiento **CF** muestra los valores enzimáticos más elevados que el resto de los tratamientos. Los valores de ALT no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, sin embargo se encontraron levemente incrementados en todos ellos. Los valores de GGT fueron más elevados en las aves que consumieron fumonisina (**F** y **CF**), sin embargo estadísticamente no hay diferencia con las aves del tratamiento **TN** ($p > 0.05$).

Cuadro 19. Valores promedio de la determinación de enzimas en el suero de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).

Tratamiento	UI/L		
	AST	ALT	GGT
TN	213.6 ± 2.02 ^a	11 ± 2.08 ^a	17.2 ± 0.77 ^{ab}
F	201.6 ± 6.11 ^a	13 ± 0.66 ^a	22.7 ± 2.07 ^b
C	196.6 ± 16.9 ^a	11 ± 0.57 ^a	14.4 ± 1.5 ^a
CF	238.3 ± 10.08 ^a	14 ± 1.73 ^a	16.3 ± 1.51 ^{ab}

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).AST=aspartatoaminotrasferasa, ALT=alaninaminotrasferasa, GGT=gammaglutamiltrasferasa.

Los valores de AST de los tratamientos **TN**, **F** y **C** se encontraron dentro de los rangos descritos por Bowes *et al* (1989); dichos resultados concuerdan con Broomhead *et al* (2002) y Del Bianchi *et al* (2005), en donde los valores de AST no se ven alterados con la presencia de fumonisinas en la dieta a dosis mayores a las empleadas en este estudio (25 y 10 ppm/Kg de alimento respectivamente). El tratamiento **CF** presentó los valores más elevados de AST respecto al resto de los tratamientos; según Richie *et al* (1994), valores superiores a 230 UI/L son anormales en aves y son sugestivos de daño hepático; el mismo autor también describe la sensibilidad de la enzima GGT para detectar alteraciones hepáticas. Sin embargo, teniendo en cuenta que los valores de GGT en el presente estudio se encuentran dentro del rango reportado por Del Bianchi *et al* (2005), quien empleó 10 ppm de fumonisina en la dieta de pollos de engorda y no encontró alteraciones en la enzima, se puede descartar que existiera daño hepático ocasionado por las concentraciones de fumonisina empleadas en este estudio, debido a que el mecanismo de acción de la fumonisina a diferencia de otras micotoxinas, no afecta el epitelio biliar de manera tan agresiva como por ejemplo, en el caso aflatoxinas, tal como lo describen Saif *et al* (2008).

Por otra parte, Fetterer y Allen (2000, 2001) reportan que debido a la infección por *E. acervulina* y *E. tenella* existe un aumento en el catabolismo (destrucción) del músculo esquelético y cardíaco debido a la combinación de anorexia y mala absorción de nutrientes; teniendo en cuenta que las concentraciones de la enzima AST también se pueden ver alteradas por lesiones en músculo cardíaco y esquelético, tal como describe Hummes

(2006), el aumento de la enzima AST en el tratamiento **CF** se puede explicar gracias a lo reportado por los autores anteriores, en combinación con la administración de fumonisina.

Los valores de la enzima ALT se encontraron incrementados en todos los tratamientos, respecto a lo observado por Del Bianchi *et al* (2005), quien utilizó 10 ppm/ Kg de alimento de fumonisina y no se afectaron las concentraciones séricas de la enzima. Debido a que esta enzima también se encuentra en músculo esquelético, cardíaco, riñón, hígado y pulmón, pudiéndose liberar por el daño en dichos órganos, el aumento en la concentración sérica de ALT se puede correlacionar con el incremento de AST, lo que refuerza el mayor daño muscular en el tratamiento **CF**.

Bilirrubinas

En el **cuadro 20** se observa que la determinación de bilirrubina total no mostró variaciones significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos **TN** y **F**, siendo estas diferentes ($p < 0.05$) de los tratamientos **C** y **CF**. La bilirrubina directa no presentó diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. Los valores de bilirrubina indirecta de **TN** y **F** no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre sí, pero existió diferencia respecto a **C** y **CF**.

Cuadro 20. Valores promedio de la determinación de bilirrubinas en el suero de los pollos en el primer muestreo (21 días de edad).

Tratamiento	mg/dL		
	Bilirrubina Total	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Indirecta
TN	0.68 ± 0.108 ^c	0.27 ± 0.075 ^a	0.41 ± 0.005 ^b
F	0.56 ± 0.03 ^{bc}	0.13 ± 0 ^a	0.43 ± 0.025 ^b
C	0.24 ± 0.018 ^a	0.04 ± 0.023 ^a	0.20 ± 0.012 ^a
CF	0.28 ± 0.058 ^{ab}	0.09 ± 0.068 ^a	0.19 ± 0.012 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).

Los valores de bilirrubinas totales se encuentran por encima de los valores descritos en pollos de engorda por Bowes *et al* (1989), sin embargo, los valores de bilirrubina directa no presentan diferencias entre tratamientos y los valores de bilirrubina indirecta presentan

diferencias entre los tratamientos que llevaron y no *Eimeria spp.* Según Lin *et al* (1974) y Ritchie *et al* (1994) se deben tomar con precaución los valores de bilirrubinas en pollos, debido a que estos presentan cantidades traza o nulas de la enzima biliverdina reductasa, que cataliza la conversión de biliverdina a bilirrubina, por lo que los niveles de bilirrubinas encontradas en pollos son debido a la presencia de dichas cantidades traza de la enzima o por mecanismos inespecíficos de conversión de biliverdina, lo que tiene como consecuencia una interpretación errónea de posibles alteraciones a nivel hepático en aves.

Química sanguínea segundo muestreo

Proteínas

Los valores de proteína total del segundo muestreo, mostrados en el **cuadro 21**, no presentan diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos. Los valores de albúmina, globulina y relación albúmina/globulinas, estadísticamente se comportaron sin alteración en este muestreo.

Cuadro 21. Valores promedio de la determinación de proteínas séricas de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).

Tratamiento	g/ dL			Relación A/G
	Proteínas Totales	Albúmina	Globulina	
TN	2.4 ± 0.63 ^a	1.2 ± 0.21 ^a	1.2 ± 0.41 ^a	1 ± 0.28 ^a
F	1.9 ± 0.27 ^a	1.0 ± 0.31 ^a	0.94 ± 0.12 ^a	1.0 ± 0.44 ^a
C	2.5 ± 0.05 ^a	1 ± 0 ^a	1.5 ± 0.06 ^a	0.66 ± 0.08 ^a
CF	2.1 ± 0.31 ^a	1 ± 0.02 ^a	1.1 ± 0.20 ^a	0.9 ± 0.06 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).

