



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS PECUARIAS

TESIS

**EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY
INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA
EXPERIMENTAL Y COMERCIAL**

QUE PRESENTA

M.V.Z. RODOLFO RAMÓN MURILLO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS PECUARIAS

COMITÉ TUTORAL

**DR. TEODULO QUEZADA TRISTAN (DIRECTOR)
DR. HUGO CASTAÑEDA VÁZQUEZ
DR. OMAR FRANCISCO PRADO REBOLLEDO**

Jesús María, Ags., Invierno 2009

POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS



UNIVERSIDAD DE
COLIMA



UNIVERSIDAD DE
GUADALAJARA



UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO

Tesis

**EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY
INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA
COMERCIAL**

Que Presenta

M.V.Z. RODOLFO RAMÓN MURILLO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO

MAESTRO EN CIENCIAS PECUARIAS

Jesús María, Ags., Invierno 2009.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), así como a los decano del Centro M.C. José de Jesús Gutiérrez González y M.C. Mario Alejandro López Gutiérrez, por su apoyo financiero en el proyecto institucional con clave PIP/SA 08-1 y al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONCyT) por su apoyo complementario al proyecto titulado "Evaluación anticoccidial de la inmunoglobulina IgY incorporada al alimento en pollos de engorda de manera comercial" para cubrir los gastos de inversión y de operación requeridos para la realización de las actividades de esta investigación. Así mismo, a las autoridades del Centro de Ciencias Agropecuarias, Posta Zootécnica de la Universidad y al M.V.Z. MIGUEL MARTÍNEZ IBARRA Jefe del área Pecuaria por el apoyo brindado durante el tiempo de desarrollo del proyecto.

De la misma manera agradezco a la empresa Investigación Aplicada S. A. (IASA), M.C. MVZ. Eduardo Lucio Decanini, Director de la empresa antes mencionada por su apoyo en la materia prima de las inmunoglobulinas y el apoyo en el laboratorio de patología, así como al MVZ. José Luis Fuentes Montes por la donación de jaulas para el alojamiento y cría de los pollos, en el primer experimento, ya que con su aportación determinaron en gran medida a la realización de este trabajo de investigación.

También hago un reconocimiento merecido a: DR. TÉODULO QUEZADA TRISTÁN (Director), por su valiosa colaboración que sin ella no habría sido posible lograr los objetivos, DR. HUGO CASTAÑEDA VÁZQUEZ, DR. OMAR FRANCISCO PRADO REBOLLEDO, DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ, DR. ARTURO G. VALDIVIA FLORES, T.A Ma. LOURDES DURÓN DÍAZ por su apoyo en el seguimiento en de la prueba de conteo de oocistos, AGUSTÍN CHÁVEZ SALDIVAR, por su apoyo en la atención a las aves.

DEDICATORIA

A mis padres:

Lúcio Ramón Solís† y Amelia Murillo Álvarez†

A mis hermanos:

Esthela, Lola†, Tita, Irma, Victor Manuel, Raúl†, Lúcio†

A mi esposa:

Ma. Elena Silva Vargas por su apoyo incondicional y comprensión

A mis suegros y cuñados

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes

LIC. ERNESTINA LEÓN RODRÍGUEZ
SECRETARIA GENERAL DE LA UAA
P R E S E N T E.

AT'N: C.P. MA. ESTHER RANGEL JIMÉNEZ
JEFA DEL DEPTO. DE CONTROL ESCOLAR

Por la presente para hacer saber a Ud., que la MVZ Rodolfo Ramón Murillo, alumno del Programa de Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias (PICP), ha cubierto cabalmente los requisitos académicos del programa y ha recibido la aprobación explícita de su tesis titulada "Evaluación anticoccidial de la inmunoglobulina IgY incorporada al alimento en pollos de engorda de manera experimental y comercial".

Lo anterior es a fin de que el MVZ Rodolfo Ramón Murillo pueda proseguir en los trámites correspondientes pertinentes a la obtención del grado académico respectivo.

Agradeciendo de antemano su atención al presente, me despido de usted, enviándole un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Jesús María, Aguascalientes, 01 de diciembre de 2009
"Se Lumen Proferre"

M.C. MARIO ALEJANDRO LÓPEZ GUTIÉRREZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. Control Escolar
c.c.p. Secretario de Investigación y Posgrado
c.c.p. Archivo

*MALG/mml

**INTEGRANTES DEL CONSEJO ACADÉMICO DE
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**

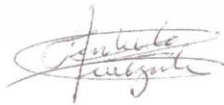
Por este medio informo a ustedes que he revisado la última versión del documento de la tesis titulada **“EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA EXPERIMENTAL Y COMERCIAL”** presentada por el **MVZ. RODOLFO RAMON MURILLO**, misma que se deriva de los trabajos de investigación que desarrolló bajo el tutelaje del DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN.

Debido a que no he encontrado ningún elemento que impida su impresión, presentación y defensa en el examen de grado correspondiente, extendiendo un **VOTO APROBATORIO** para que pueda continuar con el proceso reglamentario de titulación del nivel maestría dentro del POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS.

Atentamente

“SE LUMEN PROFERRE”

Jesús María, Aguascalientes a 26 de noviembre de 2009



DR. EN C. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN
PROFESOR INVESTIGADOR DEL CCA

Dr. José de Jesús Luna Ruiz
Secretario de Investigación y Posgrado
Centro de Ciencias Agropecuarias
Universidad Autónoma de Aguascalientes
Presente:

Por este conducto hago de su conocimiento que la tesis titulada **“EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA EXPERIMENTAL Y COMERCIAL”** que presenta como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias Pecuarias el C. MVZ. **RODOLFO RAMÓN MURILLO**, realizada bajo la dirección del Dr. **TÉODULO QUEZADA TRISTÁN**, he considerado que el trabajo cumple con los requisitos para ser discutido en el examen de defensa, por lo que otorgo mi **VOTO APROBATORIO**.

Se extiende la presente para los trámites administrativos necesarios para el interesado, en la ciudad de Tecomán, Colima a los 27 días del mes de noviembre de 2009.

ATENTAMENTE



DR. OMAR FRANCISCO PRADO REBOLLEDO

PROFESOR-INVESTIGADOR TITULAR A

FMVZ U DE C



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA.

Dr. José de Jesús Luna.
Secretario de Investigación y Posgrado.
Universidad Autónoma de Aguascalientes.

A través de la presente le comunico mi aprobación de la tesis del
MVZ Ramon Murillo Rodolfo
Agradezco de antemano la atención a la presente y le envío cordiales
saludos.

Atentamente.

Piensa y Trabaja.

Las Agujas, Zapopan 1 de Diciembre de 2009.

Dr. Hugo Castañeda Vázquez.

Profesor Investigador Titular C.

Km. 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales, División de Medicina Veterinaria. Tel. y Fax- 52-33382-06-65. Predio Las Agujas, C.P. 45110, Zapopan, Jalisco, México.



**INTEGRANTES DEL CONSEJO ACADÉMICO DE
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**

Por este medio informo a ustedes que he revisado la última versión del documento de la tesis titulada **"EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA EXPERIMENTAL Y COMERCIAL"** presentada por el **MVZ. RODOLFO RAMON MURILLO**, misma que se deriva de los trabajos de investigación que desarrolló bajo el tutelaje del DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN.

Debido a que no he encontrado ningún elemento que impida su impresión, presentación y defensa en el examen de grado correspondiente, extendiendo un **VOTO APROBATORIO** para que pueda continuar con el proceso reglamentario de titulación del nivel maestría dentro del POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS.

Atentamente

"SE LUMEN PROFERRE"

Jesús María, Aguascalientes a 30 de noviembre de 2009

**DR. EN C. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES
PROFESOR INVESTIGADOR**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**INTEGRANTES DEL CONSEJO ACADÉMICO DE
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**


Por este medio informo a ustedes que he revisado la última versión del documento de la tesis titulada "EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMUNOGLOBULINA IGY INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA EXPERIMENTAL Y COMERCIAL" presentada por el MVZ. RODOLFO RAMON MURILLO, misma que se deriva de los trabajos de investigación que desarrolló bajo el tutelaje del DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN.

Debido a que no he encontrado ningún elemento que impida su impresión, presentación y defensa en el examen de grado correspondiente, extendiendo un **VOTO APROBATORIO** para que pueda continuar con el proceso reglamentario de titulación del nivel maestría dentro del POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS.

Atentamente

"SE LUMEN PROFERRE"

Jesús María, Aguascalientes a 26 de noviembre de 2009



M. EN C. ARMANDO MARTÍNEZ DE ANDA
PROFESOR INVESTIGADOR DEL CCA





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**INTEGRANTES DEL CONSEJO ACADÉMICO DE
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**

Por medio de la presente informo que he revisado la última versión del documento de la tesis titulada **“EVALUACIÓN ANTICOCCIDIAL DE LA INMONOGLOBULINA IGY INCORPORADA AL ALIMENTO EN POLLOS DE ENGORDA DE MANERA EXPERIMENTAL Y COMERCIAL”** presentada por **MVZ. RODOLFO RAMÓN MURILLO**, misma que se deriva de los trabajos de investigación que desarrolló bajo el tutelaje del **DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN**.

Debido a que no he encontrado ningún elemento que impida su impresión, presentación y defensa en el examen de grado correspondiente, por lo cual no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para que pueda continuar con el proceso reglamentario de titulación del nivel de maestría dentro del **POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**.