Las proteínas totales y albúmina de todos los tratamientos se encontraron por debajo de rangos normales según Charles (2003) y Fudge (2000) con excepción de **TN**, en donde el valor de proteínas totales estuvieron por debajo pero la albúmina se encontró dentro de los valores reportados por los autores anteriores y **C**, en donde las proteínas totales se encontraron dentro de los valores, pero la albúmina se encontró por debajo; dichos

resultados pueden deberse a mala absorción intestinal, pues cabe hacer notar que si bien no se registró la eliminación de ooquistes en estos tratamientos a la semana cinco, al análisis histopatológico se encontró la presencia de ooquistes en los tratamientos **TN** y **F**, lo cual provocó una coccidiosis subclínica en la última semana del experimento, con la consecuente pérdida de proteínas plasmáticas, como se reporta por Fukata *et al* (1997), Cordero *et al* (1999) y Saif *et al* (2008). Los tratamientos **C** y **CF** fueron infectados anteriormente y es probable que el epitelio intestinal no se pudiera recuperar por completo, ocasionando mala digestión-mala absorción de nutrientes.

Enzimas

Los resultados de la determinación de las enzimas ALT, AST y GGT no mostraron diferencias estadística significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos, los resultados se presentan el **cuadro 22**.

Cuadro 22. Valores promedio de la determinación de enzimas en el suero de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).

Tratamiento	UI/L		
	AST	ALT	GGT
TN	167 ± 49.3 ^a	6.3 ± 1.4 ^a	14.2 ± 2.08 ^a
F	99.3 ± 15.3 ^a	4 ± 0.57 ^a	8.7 ± 1.23 ^a
C	155 ± 39.2 ^a	6.6 ± 0.33 ^a	18.1 ± 3.47 ^a
CF	153 ± 4.9 ^a	8 ± 1 ^a	18.8 ± 1.32 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3). AST=aspartatoaminotrasferasa, ALT=alaninaminotrasferasa, GGT=gammaglutamiltrasferasa.

Los valores de AST, ALT, GGT y bilirrubinas se encontraron dentro de los valores descritos por Bowes *et al* (1989) y Del Bianchi *et al* (2005). En base a esto se puede notar que el efecto crónico por la acción de las fumonisinas no es importante, quizá debido a que las fumonisinas son hidrosolubles y esta propiedad hace que se eliminen del organismo fácilmente, pudiéndose encontrar solo cantidades traza apenas 24 horas después del retiro de la micotoxina, tal como reportan Voss *et al* (2007).

Bilirrubinas

Los resultados de la determinación de bilirrubina total, bilirrubina directa y bilirrubina indirecta no mostraron diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), tal como se aprecia en el **cuadro 23**.

Cuadro 23. Resultados de la determinación de bilirrubinas en el suero de los pollos en el segundo muestreo (35 días de edad).

Tratamiento	mg/dL		
	Bilirrubina Total	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Indirecta
TN	0.25 ± 0.125 ^a	0.11 ± 0.093 ^a	0.14 ± 0.038 ^a
F	0.12 ± 0.04 ^a	0.04 ± 0.006 ^a	0.08 ± 0.026 ^a
C	0.20 ± 0.098 ^a	0.11 ± 0.065 ^a	0.09 ± 0.034 ^a
CF	0.29 ± 0.035 ^a	0.13 ± 0.055 ^a	0.16 ± 0.052 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).

Prueba de tránsito gastrointestinal.

Los resultados de las dos pruebas de tránsito gastrointestinal que se efectuaron, se muestran en el **cuadro 24**. No se encontró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre tratamientos en ninguna de las pruebas realizadas.

Cuadro 24. Resultados de las pruebas de tránsito gastrointestinal realizadas en los pollos a los días 14 y 34 de edad.

Tratamiento	Minutos	
	Día 14 de edad	Día 34 de edad
TN	158.6 ± 16.49 ^a	158.8 ± 7.13 ^a
F	154 ± 6.98 ^a	167.1 ± 8.65 ^a
C	138.1 ± 10.13 ^a	160 ± 19.2 ^a
CF	164.8 ± 8.84 ^a	126.6 ± 11.08 ^a

Valores ± el error estándar. Literales diferentes en cada columna de cada muestreo indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). TN= Testigo Negativo (n= 3), F= expuesto a fumonisina (n= 3), C= expuesto a *Eimeria spp* (n= 3), CF= expuesto a *Eimeria spp* más fumonisina (n=3).

En la prueba de tránsito gastrointestinal no se encontró variación significativa del tiempo de tránsito entre los tratamientos. Los tiempos de todos los tratamientos se mantuvieron dentro de los rangos reportados por Whittow (2000), los cuales varían de 96 min.-156 min. Podemos asumir que la presencia de fumonisinas y preparado mixto de *Eimeria spp* utilizadas en este estudio, no alteran el tiempo de tránsito en aves.

CONCLUSIÓN

La presencia de fumonisinas a una concentración de 3 ppm/Kg de alimento en la dieta de pollos de engorda no demostró repercutir en ninguna de las variables productivas evaluadas en este estudio. La presencia de *Eimeria spp* con y sin fumonisinas afectó la ganancia de peso, consumo de alimento e índice de conversión de los animales cuando se encontraban en la etapa aguda de la infección por *Eimeria spp*, a los 7 días post infección.

En este trabajo se notó que las fumonisinas aumentan el peso de hígado, riñón e intestino. El análisis microscópico, de manera general reveló mayor afectación en las células de los animales que consumieron la toxina. Es importante resaltar los hallazgos encontrados a nivel microscópico en bazo y bolsa cloacal, en los cuales se observó depleción linfocítica y apoptosis en los tratamientos en donde se emplearon fumonisinas, hallazgo que señala a las fumonisinas como un posible factor de riesgo para el sistema inmunológico de las aves, lo que las puede hacer susceptibles a enfermedades misceláneas, poniendo en riesgo la cadena productiva. Así mismo, la eliminación de ooquistes en heces fue mayor en los animales alimentados con fumonisinas, lo cual sugiere una alteración en la respuesta inmune celular, sin embargo es necesario realizar estudios específicos para evaluar dicha respuesta en futuros trabajos en los cuales se incluya a *Eimeria spp*.

La interacción entre fumonisinas y *Eimeria spp* queda evidenciado por el mayor daño intestinal observado en duodeno, yeyuno e íleon, los cuales se han reportado previamente en aves que consumen fumonisinas en el alimento y que se han infectado con *Eimeria spp*, ambas por separado. A pesar de los resultados obtenidos en el intestino a nivel microscópico, no se observó alteración en el tiempo de pasaje gastrointestinal antes o después de la infección por *Eimeria spp*, en los animales alimentados con fumonisinas. Sería conveniente realizar un estudio en donde se complete un ciclo de engorda (42 ó 49 días), para evaluar el papel de la fumonisina con la presencia de *Eimeria spp* a largo plazo.

La evaluación del hematocrito y la química sanguínea son herramientas de laboratorio poco utilizadas en el ámbito avícola y que proporcionan información valiosa para evaluar la función y la integridad celular incluso antes de tener una manifestación morfológica. En este estudio fueron una herramienta excelente para valorar la función y estructura de diversos órganos en la etapa aguda y crónica de la intoxicación por fumonisinas y la infección por *Eimeria spp*.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se observa que la inclusión de fumonisinas a una concentración de 3 ppm / Kg de alimento (concentración similar a la

encontrada en el maíz proveniente del norte de México) de pollos de engorda infectados con 100 000 ooquistes de un inóculo mixto de *Eimeria spp*, no afecta el desempeño productivo de los animales, sin embargo, las aves mostraron una tendencia a favorecer el establecimiento del parásito al estar presente la fumonisina. Es necesario el uso de otras técnicas para corroborar dicha interacción a nivel intestinal, y para evaluar alteraciones inmunológicas y/o inflamatorias, como son la detección de interferón- γ , la detección de IL-8 o la presencia de linfocitos CD4+/ CD8+ en los sitios específicos de lesión. También es necesario el uso de otras pruebas para la detección de daños ocasionados por fumonisinas, como la utilización de biomarcadores para la detección de las bases esfingoides esfinganina: esfingosina en el suero.

REFERENCIAS

Allen PC, Fetterer RH. Recent Advances in Biology and Immunobiology of *Eimeria* Species and in Diagnosis and Control of Infection with These Coccidian Parasites of Poultry. *Clin Microb Reviews* 2002;15 (1) :58-65

Antón A, Lisazo J. Hongos y micotoxinas. Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria. Madrid, 2001

Arrieta MD, Pérez-Arévalo M, Gómez C, Molero G, Novoa E, Rincón H, Ascanio E. Efecto del alimento contaminado con aflatoxina B1 (0.07 mg/ Kg) sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica (AST y ALT) en pollos de engorde. *Rev. Científ. FCV-LUZ* 2006; vol. XVI (1):39-47

Assis RCL, Luns FD, Beletti ME, Assis RL, Nasser NM, Faria ESM, Cury MC. Histomorphometry and macroscopic intestinal lesions in broilers infected with *Eimeria acervulina*. *Vet Parasitol* 2010; 168: 185-189.

Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:497-516

Bezuidenhout SC, Gelderblom WCA, Gorst-Allman CP, Horak RM, Marasas WFO, Spiteller G, Vlegaar R. Structure Elucidation of the Fumonisin, Mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun* 1988; 743-745

Binder ME. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Anim Feed Sci Technol* 2007; 133:149-166

Bowes VA, Julian RJ, Stirtzinger T. Comparison of Serum Biochemical profiles of male broilers with female broilers and white leghorn chickens. *Can J Vet Res* 1989; 53:7-11

Bouhet S, Hourcade E, Loiseau N, Fikry A, Martinez S, Roseli M, Galtier P, Mengheri E, Oswald IP. The mycotoxin fumonisin B1 alters the proliferation and the barrier function of porcine intestinal cells. *Toxicol. Sci.* 2004; 77:165-171

Broomhed JN, Ledoux DR, Bermudez AJ, Rottinghaus GE. Chronic effects of fumonisin B₁ in broilers and turkeys fed dietary treatments to market age. *Poult Sci* 2002; 81: 56-61

Bryden WL. Mycotoxins in the food chain: Human health implications. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007; 16 Suppl 1: 95-101

Carrillo L. Material Bibliográfico Universidad Nacional de Salta Argentina Microbiología Agrícola, 2003. [Citado 4 de Mayo 2010] Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/>

Carvajal M, Arroyo G. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, México. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 1301- 1305

Comisión del Codex alimentarius, Documento de debate sobre las Fumonisinas. Tercera reunión; 2009 Marzo 23-27; Rotterdam, Países bajos: Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias Comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos.

Conway PD, McKenzie ME. Dayton AD. Relationship of coccidial lesion scores and weight gain in infections of *E. acervulina*, *E. maxima* and *E. tenella* in broilers. *Av Path* 1990; 19: 489-496

Conway PD, McKenzie ME. Poultry Coccidiosis Diagnostic and Testing Procedures. 3th ed. USA: Blackwell Publishing, 2007.

Cordero Del CM, Rojo VFA, Martínez FAR, Sanchez AMC, Hernandez RS, Navarrete L-CI, Diez BP, Quiroz RH, Carvalho VM. Parasitología Veterinaria. 1^{ra} ed. España: McGraw-Hill-Interamericana de España, 1999.

Charles NML. Manual de hematología aviar. UNAM, 2003.

De Lucca AJ. Harmful fungi in both Agriculture and medicine. *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 3-13

Del Bianchi M, Oliveira CAF, Albuquerque R, Guerra JL, Correa B. Effects of prolonged oral administration of Aflatoxin B₁ and Fumonisin B₁ in Broiler Chickens. *Poult Sci* 2005; 84: 1835-1840

Denli M, Pérez JF. Contaminación por micotoxinas en los piensos: Efectos, Tratamiento y Prevención. XII curso de Especialización FEDNA. Barcelona, 2006

Dilkin P, Mallmann CA, de Almeida CAA, Stefanon EB, Fontana FZ, Milbradt EL. Production of fumonisin by strains of *Fusarium moniliforme* according to temperature, moisture, and growth period. *Braz J Microbiol* 2002;33:111-118

Dombrink-Kurtzman MA, Dvorak TJ. Fumonisin content in masa and tortilla from México. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 622-627

Dupuy J, Le Bars P, Boudra H, Le Bars J. Thermostability of Fumonisin B₁, a Mycotoxin from *Fusarium moniliforme*, in corn. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59 (9): 2864-2867

Elaroussi MA, Mohamed FR, El Barkouky EM, Atta AM, Abdou AM and Hatab MH. Experimental ochratoxicosis in broiler chickens. *Av Path* 2006; 35: 263-269

FAO/OMS/PNUMA, Tercera Conferencia Internacional Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas, Túnez 1999

Fetterer RH, Allen PC. *Eimeria acervulina* infection elevate plasma and muscle 3-methylhistidine levels in chickens. *J. Parasitol.* 2000; 86: 783-791

Fetterer RH, Allen PC. *Eimeria tenella* infection in chickens: Effect on plasma and muscle 3- methylhistidine. *Poult Sci* 2001; 80: 1549-1553

Financiera rural.gob [página de internet]. México: Financiera rural; c2010 [Citado 2 de Mayo de 2010] Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Paginas/Pecuario.aspx>

Flores OCM, Hernández PLB, Vázquez MJ. Contaminación con micotoxinas en alimento balanceado y granos de uso pecuario en México en el año 2003. *Tec Pec Mex* 2006; 44 (2): 247-256

Fukata T, Komba Y, Sasai K, Baba E, Arakawa A. Evaluation of plasma chemistry and haematological studies on chickens infected with *E. tenella* and *E. acervulina*. *Vet Rec* 1997; 141: 44-46

González OLR, Catalá GAI, Soriano CJM, Moltó CJC, Mañes VJ. Aclaraciones terminológicas en el campo de la Micotoxicología. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23:64-66

Ghosh RC, Chauhan HV and Jha GJ. Suppression of cell-mediated immunity by purified aflatoxin B1 in broiler chicks. *Vet Immun Immunopath* 1991;28: 165-172.