Atentamente

“SE LUMEN PROFERRE”

Jesús María, Aguascalientes a 1 de diciembre de 2009

MC. EMMANUEL HERNÁNDEZ VALDIVIA
PROFESOR INVESTIGADOR

RESUMEN

Para evaluar el efecto anticoccidiano de la inmunoglobulina Y (IgY). Se realizaron dos estudios. El primero con un diseño experimental completamente al azar, se seleccionaron 315 pollos de engorda machos, de la línea ROSS -308 de un día de edad, con un peso promedio de 38.0 ± 3 g. Se distribuyeron en siete tratamientos con 3 repeticiones de 15 aves cada uno. Se formaron dos grupos de tratamientos los no desafiados y los desafiados a *Eimerias tenella* a las tres semanas de edad con 2500 oocistos/mL. En el primer grupo se encuentran los tratamientos No 1; alimento sin coccidiostato (SC), No 2; alimento con coccidiostato (CC), y el No 6; pollos vacunados con *Eimerias spp.* (VE), mientras que en el grupo de las aves desafiadas están el No 3; alimento sin coccidiostato y desafiados (SCD), No 4; alimento con coccidiostato (CCD), No 5; alimento con IgY tratamiento No 7; alimento sin coccidiostato y vacunados con *Eimerias spp.* (SCVD). Se alimentaron *ad libitum* con dietas isoproteicas e isoenergéticas, en tres etapas de 1 a 21 días (iniciador) de 22 a 35 días (desarrollo) y de 36 a 42 días (finalización). Semanalmente y hasta al final el experimento se registro el peso promedio de las aves (PP), el índice de conversión (IC), la ganancia diaria de peso (GDP) y el índice de productividad (IP). Se realizaron muestreos de heces a los 21, 28, 35 y 42 días. Las heces se prepararon a razón de 1:5 (1 g de heces/5 mL de dicromato de potasio al 2.5%) y se realizó el conteo de oocistos en cámara de Neubauer. Se tomaron muestras de sangre (2 mL) por punción cardiaca a tres aves por tratamiento, se obtuvo el suero y se conservaron en refrigeración hasta su uso. Se realizaron los estudios de inhibición de hemoaglutinación (HI) para evaluar la respuesta al virus vacunal de Newcastle (NC) e Influenza aviar (IA). Se sacrificaron tres aves por tratamiento a los 28, 35 y 42 días, se disecaron los sacos ciegos y se evaluaron las lesiones de acuerdo a la técnica descrita por Johnson y Reid (1970). Los datos de los parámetros productivos y el número total de oocistos en las heces se evaluaron a través de la prueba de análisis de varianza (ANDEVA). Mientras que, el índice de las lesiones y niveles de anticuerpos de NC, e IA, fueron evaluados con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Las diferencias se determinaron a un nivel de significancia de $P < 0.05$. Se observaron diferencias en los parámetros productivos de PP, GDP, IP e IC. El segundo estudio se realizó a nivel comercial con cinco repeticiones. Se formaron cuatro grupos de aves: dos de hembras y dos de machos, de la línea ROSS -308 de un día de edad, con un peso promedio de 37.0 ± 3 g. Los tratamientos fueron machos $T_2 =$ con IgY y T_4 con coccidiostato y hembras $T_1 =$ con IgY y T_3 con coccidiostato. Se tomaron registros semanalmente, se realizó el conteo de oocistos en heces, se tomaron muestras de sangre para medir el nivel de anticuerpos (AC) contra NC e IA y de intestino para estudios la evaluación de lesiones por *Eimerias spp.* Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) y pruebas no paramétrica de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de $P < 0.05$. A los 42 días se obtuvieron diferencias significativas en los parámetros productivos Peso Promedio (PP), Índice de Conversión (IC) y Ganancia Diaria de Peso (GDP), siendo mejores los tratamientos, T_2 y T_4 ($P < 0.05$). Mientras que el Índice de Productividad (IP), fue mejor el T_2 ($P > 0.05$). En

todos los tratamientos no se logró observar diferencias significativas en los niveles de AC de NC, e IA ($P>0.05$). Tampoco se observaron oocistos esporulados en las heces, ni lesiones histológicas sugestivas de las *Eimerias* en todos los tratamientos. Estos resultados permiten concluir que las IgY tienen un efecto similar a los coccidiostatos comerciales como anticoccidiostático.

Palabras **clave**: coccidia, inmunoglobulinas, coccidiostato, vacunas



SUMMARY

Two trials were performed to evaluate the anticoccidian effect of immunoglobulin Y (IgY). One utilized a complete randomized design in which 315 one day aged ROSS-308 line male meat producing chickens were selected, averaging 38.0 ± 3 g weight. They were allocated in seven treatments with three replications of 15 birds each. Two treatment groups were formed the exposed and not exposed to *Eimerias tenella* at three weeks of age with 2500 oocites/mL. The first group was made up of treatments No. 1-feed without coccidiostate (WOC), No. 2-feed with coccidiostate (WC), and No. 6-chickens vaccinated with *Eimerias spp.* (VE). The other group of treatments (the exposed one) was conformed with treatment No. 3-feed without coccidiostate and exposed (WOCD), No. 4-feed with coccidiostate (WC), No. 5-feed plus IgY, and treatment No. 7-feed without coccidiostate and vaccinated with *Eimerias spp.* (WOCV). They were fed *ad libitum* with isoproteic and isoenergetic diets in three stages from 1 to 21 days (start ration), from 22 to 35 days (development ration), and from 36 to 42 days (finishing ration). Average bird weight (ABW), conversion index (CI), average daily gain (ADG), and productivity index (PI) were registered weekly. Fecal sampling were monitored at 21, 28, 35, and 42 days. Feces were prepared at 1:5 ratio (1 g feces/5mL of 2.5 % potassium dichromate). Oocite counts were made in a Newbaver chamber. Blood samples (2 mL) were taken through cardiac tap to three birds, serum was obtained and refrigerated until usage. Hemoagglutination inhibition (HI) studies were executed to assess the response to the vaccinal virus Newcastle (NC) and avian influenza (AI). Three birds per treatment were sacrificed at 28, 35 and 42 days, carcasses were dried out and lesions were evaluated according to the methodology described by Johnson and Reid (1970). Data regarding productive variables and total number of oocites in feces were analyzed through ANOVA while lesions index and antibody levels of both NC-Newcastle and AI-Avian Influenza were processed through the non-parametric Kruskal-Wallis test. Differences were determined with a significance level of ($P < 0.05$). Differences were detected in the productive parameters bird's average weight (AW), average daily gain (ADG), productivity index (PI), and conversion index (CI). The second trial was conducted at commercial level with five replications in which four bird groups were established (two female and two male) One utilized a complete randomized design in which one day aged ROSS-308 line averaging 37.0 ± 3 g weight. Treatments were No. 2-males with IgY and No. 4-males with coccidiostate, No. 1-females with IgY and No. 3-females with coccidiostate. Data were gathered weekly, oocites counts in feces were registered, blood samples were taken to evaluate antibody level (AL) vaccinal virus Newcastle (NC) and avian influenza (AI) and intestine to assess lesions caused by *Eimerias spp.* Data were analyzed through ANOVA and the non-parametric Kruskal-Wallis test. Differences were determined with a significance level of ($P < 0.05$). At 42 days significant differences ($P < 0.05$) were obtained in the productive variables average weight (AW), conversion index (CI), and average daily gain (ADG) in which treatments 2 and 4 were the best ($P < 0.05$) whereas productivity index (PI) was better in treatment 2 ($P < 0.05$). Differences were not detected ($P > 0.05$) at the levels of NC and AI. Neither sporulated oocites in feces

nor histological lesions were detected suggesting *Eimerias* on all the treatments. These results permit us to conclude that the IgY do have a similar effect to the commercial coccidiostats as anti-coccidiostatic.

Key words: coccidia, immunoglobulins, coccidiostate, vaccines.



ÍNDICE GENERAL

No.	Contenido	Página
	Portada	i
	Portadilla	ii
	Agradecimientos	iii
	Dedicatorias	iv
	Cartas de liberación	v
	RESUMEN	xii
	SUMMARY	xiv
	Índice General	xvi
	Índice de Cuadros	xix
	Índice de Figuras	xx
	Abreviaturas	xxi
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	ANTECEDENTES	4
2.1	Aspectos generales	4
2.2	La coccidiosis en pollos	4
2.2.1	Ciclo biológico de la coccidiosis	5
2.2.2	Manifestaciones clínicas de la enfermedad	8
2.2.2.1	Coccidiosis Clínica	8
2.2.2.2	Coccidiosis Subclínica	8
2.3	Impacto económico de la coccidiosis Aviar	8
2.4	Impacto de la coccidiosis sobre los parámetros productivos	10
2.5	Otros efectos provocados por la coccidia	10
2.6	Resistencia de las coccidiosis aviar	11
2.7	Estrategias de prevención, control y tratamiento de la coccidiosis	11
2.7.1	Métodos de prevención de la coccidiosis	11
2.7.2	Métodos de control de la coccidiosis aviar	12
2.7.3.	Vacunación como medida de control contra coccidiosis	13
2.8	Tratamiento de la coccidiosis	17
2.8.1	Régimen de tratamiento profiláctico	17
2.8.2	Régimen de tratamiento terapéutico	18
2.9	Sistema inmune de las aves	19
2.9.1	Sistema inmune del aparato digestivo de las aves	26
2.9.2	Respuesta inmune de las aves ante coccidiosis	30
2.9.3	Producción de IgY a partir de yema de huevo	32
2.9.4	Ventajas en el uso de la IgY	34
III	JUSTIFICACIÓN	36
IV	HIPÓTESIS	38
V	OBJETIVOS	38
5.1	Objetivo general	38
5.2	Objetivos específicos	38
VI	MATERIALES Y MÉTODOS	40

No.	Contenido	Página
6.1	Ubicación	40
6.2	Materiales	40
6.2.1	Material biológico	40
6.2.1.1	Aves	40
6.2.1.2	Producción de IgY de yema de huevo	41
6.2.1.3	Oocistos	41
6.2.1.4	Características del alimento	41
6.2.1.5	Heces	42
6.2.1.6	Sangre	42
6.2.1.7	Muestras de Intestino delgado	42
6.2.2	Reactivos utilizados	42
6.3	Métodos	43
6.3.1	Primer Etapa	43
6.3.1.1	Protocolo experimental	43
6.3.1.2	Características del alimento	44
6.3.1.3	Administración de IgY	44
6.3.1.4	Administración de la <i>Eimeria tenella</i>	44
6.3.1.5	Administración de la Vacuna	44
6.3.1.6	Niveles de Ac	45
6.3.1.7	Número de oocistos por gramo de heces (OPGH)	46
6.3.1.8	Lesiones de coccidias	47
6.3.1.9	Parámetros productivos	47
6.3.1.10	Análisis estadístico	48
6.3.2	Segunda Etapa	48
6.3.2.1	Protocolo de Campo	49
VII	RESULTADOS	50
7.1	Primera etapa (Diseño experimental)	50
7.1.1	Índice de lesiones en intestino provocadas por <i>Eimeria tenella</i>	50
7.1.2	Número de oocistos por gramos de heces (OPGH).	51
7.1.3	Respuesta serológica	51
7.1.3.1	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle.	51
7.1.3.2	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza aviar (IA),	52
7.1.4	Parámetros productivos	53
7.1.4.1	Peso corporal promedio	53
7.1.4.2	Índice de conversión	54
7.1.4.3	Ganancia diaria de peso	55
7.1.4.4	Índice de productividad.	56
7.2	Segunda etapa (Diseño no experimental)	57
7.2.1	Índice de lesiones en intestino provocadas por <i>Eimeria spp</i>	57
7.2.2	Número de oocistos excretados en las heces	58
7.2.3	Respuesta serológica	59
7.2.3.1	Respuesta de anticuerpos contra <i>NC</i>	59