Girgis GN, Sharif S, Barta JR, Boermans HJ, Smith TK. Immunomodulatory effects of feed-borne Fusarium mycotoxins in chickens infected with coccidian. *Exp Biol Med* 2008; 233: 1411-1420

Girish CK and Smith TK. Impact of feed-borne mycotoxins on avian cell-mediated and humoral immune responses. *World Mycotoxin Journal* 2008; 1 (2):105-121

Guarro J, Gené J, Stchigel AM. Developments in fungal taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12 (3): 454-500

Henry MH, Wyatt RD, Fletcher OJ. The toxicity of purified Fumonisin B₁ in broiler chicks. *Poult Sci* 2000; 79: 1378-1384

Hernández MMC, Vázquez RMÁ. Industrias Bachoco: estrategias de localización y competitividad ante el nuevo escenario avícola. *Región y Sociedad* [en línea] Sep. –Dic. 2009 [citado 7 de Mayo de 2010]; XXI (46). Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=10212161002>. ISSN 1870-3925

Hummes RR. Sensibilidade de perus (*Meleagris gallopavo*) às diferentes doses de aflatoxinas na dieta (Tesis de Maestría). Santa María, Brasil: Universidade Federal De Santa Maria, Centro De Ciências Rurais, 2006.

Idris AB, Bounous DI, Goodwin MA, Brown J, Krushinskie EA. Quantitative pathology of small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria maxima* in young broilers. *Av Path* 1997; 26: 731-747

Javed T, Dombrink-Kurtzman MA, Richard JL, Bennet GA, Coté LM, Buck WB. Serohematologic alterations in broiler chicks on feed amended with *Fusarium proliferatum* cultura material or fumonisin B₁ and moniliformin. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7: 520-526

Johnson J, Reid WM. Anticoccidial drugs: lesión scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp Parasitol.* 1970;28:30-36.

Juárez EMA, Nava MGM, Merino GR. Efecto de una vacuna anticoccidial sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos de pollos de engorda. *Vet Mex* 2007; 38 (3): 303-318

Keck BB, Bodine AB. The effects of fumonisin B₁ on viability and mitogenic response of avian immune cells. *Poult Sci* 2006;85:1020-1024

Kilbourne MM. Mold poisoning: An unrecognized English health problem, 1550-1800. *Med Hist*, 1981; 25:73-84

Klaassen CD, Watkins III JB. Casarett y Doull. Fundamentos de Toxicología. 1^{ra} ed. España: Mc Graw Hill, 2005.

Koynarski V, Stoev S, Grozeva N, Mirtcheva T, Daskalov H, *et al.* Experimental coccidiosis provoked by *Eimeria acervulina* in chicks simultaneously fed on Ochratoxin A contaminated diet. *Res Vet Sci* 2007; 82: 225-231

Laval RE. Sobre las epidemias del fuego de San Antonio. *Rev Chil Infect* 2004; 21(1):74-76

Ledoux DR, Brown TP, Weibking TS, Rottinghaus GE. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J Vet Diagn Invest* 1994; 4: 330-333

Leung LW, Contreras RG, Flores-Maldonado C, Cereijido M, Rodriguez-Boulan E. Inhibitors of glycosphingolipid biosynthesis reduce transepithelial electrical resistance in MDCK I and FRT cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: 1021-1030

Li YC, Ledoux DR, Bermudez AJ, Fritsche KL, Rottinghaus GE. Effect of Fumonisin B₁ on Selected Immune Response in Broiler Chicks. *Poult Sci* 1999; 78: 1275-1282

Lin GL, Himes JA, Cornelius CE. Bilirubin and biliverdin excretion by the chicken. *Am J Physiol* 1974;226 (4):881-885

Marasas WFO. Discovery and Occurrence of the Fumonisin: A Historical Perspective. *Environ Health Perspect* 2001; 109 (2): 239-243

Marcano MRV, Carabaño EJM, Ascanio EER, Silva LA. Cambios en la Patogenicidad de *Eimeria acervulina* en Presencia de Aflatoxina B₁ en Pollos de Engorde. *Rev.Fac. de Ciencias Veterinarias* [en línea] Julio 2005 [Citado 1 de Mayo 2010]; 46 (2):61-73. Disponible en:[URL:http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762005000200003&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762005000200003&lng=es&nrm=iso)

Merrill AH, Schmelz EM, Dillehay DL, Spiegel S, Shayman JA, Schroeder JJ, Riley RT, Voss KA, Wang E. Sphingolipids- The enigmatic lipid class: Biochemistry, physiology, and pathophysiology. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 1997; 142: 208-225

Merrill AH, Sullards MC, Wang E, Voss KA, Riley RT. Sphingolipid Metabolism: Roles in signal transduction and disruption by Fumonisin. *Environ Health Perspect* 2001; 109 (2): 283-289

Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. Taxonomy, Biology and Clinical Aspects of *Fusarium* Species. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7 (4): 479-504

Nelson PE, Plattner RD, Shackelford DD, Desjardins AE. Fumonisin B₁ production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in Section *Liseola* and by some related species. *Clin Microbiol Rev* 1992; 58 (3): 984-989

NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.

Oswald IP, Desautels C, Laffitte J, Fournout S, Peres SY, Odin M, Le Bars P, Le Bars J, Fairbrother JM. Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 5870-5874

Pattison M, Mc Moullin PF, Badbury JM, Alexander DJ. Poultry Diseases. 6th ed. UK: Elsevier, 2008

Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Efectos Tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. Boletín de la Organización Mundial de la Salud, Recopilación de artículos No. 2, 2000

Perusia OR, Rodríguez R. Micotoxicosis. *Rev Inv Vet Perú* 2001; 12 (2): 87-116

Quintana JA. Avitecnia Manejo de las aves domésticas más comunes, 2^{da} edición, 1991. Trillas, México.

Robledo ML, Marín S, Ramos AJ. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 141-144

Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. Avian Medicine: Principles and application, 1994. Wingers Publishing, USA

Ross PF, Nelson PE, Richard JL, Osweiler GD, Rice LG, Plattner RD, Wilson TM. Production of Fumonisin by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with Equine Leukoencephalomalacia and Pulmonary Edema Syndrome in swine. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56 (10): 3225-3226

Saif YM (editor in chief), Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE (associated editors). Diseases of Poultry, 12th ed. 2008, Blackwell Publishing, USA.

Scavazza GLR. Avaliação do efeito da incorporação de fumonisinas em ração de frangos de corte na histologia de fígado e mucosa intestinal e resposta imunológica humoral à

vacina contra doença de Newcastle (Tesis de Maestría). Curitiba, Brasil: Universidade Federal Do Paraná, 2009.

Shephard GS. Overview and latest advances in fumonisins. *Rev Mex Micol* 2005; 20: 81-88

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [Página de Internet]. México: SIAP [Citado el 3 de Mayo de 2010]. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=369

Soriano JM, González L, Catalá AI. Mechanism of action of sphingolipids their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. *Prog Lipid Res* 2005; 44: 345-356

Soriano JM. Micotoxinas en alimentos, 1^{ra} ed.: España, Díaz Santos, 2007.

Speijers GJA, Speijers MHM. Combined toxic effect of mycotoxins. *Toxicol Lett* 2004; 153: 91-98

Taylor MA, Wall RL, Coop RL. Veterinary Parasitology. 3th ed. UK, Blackwell Publishing, 2007.

Tejeda PA, Téllez IG, Galindo MF. Técnicas de medición de estrés en aves. *Vet. Mex.* 1997; 28 (4): 345-351

Tomley F. Techniques for Isolation and characterization of Apical Organelles from *Eimeria tenella* sporozoites. *Methods* 1997; 13: 171-176

Voss KA, Smith GW, Haschek WM. Fumonisins: Toxicokinetics , mechanism of action and toxicity. *Anim Feed Sci Technol* 2007; 137: 299-325

Whitlow LW, Hagler WM. Mycotoxins in Feeds. *Feedstuffs* 2002; 74 (28):1-10

Williams RB. Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. *Av Path* 2005; 34 (3): 159-180

Yazar S, Omurtag GZ. Fumonisin, Trichotecenes and Zearalenone in Cereals. *Int. J. Mol. Sci.* 2008; 9 : 2062-2090

Yegani M and Korver DR. Factors Affecting Intestinal Health in Poultry. *Poult Sci* 2008; 87: 2052-2063

Yescas HKR. Fumonisin, toxinas contaminantes de maíz, producidas por *Fusarium spp.* Propiedades, incidencia y análisis (Tesis de Licenciatura). Distrito Federal, México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2001.

Yun CH, Lillehoj HS, Lillehoj EP. Intestinal immune response to coccidiosis. *Dev Comp Immunol* 2000; 24: 303-324.

Zulpo DL, Peretti J, Mortean L, Longhi E, Oliveira MR, Gomes I, Arlington S, da Silva J, Garcia JL. Patogenicidade e observações histopatológicas de frangos de corte infectados experimentalmente com isolados de *Eimeria tenella*, *E. acervulina* e *E. máxima*. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina* 2007; 28(1): 97- 104.

APÉNDICES

Apéndice I

Determinación de micotoxinas

La determinación de micotoxinas se realizó mediante el uso de columnas de inmunoafinidad. Los kits empleados fueron el FumonitestTM para la determinación de fumonisinas, el AflatestTM para la determinación de aflatoxinas y el OcratestTM para la determinación de ocratoxina A, todos del laboratorio Vicam.

a) Determinación de fumonisinas B₁ y B₂

Para medir los niveles de fumonisinas, las muestras se prepararon mezclándolas con una solución de extracción seguida del molido y filtración. El extracto se pasó por la columna FumonitestTM, la cual contiene anticuerpos específicos para las fumonisinas y estas se unen a los anticuerpos en la columna. Posteriormente se lavó la columna para eliminar impurezas. Después se pasó la solución de elución por la columna con la finalidad de remover las fumonisinas de la columna, dicha solución se recolectó y se determinó la concentración de fumonisinas en un fluorómetro, ver figura 5.

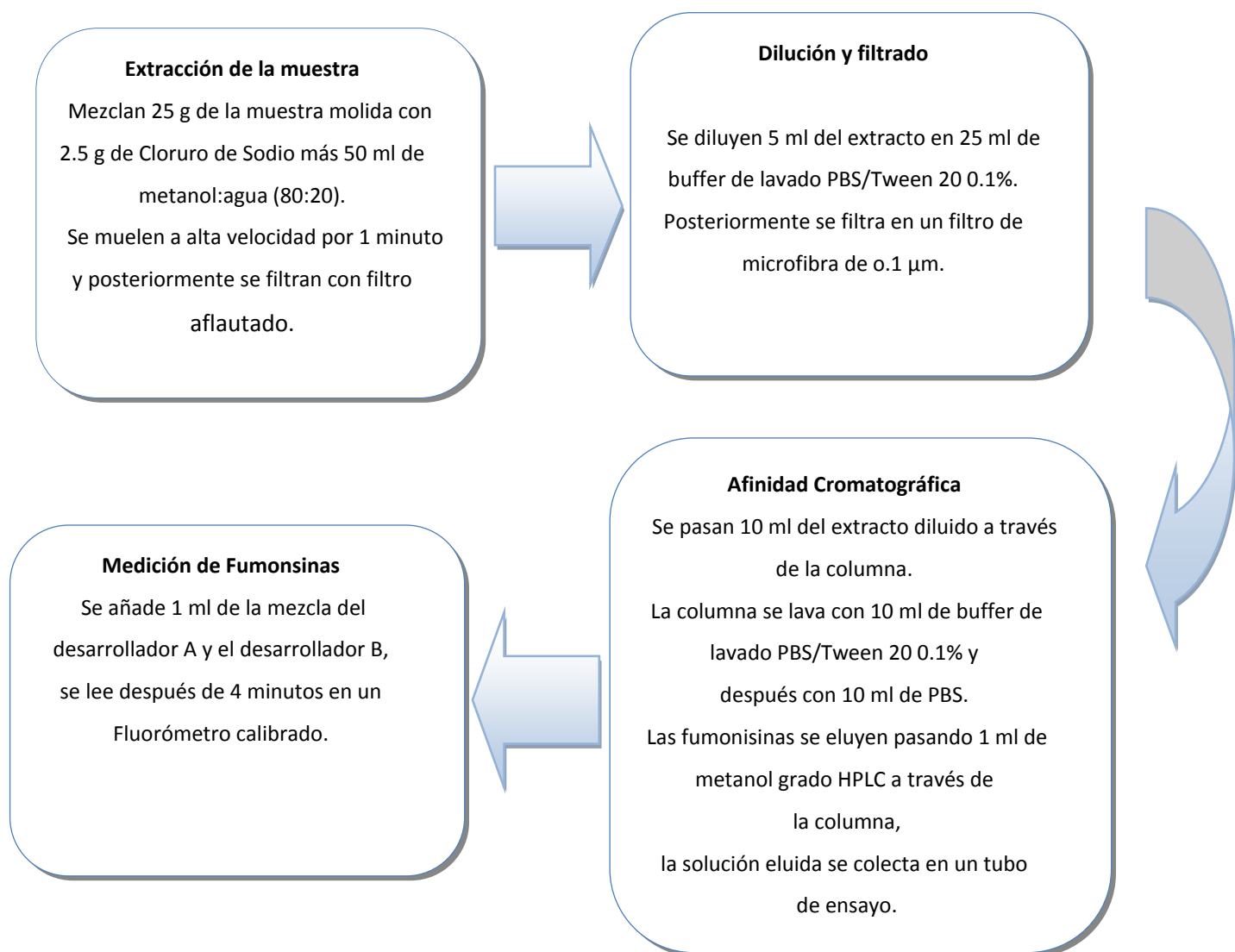


Figura 5. Metodología para la determinación de fumonisinas mediante columnas de inmunoafinidad.

a) Determinación de aflatoxinas

Para la determinación de aflatoxinas, las muestras se mezclaron con una solución de extracción, se molieron y se filtraron con filtro aflautado, el extracto se pasó a través de una columna Aflatest™ en la cual la toxina se une a anticuerpos específicos para aflatoxina. La columna se lavó con agua para eliminar impurezas. Las micotoxinas se eluyen al añadir metanol y el eluido se recolectó en viales para la determinación de aflatoxina mediante el uso del fluorómetro.