No.	Contenido	Página
7.2.3.2	Respuesta de anticuerpos contra IA	60
7.2.4	Parámetros productivos	61
7.2.4.1	Peso promedio	61
7.2.4.2	Índice de conversión alimenticia	62
7.2.4.3	Ganancia diaria de peso	63
7.2.4.4	Índice de productividad	64
VIII	DISCUSIÓN	66
8.1	Índice de lesiones en intestino provocadas por <i>Eimerias spp</i>	66
8.2	Número de oocistos por gramos de heces (OPGH).	67
8.3	Respuesta serológica	68
8.4	Parámetros productivos	69
8.4.1	Peso corporal promedio	69
8.4.2	Índice de conversión	69
8.4.3	Ganancia diaria de peso	70
8.4.4.	Índice de productividad	70
IX	CONCLUSIÓN	72
X	LITERATURA CITADA	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Contenido	Página
1	Coccidiostatos registrados y recomendados para su uso en los pollos de engorda	18
2	Algunos coccidiostatos de uso más frecuentes en el alimento en aves	19
3	Inmunidad innata y adaptativa de las aves	23
4	Efecto anticoccidiano de IgY al desafío de <i>Eimeria tenella</i>	43
5	Características nutricionales del alimento	44
6	Clasificación de las lesiones intestinales provocadas por coccidia	47
7	Efecto anticoccidiano de IgY al desafío de <i>Eimeria spp</i> de campo	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Contenido	Página
1	Ciclo biológico de la coccidia, etapa sexual y asexual los ooquistes	7
2	Sistema inmune de las aves	20
3	Células del sistema inmune	21
4	Origen de las células del sistema inmune	22
5	Grado de lesión de los intestinos en pollos de engorda machos	50
6	Cantidad de oocistos por gramo de heces en pollos de engorda machos	51
7	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle obtenidos en pollos de engorda machos	52
8	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar (IA), obtenidos en pollos de engorda machos	53
9	Peso promedio de pollos de engorda machos	54
10	Índice de conversión alimenticia de pollos de engorda machos	55
11	Ganancia diaria de peso de pollos de engorda machos	56
12	Índice de productividad de pollos de engorda machos	57
13	Grado de lesión de los intestinos de cinco ciclos, en pollos de engorda machos y hembras	58
14	Cantidad de oocistos por gramo de heces de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras	59
15	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras	60
16	Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar, de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras	61
17	Peso promedio de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos	62
18	Índice de conversión alimenticia de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos	63
19	Ganancia diaria de peso de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos	64
20	Índice de productividad de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos	65

ABREVIATURAS

Acs	Anticuerpos	IC	Índice de conversión
ADN	Ácido desoxirribonucleico	IASA	Investigación Aplicada S.A.
ANDEVA	Análisis de varianza	Igs	Inmunoglobulinas
ANOVA	Análisis de varianza	IgY	Inmunoglobulina Y
BI	Bronquitis Infecciosa	IgYD	Inmunoglobulina Y desafiado
°C	Grados Celsius.	IMC	Inmunidad mediada por células
CB	Células "B"	IFN	Interferón
CCD	Con Coccidiostato desafiado	IP	Índice de productividad.
CCSD	Con coccidiostato sin desafiado	kg	Kilogramo
CDAMC	Citotoxicidad dependiente de anticuerpos mediados por células	L	Litro
CEE	Comunidad económica Europea	LT	Linfocitos "T"
Co	Cobalto	min	Minuto
Cm	Centímetro	Mg	Magnesio
CTL	Células del tejido linfoide	mL	Mililitro
Cu	Cobre	msnm	Metros sobre el nivel del mar
D	Día	n	Número de observaciones
e	Error experimental	NC	Newcastle
ELISA	Ensayo inmunoenzimático	NK	Natural Killer
EM	Enfermedad de Marek	NRC	Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos de América
et al	Y colaboradores	OPGH	Oocistos por gramo de heces.
etc.	Etcétera	P	Probabilidad de "F" en ANOVA
FAO	Food and Agriculture Organization	pp	Peso promedio
FNT	Factor de Necrosis Tumoral	ppm	Partes por millón
g	Gramo	rpm	Revoluciones por minuto
gdp	Ganancia diaria de peso	SAS	Statistical Analysis System
H	Hora	ScD	<i>Sin coccidiostato desafiado.</i>
HI	Inhibición de la hemoaglutinación	SCVD	Sin coccidiostato vacunado desafiado
IA	Influenza Aviar	sem	Semana

Se	Selenio	TMT₃₋₄	Coccidiostato
Spp	Especies	UI	Unidades Internacionales
TMA	Tasa media anual	UNA	Unión Nacional de Avicultores
ton	Tonelada	VD	Vacunado desafiado
TMT₁₋₂₋₃₋₄	Tratamiento 1-2-3-4	VSD	Vacunado sin desafiarse
TMT₁₋₂	Inmunoglobulina	Zc	Zinc



I INTRODUCCIÓN

La coccidiosis aviar es una enfermedad causada por protozoarios de la familia apicomplexa, género *Eimeria*, caracterizados por producir diversos grados de lesiones intestinales, en todas las parvadas y durante todo el año en los pollos de engorda criados en forma intensiva (Moreno e Ibarra, 2002), ya que afecta en forma negativa la producción y el desarrollo de las aves; causando grandes pérdidas económicas, que son estimadas en más de 3,000 millones de dólares anuales en el mundo (Williams, 1999; Shirley, 2004), debido al retraso en el crecimiento, a la pobre conversión alimenticia, la mala pigmentación, la alta morbilidad y mortalidad, así como la reducción de la producción de huevos en gallinas ponedoras (Dalloul y Lillehoj, 2005).

La infección inicia con la ingestión de los ooquistes esporulados presentes en la cama de las casetas y luego de pasar por todas las etapas de la reproducción asexual y sexual, los ooquistes no esporulados son excretados en las heces reiniciando su ciclo. (Moreno e Ibarra, 2002). La Coccidiosis es causada por diferentes especies del género *Eimeria* que infectan el intestino y se transmiten entre las aves vía la ingestión de oocistos infectantes. *Eimeria spp.*, posee un complejo ciclo de vida que comprende tanto etapas sexuales como asexuales, son específicos al huésped, infección y sitio, su patogenicidad varía en aves de diferentes antecedentes genéticos. Por lo tanto, en el huésped natural la inmunidad es específica a la especie, de tal manera que pollos que son inmunes a una especie de *Eimeria* son susceptibles a otras especies. El entendimiento de la relación entre el huésped y los parásitos en el intestino es crucial para diseñar aproximaciones de control lógicas contra la Coccidiosis.

Dentro de las estrategias que se han venido utilizando para el tratamiento control y prevención de la coccidiosis se encuentra el uso de los coccidiostatos entre los que se encuentran los ionóforos, otra estrategia es la aplicación de la vacunación, utilizados de manera extensiva en la crianza de las aves de todo tipo. Aunque la infección natural con *Eimeria spp.* induce tanto anticuerpos como inmunidad mediada por células (IMC), ambos específicos a los antígenos que estimulan la inmunidad;

numerosas evidencias experimentales indican que la IMC juega un importante papel en la protección contra reinfección con especies homólogas de *Eimerias* (Lillehoj, *et al.*, 2005 y 2008). Los anticuerpos (Ac), aunque producidos en suero y secreciones durante la Coccidiosis, son de títulos bajos y su especificidad antigénica puede no ser la ideal para proteger en caso de reinfección. En años recientes, muchas vacunas a virus vivo compuestas de cepas virulentas o atenuadas de coccidia han sido desarrolladas comercialmente. Las principales desventajas de las vacunas parasitarias vivas incluyen que para su producción requiere un trabajo intensivo y altos costos debido a la inclusión de muchas especies parasitarias en la misma vacuna (Chapman, *et al.*, 2002). Aunque las vacunas con oocistos vivos representan una alternativa limitada pero útil a la medicación profiláctica, las vacunas recombinantes compuestas de antígenos parasitarios o genes de antígenos codificados que estimulan inmunidad específica contra coccidias serían de uso preferente. Aunque la producción de vacunas recombinantes (proteínas o ADN) tendría un costo-beneficio, la dificultad continua siendo la identificación de los antígenos o genes responsables de estimular protección inmune y por otro lado el diseñar el método más eficiente de aplicación para estimular una respuesta inmune óptima en las mucosas. Aun cuando dichas vacunas de subunidad eliminarían el peligro de que emerjan cepas resistentes a diferencia de las vacunas vivas, la industria avícola se ha visto forzada a apoyarse en su mayoría en la quimioterapia profiláctica para controlar la coccidiosis hasta que haya vacunas más eficientes disponibles comercialmente. En vista de las restricciones mencionadas anteriormente, el desarrollo de estrategias alternativas de control que sean compatibles con el sistema actual de producción avícola, aportará opciones adicionales a la industria avícola. La aplicación de medidas preventivas y/o de tratamiento alternativas tales como suplementos alimenticios no químicos usando anticuerpos IgY hiperinmunes que reduzcan de manera efectiva la infectividad parasitaria y mejorar la inmunidad pasiva, puede ayudar a limitar el uso de anticoccidianos y mejorar la productividad. Por otra parte, se ha demostrado que la administración de preparaciones de IgY son capaces de inhibir la adhesión de varios microorganismos a las células epiteliales (Rejiv, *et al.*, 2002), dentro de los que se

han demostrado con un efecto positivo encontramos a la coccidiosis aviar. Por lo anterior, en este estudio se planteó el objetivo de evaluar el efecto anticoccidiano, así como la respuesta serológica, a la vacunación contra NC e IA, en pollos de engorda a los que se les administró la IgY en el alimento, mediante la determinación de sus parámetros productivos y niveles de Acs., contra NC e IA de manera experimental y comercial.



II ANTECEDENTES

2.1 Aspectos generales

La avicultura es una de las actividades económicas más importante hoy en día en el mundo, no siendo la excepción en México, ya que de acuerdo con los datos reportados entre los años de 1994 al 2007, mencionan que el crecimiento de carne de pollo fue del 94%, con una tasa media anual (TMA) del 5.2% (UNA, 2007). La producción de carne de pollo cerró en el 2007 con una producción de 2.7 millones de toneladas y se espera un crecimiento del 3.0% para el año 2008 (UNA, 2007). La avicultura genera 933,000 empleos indirectos y 187,000 directos que en total suma 1'120,000. Por otra parte, la participación de la avicultura en la producción pecuaria a nivel nacional es de 63.24% siendo el 34.1% del pollo de engorda, el 29.0% de gallinas de postura y el 0.14% de carne de pavo. Con un valor de la producción de \$43'568,266 millones de pesos. Este notable crecimiento refleja no solo el constante incremento de la demanda sino también el éxito de la selección, la cría, el procesado posterior y la comercialización. La carne de ave se ha convertido en una de las dietas más atractivas, no sólo en las sociedades post industriales, sino también en los países en vías de desarrollo. Donde los productores avícolas han sido capaces de ofrecer un productos de una alta calidad a un precio atractivo que sintoniza con la demanda de los consumidores (UNA, 2007). Sin embargo, este crecimiento en la avicultura no ha sido nada fácil ya que las explotaciones de la industria avícola a través del tiempo han sido desafiadas por numerosos retos desde aspectos de la genética, el manejo, la nutrición, la economía y la sanidad. En este último aspecto la producción avícola ha sido fuertemente sometido a retos importantes en relación a la lucha para la prevención, control y tratamiento de las enfermedades, dentro de las cuales encontramos una diversidad de etiologías como las virales, bacterianas, nutricionales y parasitarias. Dentro de este último grupo que se menciona se encuentra la enfermedad de la coccidiosis que es causada por un protozooario de la familia Ampicomplexa de diferentes especies que se les llama *Eimerias spp.* (Augustine, P., 2001).

2.2 La coccidiosis en pollos

La coccidiosis es una enfermedad producida por parásitos protozoarios de tamaño microscópico, llamados coccidios, pertenecientes al género *Eimeria* y familia protozoarios. Afecta a la mayoría de los animales criados comercialmente para fines alimenticios, particularmente las aves de corral, tales como pavos, patos, gallinas entre otras y mamíferos domésticos como ovejas, vacas y cerdos (Konjufca, *et al.*, 2006). Por lo tanto, en un hospedero natural, la inmunidad es especie-específica, de forma que, gallinas inmunes a una especie de *Eimeria* son susceptibles a otras. Por eso, el conocimiento amplio de la relación entre el hospedero y los parásitos en el intestino es esencial para el desarrollo de nuevas estrategias de control de la coccidiosis. Las especies de *Eimeria* que afectan a pollos y gallinas son siete: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella*, *E. mitis*. Un lote de aves puede sufrir varios brotes de coccidiosis, cada uno causado por una especie de coccidia diferente (Alcaíno, *et al.*, 2002). Por otra parte, todas las especies de *Eimerias* pueden encontrarse en una misma granja, por esto la coccidiosis debe ser considerada como una enfermedad compleja lo que hace difícil el atribuirle a una sola especie de coccidia (Dalloul y Lillehoj, 2005).

2.2.1 Ciclo biológico de la coccidiosis

Las coccidias pasan por diferentes estadios de desarrollo que empiezan y terminan en lo que se denomina ooquiste coccidial. Con la presencia de factores como la humedad, oxígeno y la temperatura adecuada, hacen que dentro del ooquiste se desarrollen cuatro esporas que contienen dos esporozoitos cada una. Cuando un ave ingiere un ooquiste esporulado o maduro, los ocho esporozoitos salen del mismo e invaden las células epiteliales de la pared intestinal. Una vez dentro de la pared intestinal interna, los coccidios se dividen repetidamente mediante un proceso de reproducción asexual, produciendo grandes cantidades de cuerpos llamados merozoitos, los cuales son los que producen mayor daño en las paredes internas del intestino y ciegos. Al salir los merozoitos de las células del epitelio, rompen la pared celular, lo cual produce una hemorragia. Esta hemorragia es uno de los síntomas

característicos de la coccidiosis, pues la sangre se puede observar a simple vista en las heces (Duszynsky y Upton, 2001).

Dependiendo de la especie, el ciclo de vida es de 4 a 7 días y la diseminación se efectúa por medio de las heces, cama, polvo, escarabajos (*Alphytobius spp*), moscas y otros fómites, dentro y fuera de la granja. El número de ooquistes en la cama puede variar de acuerdo con las condiciones climáticas, prácticas de manejo, edad del ave y la droga anticoccidial utilizada. Se puede constatar que las aves vivas transportan varios estadios del parásito, permaneciendo a veces como portadores por largos períodos (Duszynsky y Upton, 2001).

En las deyecciones del huésped infectado se eliminan los ooquistes u oocistos no esporulados, que bajo condiciones adecuadas de humedad, sombra, presencia de oxígeno y temperatura no inferiores a 10°C y no superiores a 50°C sobreviven y esporulan fácilmente dando lugar al oocisto, quien contiene cuatro pequeños quistes (esporocistos), que a su vez contienen dos células infectivas o esporozoitos. Cuando ha concluido la esporulación los oocistos son resistentes al medio y los esporozoitos son inmediatamente infectivos para próximos huéspedes apropiados que lo ingieran (Drugueri y Modern, 2003). Una vez ingerido el oocisto, hace un reconocimiento y ataca a los componentes superficiales, la fuerte unión y penetración de la célula hospedera se facilitan por la existencia del complejo apical (Tovar, 2003). Alrededor del esporozoito se forma una vacuola donde se inician múltiples divisiones asexuales (merogonia) durante las cuales se forman de 2 a 100,000 merozoitos según la especie (López, 2003). Una vez maduros los merozoitos se rompen y neutralizan a las células hospederas y migran a otras nuevas e inician una nueva merogonia (se piensa que cada especie de *Eimeria* está programada genéticamente para un número determinado de generaciones de merozoitos de manera que el proceso no continúa indefinidamente), este número varía entre 2 – 4 en las pocas especies que se le conocen (López, 2003). La última generación de merozoitos penetra las células epiteliales para desarrollar la gametogonia. La gran mayoría de los merozoitos formará macrogametocitos, mientras que los restantes formarán microgametocitos, ambos sufrirán múltiples divisiones, y finalmente se obtendrán miles de móviles y biflagelados microgametos. Cuando estos maduran abandonan

sus células hospederas y salen para penetrar células que contengan macrogametos para producir la fertilización.

Rápidamente tiende a formarse alrededor del cigoto una delicada membrana y dos tipos de elementos formadores de barrera se desarrollan dentro del citoplasma, los cuales migran hacia la superficie de la membrana con la cual se funden para formar una barrera resistente y cuando esta se ha formado completamente el oocisto rompe la célula hospedera y sale en las heces. El mecanismo por el cual los merozoitos regulan la formación de macro o microgametocitos, así como la forma en que los microgametocitos encuentran a las células hospederas que contiene los macrogametocitos y los detalles del proceso de fertilización no han sido dilucidados aún (Joyner, 1982), (Figura No. 1).

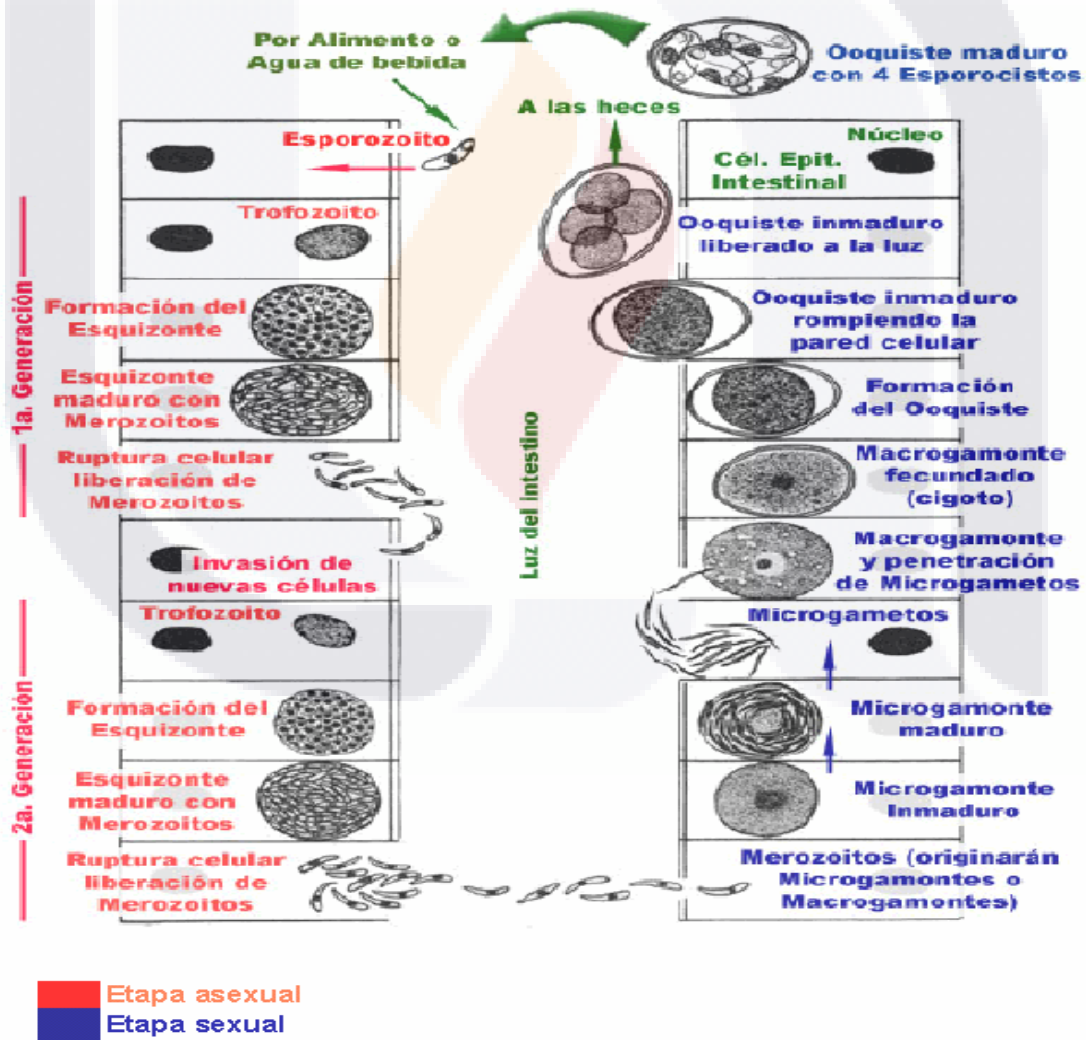


Figura No 1. Ciclo biológico de la coccidia, etapa sexual y asexual los ooquistes (Adaptado de Augustine, 2001).