Para esta determinación se llevo a cabo una modificación de la técnica, en la cual se reducen las cantidades utilizadas, con la finalidad de disminuir costos, ver figura 6.

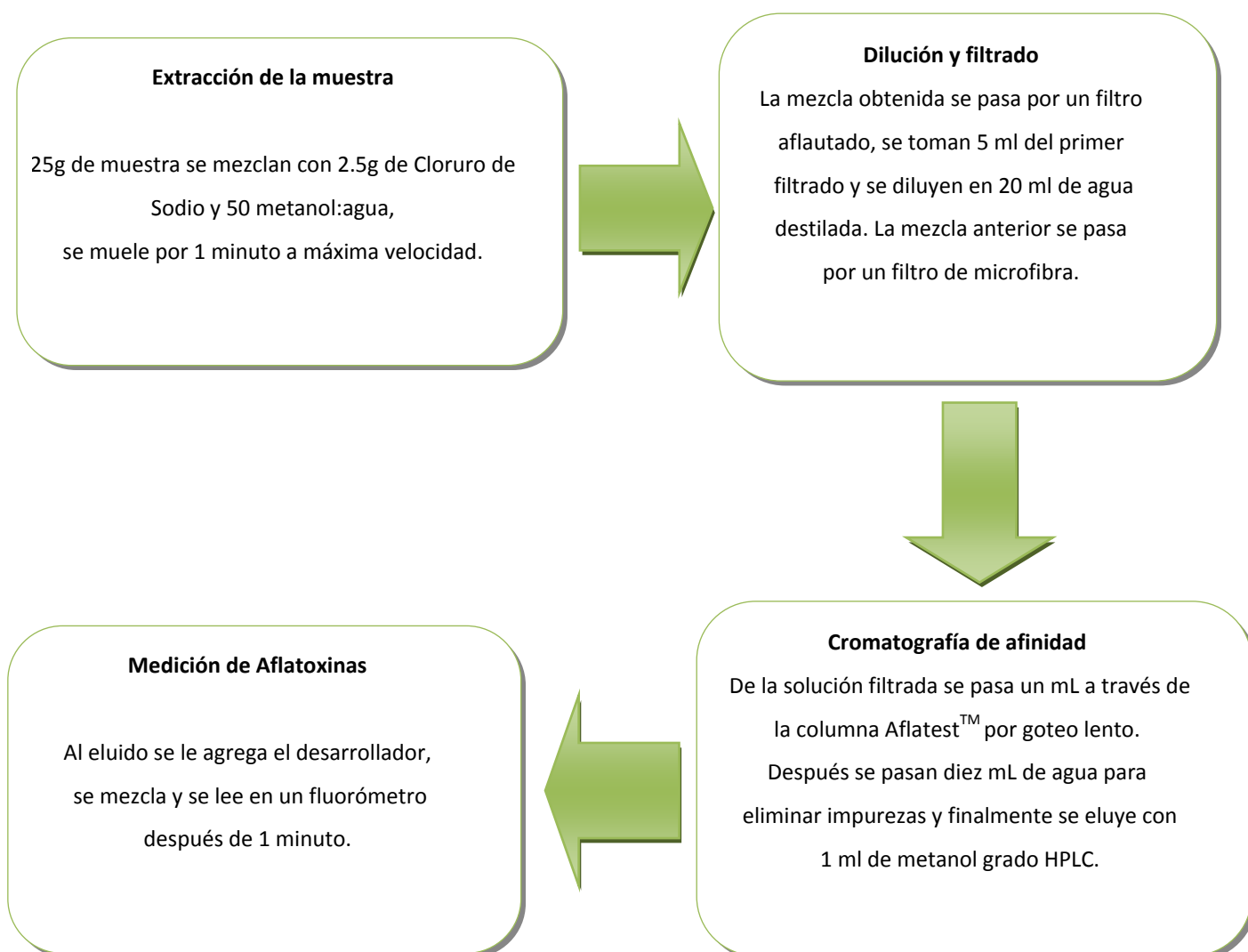


Figura 6. Metodología para la determinación de aflatoxinas mediante columnas de inmunoafinidad.

b) Determinación de Ocratoxina A

Para la determinación de ocratoxina A las muestras molidas se mezclaron con una solución de extracción, se molieron y se filtraron con filtro aflautado primero y con filtro de microfibra después, el extracto se pasa a través de una columna Ochratest™ en la cual la toxina se une a anticuerpos específicos para Ocratoxina A. La columna se lavó con agua para eliminar impurezas. Las micotoxinas se eluyeron al añadir metanol y se determinó la cantidad de Ocratoxina A mediante el uso del fluorómetro, ver figura 7.