2.2.2 Manifestaciones clínicas de la enfermedad

2.2.2.1 Coccidiosis Clínica

Ante un brote de coccidiosis en las aves estas se tornan con crestas y barbillas pálidas, débiles, tienden a acurrucarse, consumen menos alimento y agua, presentan diarrea, se pueden deshidratar, sufren pérdida en la GDP y las gallinas ponedoras experimentan una baja en la producción de huevo (Dalloul y Lillehoj, 2005).

Cuadros clínicos de coccidiosis cecal puede manifestarse por presentar el excremento con sangre, cuadros de anemia que muchas veces es seguida de la muerte de las aves. Mientras que, la coccidiosis de tipo intestinal generalmente no presenta cuadros agudos si no que más bien es de naturaleza crónica y produce menos mortalidad que la forma cecal (Schnitzler, *et al.*, 1997).

2.2.2.2 Coccidiosis Subclínica

A raíz de la introducción de coccidiostatos en la alimentación de las aves, se ha ido logrando efectos cada vez menos severos de esta enfermedad. Sin embargo, con frecuencia se habla de coccidiosis subclínica que en lo que respecta a entidades nosológicas, varios autores han observado que la coccidiosis subclínica puede asociarse con problemas de patas en las aves o bien con deficiencias de selenio (Se) o cuadros tóxicos por cobre (Cu) y cobalto (Co), también puede exacerbar los efectos de un incremento de magnesio (Mg), Cu o zinc (Zn) en la dieta, por la participación de *E. acervulina*. (Duszynsky y Upton, 2001).

2.3 Impacto económico de la coccidiosis Aviar

La coccidiosis aviar es una de las enfermedades parasitarias más importante a nivel mundial debido a las grandes pérdidas económicas que ocasiona a la industria avícola, las cuales han sido estimadas en más de 3,000 millones de dólares anuales en los EUA (Williams, 1999; Shirley, 2004), La presencia de coccidias en los pollos de engorda criados en forma intensiva, en casetas comerciales constituyen una situación que se presenta en diferentes grados en casi todas las parvadas y durante todo el año. Las repercusiones que éstas coccidias producen en los pollos generalmente no

son cuantificadas, en toda su magnitud, en virtud de que el problema se presenta generalmente en forma subclínica y el efecto más notorio se manifiesta como una mala pigmentación en cierto número de pollos. Tiene efectos económicos en el medio debido a las preferencias del público consumidor por un pollo bien pigmentado. (Moreno *et al.*, 2000). El costo de la coccidiosis en aves se estima en € 0.023 por kilogramo de pollo (Waldenstedt, 2004). Extrapolando para valorar el impacto mundial de la coccidiosis y asumiendo 50 billones de pollos de 2 kgs de peso vivo que se producen anualmente, éste costo es probablemente mayor que 2.3 billones de € (Sorensen *et al.*, 2006). Algo que resulta muy importante es que más del 70% de éstos costos es por coccidiosis subclínicas. Por su impacto en la ganancia de peso y en la conversión alimenticia. Estas pérdidas económicas son atribuibles a los altos costos en la medicación, al pobre desarrollo de las aves y a la mortalidad resultante de la enfermedad (Cabriales, 2002). En virtud de que la coccidiosis es de evolución silenciosa, esta es fuente de desastrosas consecuencias económicas, por su consecuencia en el decremento de la GDP y incremento IC en los pollos (Augustine, 2000). Datos de investigaciones realizadas en el mercado indican que aproximadamente el 98% de los pollos a nivel mundial reciben un anticoccidiano como un ingrediente estándar de su alimento considerándose un costo fijo e importante en el proceso de producción de carne (Morales *et al.*, 2005). Aunque estas drogas anticoccidianas disponibles actualmente en el mercado han sido de gran utilidad para el control de la enfermedad, tienen la desventaja de verse acompañados de efectos secundarios indeseables que repercuten directamente en los costos de producción (Chapman, 2000a). Por otra parte el parásito desarrolla diferentes grados de resistencia a estos fármacos, por lo que son comunes las infecciones subclínicas y clínicas con el paso del tiempo. Aunque es claro que las infecciones con coccidias son causa de problemas en la conversión alimenticia y de la mortalidad, generalmente es difícil documentar la relación que existe entre la coccidiosis subclínica y el decremento en el rendimiento económico (Augustine, 2000).

2.4 Impacto de la coccidiosis sobre los parámetros productivos

Las tres especies de mayor preocupación que han sido reportadas en estudios realizados en EUA por Conwey, *et al.*, (1993), son la *E. acervulina*, *E. máxima* y *E. tenella*, ya que los efectos directos de las infecciones por estos parásitos se ven claramente reflejados en la salud y los parámetros productivos de las aves. Estudios realizados por Conwey, *et. al.*, (1993), demostraron de manera experimental con dosis progresivas de coccidias el efecto sobre la GDP y por consecuencia en el peso promedio al final de la engorda. Las siguientes *Eimerias*, como son *acervulina*, *máxima* y *tenella*, van a afectar a las aves en la pigmentación, ya sea de carne o huevo, así como en la concentración de proteína (mg/mL), y la ganancia de peso (Conwey *et. al.*, 1993).

Por otro lado, la coccidiosis puede dar lugar a un considerable índice de infecciones subclínicas con diarrea y en ocasiones anemia, trayendo como consecuencia una disminución de las tasas de crecimiento, la producción y el aumento de la mortalidad. Además debemos de considerar la mala absorción, la utilización ineficiente del alimento, la peor tasa de crecimiento en pollos y la reducción de la producción de huevos en gallinas ponedoras (López, 2003; Dalloul y Lillehoj, 2005). Se ha demostrado que las *E. mitis* y la *E. praecox*, reducen las tasas de aprovechamiento de los alimentos, mientras que la *E. tenella* y la *E. necatrix* producen una alta mortalidad (López, 2003).

2.5 Otros efectos provocados por la coccidia

Los estudios realizados por Conwey, demostraron algunos efectos negativos provocados en las aves de engorda con la infección experimental de cantidades progresivas de oocistos de *Eimerias* (*acervulina*, *maxima* y *tenella*), representándose principalmente en el decremento de las concentraciones de los niveles de carotenoides, lípidos y proteínas plasmáticas sanguíneas (Conwey, *et. al.*, 1993).

Por otra parte, estudios en enfermedades como la micotoxicosis, la enfermedad de Gumboro y la enfermedad de Marek, han demostrado exacerbar las infecciones provocadas por las coccidias, por lo que se deben de tener en cuenta para minimizar

los efectos adversos sobre la respuesta inmune bajo estas condiciones (Bafundo, 2006).

2.6 Resistencia de las coccidiosis aviar

Las *Eimerias spp* desarrollan diferentes grados de resistencia a los coccidiostatos, por lo que son comunes las infecciones subclínicas y clínicas con el paso del tiempo. El desarrollo de la resistencia a un compuesto anticoccidiano es el resultado de las mutaciones genéticas de las coccidias a la exposición continua a un compuesto por varias generaciones. El concepto de usar diferentes productos anticoccidianos con diferentes estructuras químicas, con el objetivo de minimizar el desarrollo de esta resistencia por las coccidias y por consecuencia la pérdida en la efectividad del producto, ha dado como resultado el desarrollo de varios programas de rotación de los productos o bien al uso dual de los mismos (López, 2003). De las principales razones para que se presente este fenómeno están las relacionadas con el manejo de fármacos anticoccidiales (Ricketts, *et al.*, 1992b). Por ello, es de suma utilidad e importancia tener en cuenta los siguientes factores de riesgo: el uso continuo de la droga anticoccidial, el tiempo de exposición del anticoccidial dentro de un programa preventivo o rotativo, el desconocimiento total o parcial de las características farmacológicas del medicamento y el uso de fármacos que actúan en los estadios iniciales de la parasitosis a comparación de aquellos que se desempeñan en los estadios de esquizogonia (Ricketts, *et al.*, 1992).

2.7 Estrategias de prevención, control y tratamiento de la coccidiosis

2.7.1 Métodos de prevención de la coccidiosis

La infección por *Eimerias spp* corresponde al problema parasitario más generalizado de la avicultura moderna. Prácticamente es imposible mantener con pura higiene a las aves en crecimiento, fuera de la posible infección con estos protozoarios, razón por la cual, es indispensable aplicar estrategias como medidas de prevención y control durante la crianza de las aves (Cortes, 1999).

La prevención de la coccidiosis en la avicultura ha sido mediante la adición de anticoccidianos a los alimentos, tanto en la forma profiláctica como terapéutica. En la

actualidad, existen muchos anticoccidianos disponibles de manera comercial. Sin embargo, se debe tener en cuenta que es de gran importancia conocer cuáles son los tipos de especies de *Eimerias* que se tratan de prevenir y controlar antes de querer establecer cualquier programa de tratamiento.

2.7.2 Métodos de control de la coccidiosis aviar

Las medidas de control de la coccidiosis, más comúnmente utilizados como ya se mencionó son las drogas anticoccidiales. Este grupo de sustancias químicas aparecieron en el mercado a mediados de los años 50's y desde entonces se han desarrollado numerosas drogas, con capacidades diferentes de inhibir el ciclo complejo del parásito en las aves (Chapman, 2005).

Se debe controlar una serie de factores como la humedad relativa (30.0%), la temperatura ambiente (22 - 27°C), una cantidad adecuada de oxígeno, la densidad de población (kilogramos de aves por metro cuadrado), la sanidad, el tránsito de las personas y la presencia de aves silvestres entre granjas y entre casetas (Drugueri y Modern, 2003). Para contener el avance de la coccidia en las explotaciones y en las parvadas se emplean los anticoccidianos, estos productos se administran en el agua de bebida y en el alimento. Asimismo, una limpieza y una higiene escrupulosa de las camas y de las casetas contendrán una posible expansión de un brote de coccidiosis en la parvada (Drugueri y Modern, 2002).

Las drogas anticoccidianas disponibles actualmente han sido de gran utilidad para el control de la enfermedad, sin embargo tienen la desventaja de acompañarse de ciertos efectos secundarios indeseables. Uno de los métodos de control para esta parasitosis es el régimen rotacional de los medicamentos, que consiste en que una única droga o combinaciones son administradas desde el comienzo hasta el fin de la producción, esto se repite en períodos sucesivos usando otros regímenes de tratamiento, o puede, posteriormente, retornarse al régimen inicial (Schnitzler y Shirley, 1999). El régimen de choque es otro de los métodos de control que consiste en la aplicación del tratamiento con un medicamento o combinaciones, administrados en la dieta de inicio durante los primeros 14 - 21 días de vida, una segunda droga o combinaciones en la dieta de crecimiento hasta que la dieta de finalización es retirada

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

antes de enviar a los animales al sacrificio. Algunas veces, no obstante, el uso de ionóforos y no-ionóforos puede invertirse. Este tratamiento específico puede en lo posterior cambiarse por otro y así sucesivamente e incluso puede retornarse al inicial, de manera similar al régimen anterior (Shirley, *et al.*, 1995). A pesar de las ventajas que brindan estas drogas en el control de la coccidiosis no están exentas de la resistencia que estos parásitos desarrollan a las mismas, lo que obliga a la búsqueda constante de nuevas drogas que presenten un buen efecto y que económicamente sea posible su utilización.

Infestaciones ligeras y repetidas pueden producir inmunidad en los animales que las sufran. Esta inmunidad se desarrolla únicamente con las especies a las que han sido expuestas las aves, la inmunidad es específica de la especie infectante. Además, la inmunidad para coccidia no es permanente, por lo que mantener los niveles de oocistos lo más bajos posibles es la mejor base para hacer frente a esta enfermedad. Las especies que son específicas de un hospedador y son ingeridas por animales de otras especies no causan infestación tras su ingestión y son eliminadas del organismo del individuo.

2.7.3 Vacunación como medida de control contra coccidiosis

El control de la coccidiosis se puede realizar con las vacunas registradas en el mercado. En Europa sólo están registradas vacunas que contienen cepas atenuadas y no atenuadas de las especies de *Eimeria*. La vacunación puede ser periódica o única. La vacunación periódica es, a su vez de dos tipos: Doméstica (Cuando se adquiere una leve infección en forma libre y natural) e Industrial (Cuando se administra ooquistes infectantes). Mientras que, la vacunación única, en cambio, utiliza cepas atenuadas y seleccionadas por su precocidad, es decir, por tener ciclos vitales más breves, por pasajes repetidos en embrión de pollo para lograr cepas de más baja virulencia, o bien manejados con procedimientos de ingeniería genética que buscan como objetivo lograr antígenos coccidiales responsables de una reacción inmune permanente (Duszynsky y Upton, 2001). A pesar de que las vacunas con oocistos vivos sean una alternativa limitada, pero útil para la medicación profiláctica, serían preferibles vacunas de péptidos o proteínas no viables, compuestas de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

antígenos o genes que codifican antígenos del parásito que estimulan la inmunidad específica contra las coccidias (Augustine, 2005). Sería más económico producir vacunas recombinantes (proteína o DNA), pero el desafío es identificar los antígenos o genes que efectivamente estimulen la inmunidad protectora, así como desarrollar un método de administración que estimule el sistema inmune local del ave. Estas vacunas de subunidades eliminarían el riesgo de surgimiento de cepas resistentes que conllevan las vacunas vivas, haciendo que la industria avícola sea forzada a contar principalmente con la quimioterapia profiláctica para controlar la coccidiosis, hasta que vacunas eficientes estén disponibles en el mercado. Otras medidas alternativas para la prevención y/o tratamiento de la coccidiosis, como suplementos dietéticos no químicos, que efectivamente aumenten la productividad y activen la inmunidad inespecífica, pueden ayudar a limitar el uso de anticoccidianos (Duszynsky, *et al.*, 2001).

Para hacer una vacunación correcta hay que tener en cuenta la edad de las aves que reciben la vacuna, la cantidad de antígeno a suministrar y la forma de aplicación para obtener una inmunidad uniforme por vacunarse todos los pollos con una dosis similar. Cuando la vacuna produce una respuesta inmune correcta, tiene la ventaja de que permite gran flexibilidad en la fecha de la matanza. La inmunidad que se consigue es específica, de tipo celular, movilizand o linfocitos T y células del tipo «asesinas» naturales NK “natural killer”. Cuando la inmunidad celular está establecida es difícil medir el nivel de protección que se ha alcanzado ya que no hay inmunoglobulinas detectables en el suero para cuantificar el nivel de protección. La única forma de saber si las aves están protegidas es mediante la exposición con cepas patógenas de *Eimeria* (Augustine, 1996).

Cuando se vacuna, la dosis recomendada de antígeno contiene un número suficiente de las diferentes *Eimeria*, dependiendo de cada especie; además, las aves reciclan de la cama las especies de *Eimeria* de la vacuna y se vuelven a completar los ciclos en el epitelio intestinal del hospedador, eliminando ooquistes al exterior; después de esporular en la cama, son ingeridos nuevamente para realizar nuevos ciclos en los que actúan como antígenos. Este ciclo continúa hasta que las aves se han

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

inmunizado e impiden que se formen nuevas lesiones y que se eliminen ooquistes, con lo que se evita la producción de nuevos ciclos (Augustine, 1996).

Hoy en día, las aves se pueden vacunar en la incubadora al día de vida, mediante una máquina que envía un «spray» en forma de cortina directamente sobre las cajas de pollos, o antes de los siete primeros días en la caseta (Augustine, 1996), dado a que a la semana de edad, es el momento en que el sistema inmunológico de las aves está más capacitado para promover inmunidad. Las vacunas se diferencian por el nivel de atenuación de los ooquistes y por las especies de *Eimeria* que contienen (3 a 5 para pollos de engorda y 5 a 8 para reproductoras). Pueden estar elaboradas con ooquistes virulentos o atenuados y la atenuación puede ser por pases en embrión de pollo o mediante selección de cepas precoces que incluye los primeros ooquistes excretados de los primeros ciclos al comenzar la infección. Las coccidias atenuadas tienen un ciclo más corto, desarrollan menos esquizontes y hay menos coccidias multiplicándose en el ciclo evolutivo dentro del intestino (Augustine, 1996). Las lesiones en el intestino producidas por cepas de *Eimerias* atenuadas son menores en número e intensidad, aunque conservan un poder antigénico similar a las cepas muy patógenas. Las lesiones que se producen por una infección con 100 ooquistes de *E. maxima* virulenta, significan la destrucción de 30 millones de células intestinales, mientras que 100 ooquistes atenuados de la misma *Eimeria* sólo afectan a 70 mil, unas 425 veces menos. Algunas vacunas emplean cepas de *Eimeria* adaptadas a embrión de pollo, que pueden crecer en la membrana corioalantoidea y se atenúan después de haber sufrido un determinado número de pases, esto es posible solamente con algunas especies de *Eimeria* (Augustine, 1996).

La vacunación en el agua de bebida ha presentado una serie de dificultades porque los ooquistes son más pesados, por lo que no se recomienda vacunar en el tanque o bebederos por la sedimentación, lo que dificulta que todas las aves reciban una cantidad suficiente de vacuna. Cuando se vacuna a las aves en el agua de los bebederos de niple es conveniente añadir un poco de leche en polvo descremada inmediatamente después diluir la vacuna (Augustine, 2001).

Sin embargo, la elaboración de las vacunas presenta muchos problemas. No es fácil hacer vacunas atenuadas con todas las especies de *Eimerias* patógenas ya que los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ciclos son diferentes y la inmunidad se produce en la mayoría de los casos durante los primeros días del ciclo, en fase asexual, y en otras como la *E. tenella* en la primera y segunda generaciones de esquizontes. Las vacunas suministran el inoculo inicial y para que las aves resistan las infecciones de campo son necesarios dos o tres ciclos más, que se desarrollan con los ooquistes eliminados por las heces sobre la cama (Augustine, 1996).

Conviene vacunar aves muy jóvenes porque son menos susceptibles a la coccidiosis y las pequeñas lesiones que producen las *Eimerias* de la vacuna causan efectos negativos que son superados en las últimas fases de la crianza por un crecimiento compensatorio. En el caso de reproductoras vacunadas que se trasladan antes de la 16 semana a una nave con cama nueva, deben revacunarse o llevar cama del criadero que está sembrada de ooquistes vacunales. Esta misma práctica es aconsejable hacerla en pollos si no se crían en toda la caseta desde el primer día (Augustine, 1996; Schering-Plough Animal Health, 2003).

La consecución de una correcta inmunización duradera sólo es posible utilizando las vacunas a la dosis recomendada, lo que asegura que el ave reciba la dosis de antígeno suficiente para que haya respuesta correcta y suficiente del sistema inmunocompetente (Augustine, 1996; Schering-Plough, Animal Health, 2003). No existe protección cruzada, por lo que la inmunidad debe establecerse antes de que se produzca algún brote natural de coccidiosis, fenómeno que casi siempre sucede entre los 21 y 28 días de vida de las aves (Vertommen y Peek 1994, Ruff, 1993).

Una forma que se ha venido utilizando para el control de la coccidiosis es mediante el uso de vacunas, solo que con las vacunas vivas se tiene la desventaja de correr el riesgo de introducir a las granjas o a la zona cepas que no se han tenido (Alcaino, et al., 2002). A pesar de que los procedimientos de vacunación en escala comercial hayan demostrado eficiencia limitada, la infección natural por *Eimeria* spp., induce inmunidad, y el control de la enfermedad permanece altamente dependiente del uso habitual de drogas anticoccidianas (Allen, 2002). El uso de vacunas atenuadas que requieren necesariamente producir cierto grado de daño al epitelio intestinal para ejercer su efecto, y con las que no es fácil obtener un grado homogéneo de inmunidad (Chapman, 2000b).