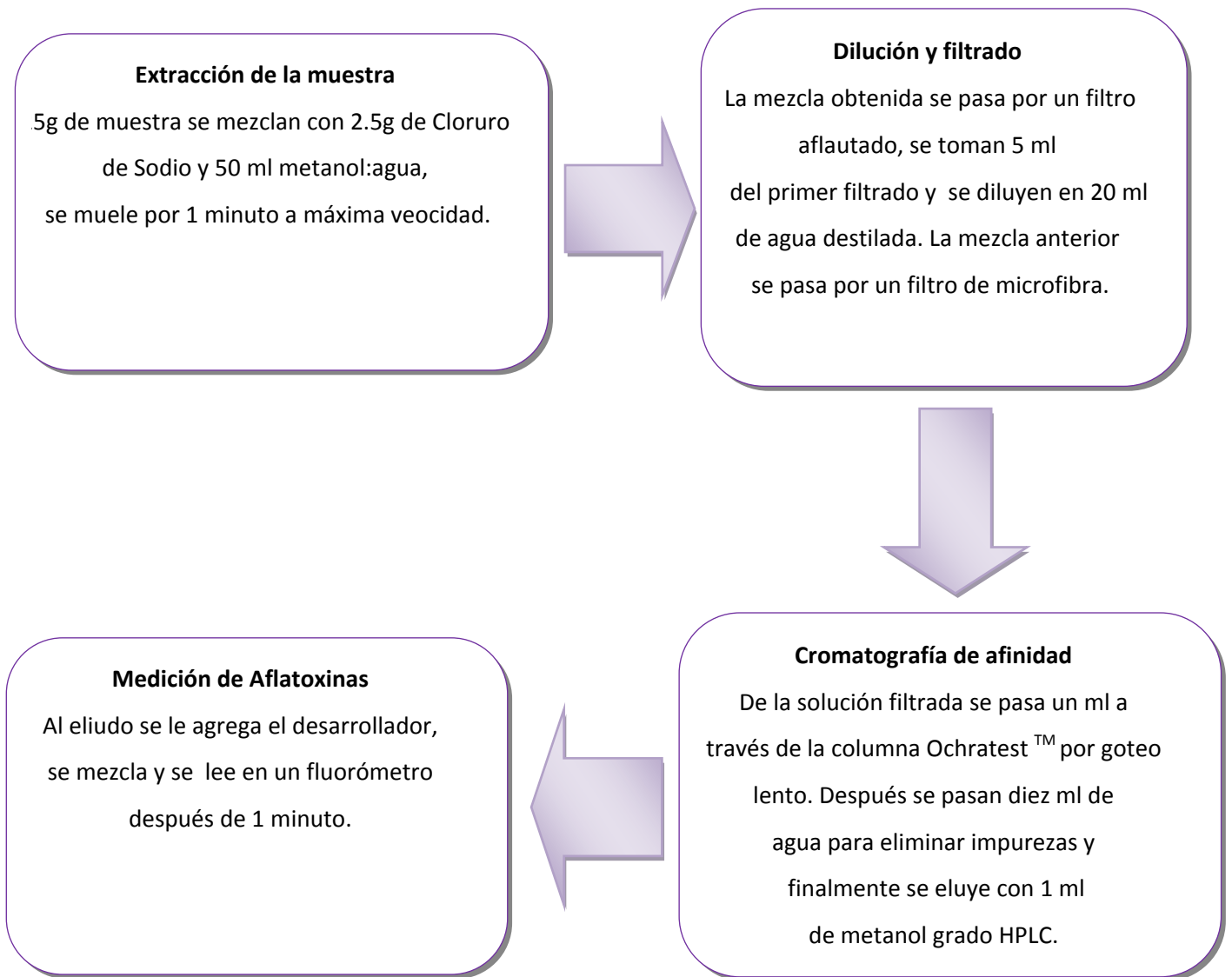


Figura 7. Metodología para la determinación de ocratoxina A mediante columnas de inmunoafinidad.

APÉNDICE II

Producción y mantenimiento de *Eimeria spp*

De un caso clínico de coccidiosis de campo se obtuvieron las heces de las aves enfermas, estas fueron lavadas con agua corriente y centrifugadas a 2500 rpm por 3 ocasiones, el pellet obtenido fue colocado en una solución de dicromato de potasio al 2.5% (J.T Baker) -25 g de dicromato por un litro de agua destilada y se colocó una bomba de pecera para favorecer la maduración de los ooquistes.

Una vez confirmada la maduración de los ooquistes la suspensión tipificó y se colocó en un frasco limpio hasta su empleo posterior.

Tipificación del inóculo

Los ooquistes del inóculo fueron tipificados en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, UNAM.

Para la tipificación, se realizó una flotación en solución saturada de cloruro de sodio del inóculo, se tomó una muestra y se colocó en un portaobjetos, se revisó en un microscopio Olympus CH-2 con el objetivo de 40 x. Los ooquistes se midieron a lo largo y ancho con una escala en la que una unidad equivale a 6.36 μm , de la misma manera se tomó en cuenta la forma del ooquiste, **cuadro 25**.

Cuadro 25. Tipificación del inóculo de *Eimeria sp*

Tamaño de los ooquistes				Forma	Especie
Largo (escala)	μm	Ancho (escala)	μm		
3	19.08	2.7	17.172	Ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.6	16.536	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.3	14.628	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	3.0	19.08	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.4	15.264	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	3.2	20.352	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.0	12.72	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.2	13.992	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.6	16.536	ovoide	<i>E. tenella</i>

3	19.08	2.3	14.628	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	3.0	19.08	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.4	21.624	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	2.8	17.808	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.4	21.624	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	3.0	19.08	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.3	20.988	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.5	22.26	2.6	16.536	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	2.9	18.444	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.3	20.988	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	3.0	19.08	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.1	19.716	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.7	23.532	3.1	19.716	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.3	14.628	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.8	17.808	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	2.5	15.9	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.3	20.988	2.7	17.172	ovoide	<i>E. tenella</i>
3.2	20.352	2.6	16.536	ovoide	<i>E. tenella</i>
3	19.08	3.0	19.08	ovoide	<i>E. tenella</i>
2.8	17.808	2.5	15.9	ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.5	15.9	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.1	13.356	2.3	14.628	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.7	17.172	2.3	14.628	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.2	13.992	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.4	15.264	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.9	18.444	2.1	13.356	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.7	17.172	2.6	16.536	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.8	17.808	2.4	15.264	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.8	17.808	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.5	15.9	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.8	17.808	2.1	13.356	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.8	17.808	2.5	15.9	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.9	18.444	2.3	14.628	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.2	13.992	Ovoide	<i>E. acervulina</i>

2.7	17.172	1.9	12.084	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.5	15.9	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.5	15.9	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.1	13.356	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.7	17.172	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.9	18.444	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.4	15.264	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.6	16.536	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.8	17.808	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.1	13.356	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.7	17.172	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.4	15.264	2	12.72	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
3	19.08	2.3	14.628	Ovoide	<i>E. acervulina</i>
2.6	16.536	2.4	15.264	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2	12.72	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2	12.72	1.9	12.084	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.5	15.9	2.3	14.628	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.3	14.628	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.9	18.444	1.9	12.084	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2	12.72	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.4	15.264	1.9	12.084	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2	12.72	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.1	13.356	2.5	15.9	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.4	15.264	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.4	15.264	2.3	14.628	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.5	15.9	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.3	14.628	1.9	12.084	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.7	17.172	2.4	15.264	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.6	16.536	2.4	15.264	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.9	18.444	2.3	14.628	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.5	15.9	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.5	15.9	2.1	13.356	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.2	13.992	2.1	13.356	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.3	14.628	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.5	15.9	2.1	13.356	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.1	13.356	2.1	13.356	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.1	13.356	2	12.72	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
2.8	17.808	2.1	13.356	Semiesférica	<i>E. mitis</i>
4.5	28.62	3.6	22.896	Ovoide	<i>E. máxima</i>
5	31.8	3.7	23.532	Ovoide	<i>E. máxima</i>
4.8	30.528	4	25.44	Ovoide	<i>E. máxima</i>

Ajuste de la cantidad de ooquistes del inóculo

Se realizó el conteo de ooquistes (Microscopio Leica CME, objetivo 10x), para esto se hicieron diez conteos de ooquistes en 10 μ l del inóculo (Pipetman ultra, Gilson 5-20 μ l). Los resultados obtenidos se muestran en el **cuadro 26**.