Se han desarrollado diferentes vacunas vivas, compuestas de cepas virulentas o atenuadas de coccidias. Las mayores desventajas de la producción de las vacunas vivas de parásitos es la dificultad de su elaboración y que el costo es alto, debido a la necesidad de la inclusión de varias especies de parásitos en la vacuna (Dalloul y Lillehoj, 2005). Estas terapias no se deben usar indiscriminadamente y se deben seguir las recomendaciones del fabricante (Drugueri y Modern, 2003).

2.8. Tratamiento de la coccidiosis

Las principales clases de compuestos que han sido desarrollados para el tratamiento de la coccidiosis son: los ionóforos poliéteres, químicos sintéticos y sapogeninas esferoidales. Esta clase de productos tienen beneficios y debilidades en los programas comerciales de coccidiosis (Chapman, 1993, 2001). El uso de medicamentos contra la coccidiosis han sido utilizados administrándolos tanto en el agua como en el alimento y su función es la de controlar la infestación de coccidia (Duszynsky, *et al.*, 2001).

Estudios realizados en Inglaterra por Comunidad Económica Europea (CEE, 2001) demostraron que el Lasalocid a dosis de 90-120 ppm, puede ser usado durante las primeras 12 semanas de vida en el alimento y en su fase final ser retirado con buenos resultados en el control de la coccidiosis. De manera alternativa un tratamiento recomendado es utilizar la nicarbazina a dosis de 250 ppm en mismo alimento durante las tres primeras semanas, seguida de un tratamiento con el Lasalocid al 75% de su dosis hasta las 12 semanas de vida del animal (Shirley, *et al.*, 1995).

2.8.1 Régimen de tratamiento profiláctico

Para asegurar la salud y crecimiento óptimos de las aves se han diseñado diferentes niveles nutricionales entre los cuales tenemos la dieta de inicio, dieta de crecimiento, dieta final (opcional). En cada una de estas etapas se aplica el tratamiento profiláctico de dos maneras: un régimen rotacional del medicamento o bien el régimen de choque, considerando el potencial problema que representa la resistencia de los parásitos a la medicación lo que conlleva a establecer cambios en el tratamiento

durante el período productivo o de un período a otro (Shirley, et al., 1995; Schnitzler y Shirley, 1999).

2.8.2 Régimen de tratamiento terapéutico

Un brote de coccidiosis en una parvada puede estar dado por la resistencia de los parásitos al tratamiento profiláctico, provocada por una subdosificación accidental, por una mala dilución y mezclado de los medicamentos en los alimentos, por un uso prolongado de la droga o por una reducción en el consumo del alimento. El amprolium es un producto que se ha usado generalmente en el control de la coccidiosis con regímenes alternativos de tratamientos 3 a 5 días de tratamiento y de 2 a 3 días de descanso y así sucesivamente (Shirley, et al., 1995). En el cuadro No. 1 se muestra una relación de los principales productos químicos registrados en Europa y recomendados para la industria avícola.

Cuadro 1. Coccidiostatos registrados y recomendados para su uso en los pollos de engorda.

Molécula	Dosis (ppm)	Días de retiro
Diclazuril	1	5
Lasalocid	75-125	5
Maduramicina	5	5
Nicarbicina	80-100	5
Robenidina	30-36	5
Senduramicina	20-25	5
Decoquinato	30-50	3
Monensina	100-125	3
Narasina	60-70	1
Salinomicina	50-70	1

Coccidiostatos registrados para pollos en la UE desde mayo 2007 (Valls, 2008)

Cuadro 2. Algunos coccidiostatos de uso más frecuentes en el alimento en aves

Principio activo	Dosis
Aklomida	250g/tonelada de alimento
Amprolio	125g/tonelada de alimento
Lasálocid sódica	125g/tonelada de alimento
Clopidol	125g/tonelada de alimento
Salinomicina sódica	60g/tonelada de alimento
Robenidina	33g/tonelada de alimento
Decoquinato	3g/tonelada de alimento
Monesina sódica	100g/tonelada de alimento
Nicarbazina	125g/tonelada de alimento
Furoxona	55g/tonelada de alimento
Zoalene	125g/tonelada de alimento

La aparición del reglamento 2205/2001 en Europa por la CEE y aceptada el 15 de mayo de 2002, que prohíbe el uso de anticoccidianos químicos, obliga a crear o buscar nuevas estrategias para el control de la coccidiosis.

2.9 Sistema inmune de las aves

El sistema inmune está compuesto de dos principales subdivisiones, el sistema innato o no-específico y el sistema adaptativo o específico. El sistema inmune innato es la primera línea de defensa contra organismos invasores mientras que el sistema inmune adaptativo actúa como la segunda línea de defensa y pero además ofrece protección contra re-exposiciones al mismo patógeno. Cada una de las principales subdivisiones del sistema inmune cuenta con componentes celulares y humorales los cuales llevan a cabo su función protectora. (Davidson, Boyd, 1992).

Además, el sistema inmune innato tiene también características anatómicas que actúan como barreras a la infección. Aunque estas dos ramas del sistema inmune tienen distintas funciones, existe una importante interacción entre los dos sistemas.

En la figura 2, se muestra de manera esquemática el sistema inmune de las aves siendo el primero el innato y el segundo el adaptativo que funciona cuando el primero no logra detener la invasión del agente extraño.

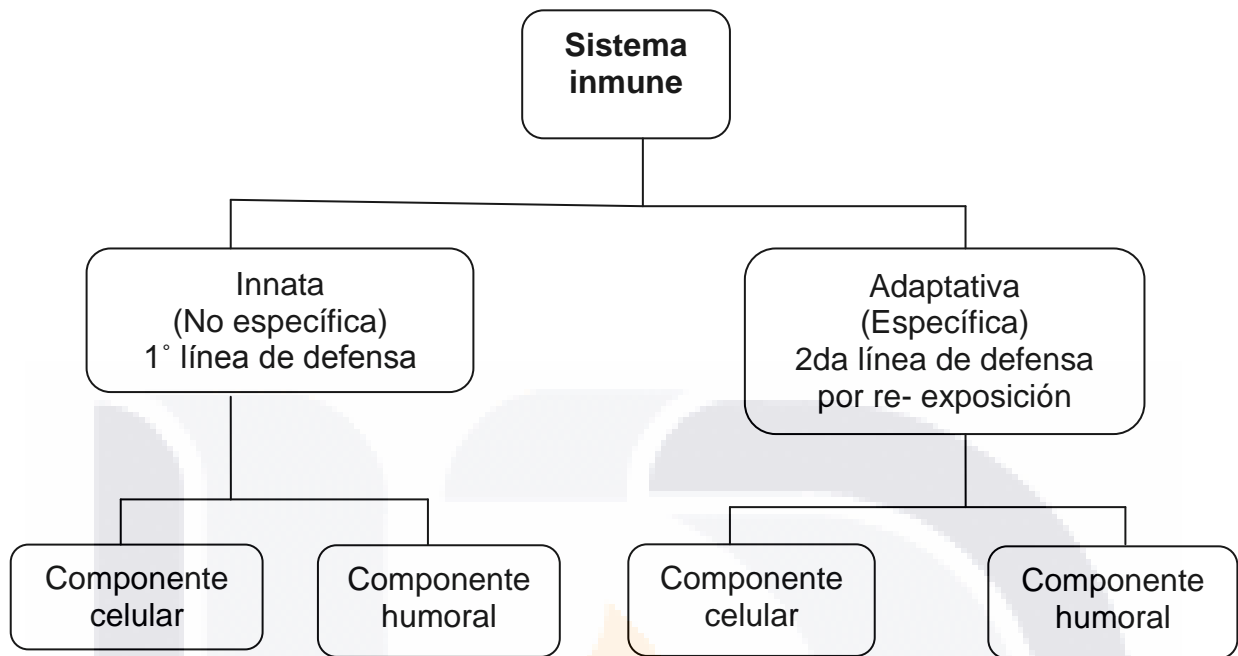


Figura 2. Sistema inmune de las aves

Si bien la función de ambos sistemas innato y adaptativo es la de protegernos contra organismos invasores, estos difieren en ciertos aspectos. El sistema inmune adaptativo requiere tiempo para reaccionar a un organismo invasor, mientras que el sistema inmune innato incluye defensas que, en su mayor parte, se encuentran presentes constitutivamente y listas para ser movilizadas durante la infección. Segundo, el sistema inmune adaptativo es específico para el antígeno y reacciona solo con el organismo que indujo la respuesta. En contraste, el sistema innato no es específico del antígeno y reacciona igualmente bien contra una variedad de organismos. Finalmente, el sistema inmune adaptativo posee memoria inmunológica. Es decir, “recuerda” que previamente se ha encontrado con un agente invasor y reacciona más rápidamente a la exposición subsecuente con el mismo organismo. En contraste, el sistema inmune innato no tiene memoria inmunológica. (Davidson, Boyd, 1992).

En la figura 3 se muestra las células del sistema inmune que intervienen en la respuesta inmune del organismo ante el desafío de las aves a los distintos agentes extraños.