Cuadro 26. Cantidad de ooquistes esporulados y no esporulados en el inóculo.

No. De conteo	Ooquistes Esporulados	Ooquistes No Esporulados	Cantidad total
1	844	152	996
2	725	182	907
3	823	190	1013
4	793	310	1103
5	780	359	1139
6	898	396	1294
7	835	244	1079
8	867	335	1202
9	850	340	1190
10	744	206	950
Σ	8159	2714	10873
Prom.	815.90	271.4	1087.3

Se obtuvo una cantidad de 1087 ooquistes por 10 μ l, lo que equivale a 108,700 ooquistes por ml. De la cantidad anterior 81590 eran ooquistes esporulados (75%) y 27140 eran ooquistes no esporulados (25 %).

APÉNDICE III.

Las imágenes de los órganos recolectados, tomadas durante la necropsia se muestran a continuación.

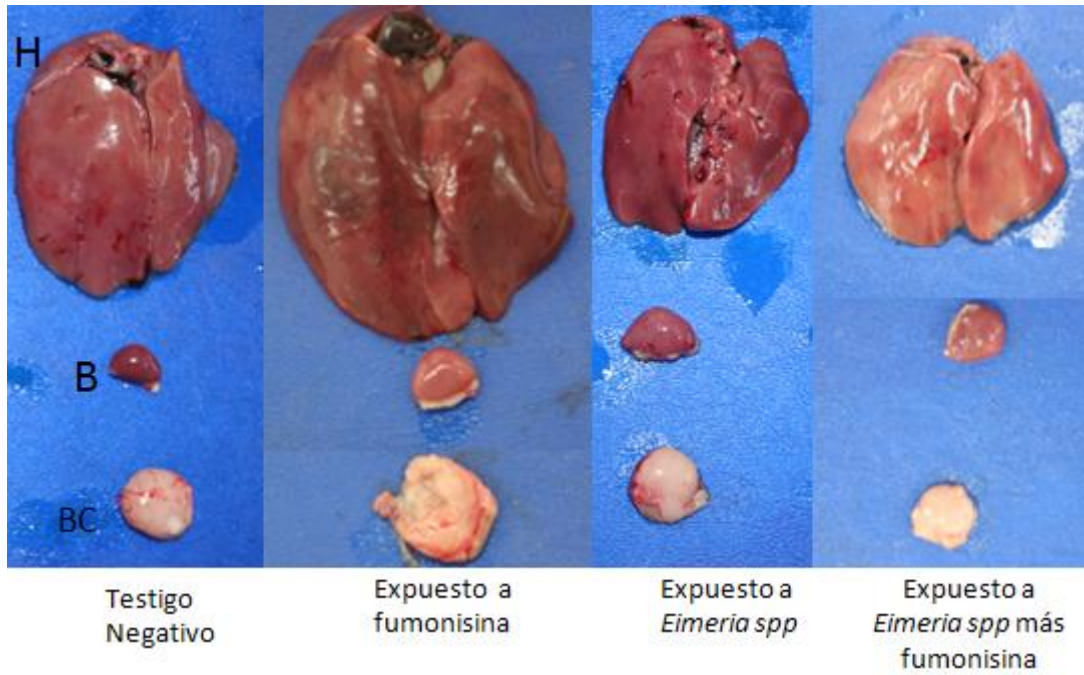


Figura 8. Fotografía del hígado (H), bazo (B) y bolsa cloacal (BC) de los tratamientos al día 35 de edad.

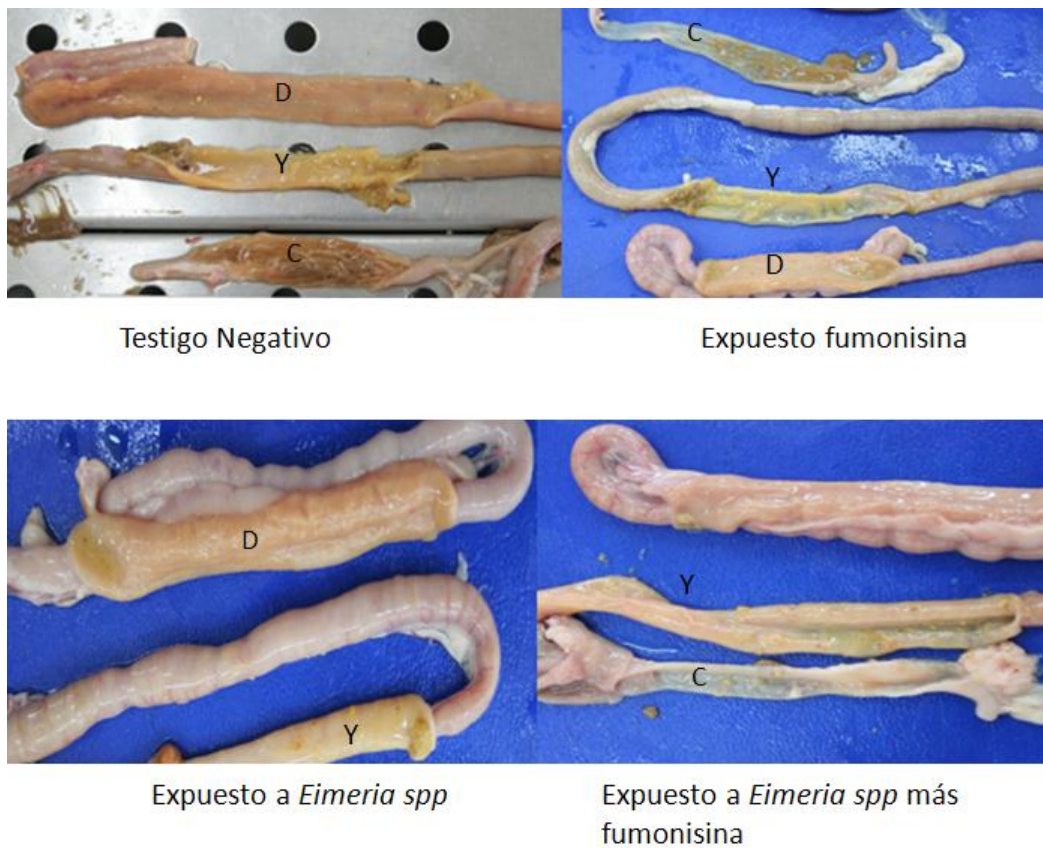


Figura 9. Fotografía de duodeno (D), yeyuno-íleon (Y) y ciego (C) de los tratamientos al día 35 de edad.