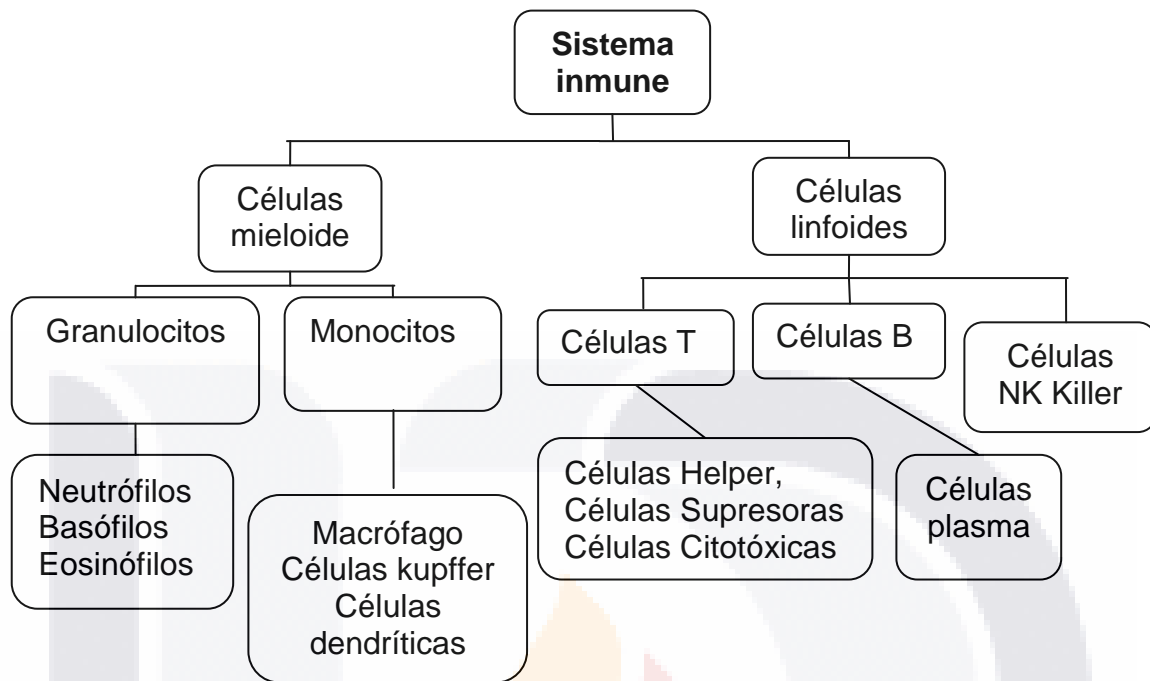


Figura 3. Células del sistema inmune.

Todas las células del sistema inmune tiene su origen en la médula ósea y estas incluyen a las células mieloides (neutrófilos, basófilos, eosinófilos, macrófagos y células dendríticas) y a las células linfoides (linfocitos B, linfocitos T y células asesinas naturales) las cuales se diferencian a lo largo de distintas vías.

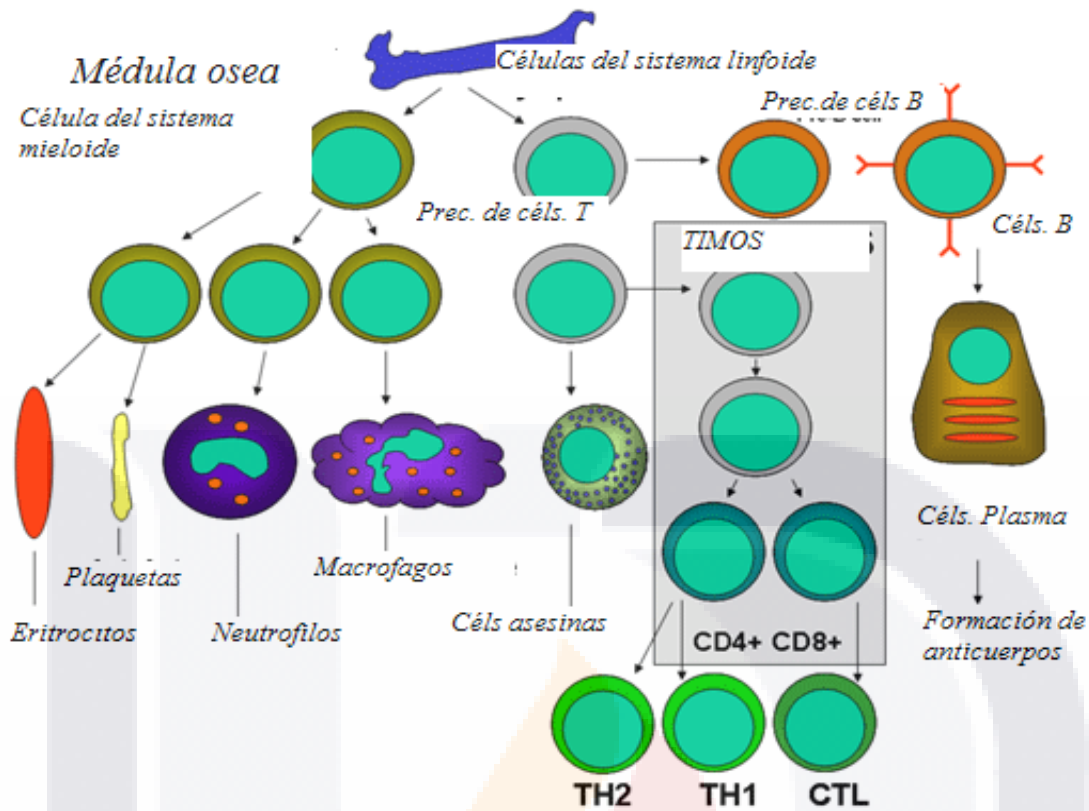


Figura 4. Origen de las células del sistema inmune.

La célula progenitora mieloide (célula madre) en la médula ósea da lugar a los eritrocitos, plaquetas, neutrófilos, monocitos/macrófagos y células dendríticas mientras que la célula progenitora linfoide da lugar a las células asesinas naturales (NK), células T y células B. Para el desarrollo de las células T se requiere que células precursoras de T emigren al timo en donde se diferencian en dos distintos tipos de células T, las células T cooperadoras CD4+ y las células pre-citotóxicas CD8+. Dos tipos de células T cooperadoras se producen en el timo, las células TH1, que ayudan a diferenciarse a las células pre-citotóxicas CD8+ en células T citotóxicas, y las células TH2, que ayudan a las células B a diferenciarse en células plasmáticas, que secretan los anticuerpos.

CUADRO 3. Inmunidad innata y adaptativa de las aves

Inmunidad Innata	Inmunidad Adaptativa
Respuesta antígeno-independiente	Respuesta antígeno-dependiente
Hay respuesta máxima inmediata	Hay un periodo de latencia entre la exposición y la respuesta máxima
No antígeno-específica	Antígeno-específica
La exposición al antígeno no induce memoria inmunológica	La exposición al antígeno induce memoria inmunológica

Sistema inmune de las aves (adaptado de Ruiz, 2007)

Las respuestas inmunes específicas se dan en dos niveles: celular, en el que participan los linfocitos B y T y humoral, que viene dada por proteínas en disolución, llamadas inmunoglobulinas.

La palabra “in” privativo, “munum” carga privado de carga, privilegiado (García, 2006) tenemos tres tipos de inmunidad (activa, pasiva y adoptiva). Así como los mamíferos, las gallinas desarrollaron un sistema inmune sofisticado y sus principales mecanismos de defensa incluyen una respuesta inmune innata inespecífica, que es activada inmediatamente después de la exposición a patógenos invasores, y una inmunidad antígeno-específica que ocurre inmediatamente después del encuentro con los patógenos. Los principales componentes celulares del sistema inmune aviar son los linfocitos T, originarios del timo; los linfocitos B, originarios de la bursa; macrófagos y células Natural Killer (NK). Los órganos linfoides están organizados en diferentes compartimientos, donde los linfocitos y las células no-linfoides forman un microambiente adecuado para la generación de respuestas inmunes efectivas. La inmunidad innata es inespecífica para cualquier patógeno e involucra diferentes componentes del sistema inmune del hospedero, como macrófagos, granulocitos, células Natural Killer (NK), y factores solubles, como proteínas séricas y proteínas secretadas por las células inmunes (Cooper, *et al*, 1991; Gobel, 1996).

Linfocitos T

Los linfocitos derivados del timo (linfocitos T) de las aves son divididos en tres subpoblaciones diferentes, con base en los diferentes tipos de receptores

reconocedores de antígenos ($\alpha\beta$ -TCR y $\gamma\delta$ -TCR). Los linfocitos T de la gallina expresan tres receptores de linfocitos T diferentes: TCR1, TCR2 y TCR3. El TCR de un determinado subconjunto de linfocitos T puede ser un heterodímero que consiste en una cadena γ y δ (TCR1), una cadena α y $V\beta 1$ (TCR2) o una cadena α y $V\beta 2$ (TCR3) (Cooper, 1991, Gobel, 1996). Así como en los mamíferos, los linfocitos T inmaduros de las aves se diferencian en el timo en linfocitos T CD4+CD8- o CD4-CD8+. Los subconjuntos CD4 y CD8 de los linfocitos T expresan los tres tipos de TCR Davidson (1992). Los linfocitos T CD4 o CD8 simple-positivo dejan el Timo para colonizar los órganos inmunes secundarios y también circulan en los sistemas circulatorio y linfático. La mayoría de las células CD4+CD8 son linfocitos T auxiliares o inflamatorios que responden a antígenos exógenos en asociación con las moléculas MHC clase II, mientras que las células CD4-CD8+ son las células citotóxicas que reaccionan a antígenos endógenos en asociación con moléculas MHC clase I. Se sabe que los $\alpha\beta$ TCR (TCR2 y TCR3) median el reconocimiento de antígenos MHC-restringido por los linfocitos T simple positivo, mientras que el papel fisiológico de los linfocitos T que expresan el TCR1 aún no está bien definido (Gobel, 1996).

Los precursores de los macrófagos colonizan el Timo en la primera onda de entrada de células tronco en los 7-8 días del desarrollo embrionario (Oliver, 1984). Utilizando Ac monoclonales específicos para macrófagos de gallina, como K1 se demostró la presencia de macrófagos en el saco vitelino y en el bazo a partir del 9º día de incubación; en el intestino, la bolsa y el timo a partir del décimo día y en el hígado a partir del doceavo día (Jansen y Jeurissen, 1991; Mast, 1998; Lillehoj, 2003). Los linfocitos derivados del timo maduran en diferentes fases, pasando de células precursoras pluripotentes a subconjuntos de linfocitos T. Estudios realizados por Coltey (1989), reportaron que los precursores de las células T entran en el timo en tres ondas diferentes durante el desarrollo embrionario y que cada onda individual origina linfocitos T que expresan los receptores. La primera onda de colonización del timo empieza el día 6.5, la segunda el día 12 y la tercera el día 18 de la embriogénesis. Cada onda dura de 1.5 a 2.0 días y es seguida de una intensa proliferación, maduración y diseminación hacia la periferia que ocurre por

aproximadamente tres semanas. Los linfocitos T con antígeno de superficie CD3 aparecen el día nueve del desarrollo embrionario. A los 13 días se encontraron linfocitos T y B en el bazo, que se vuelve el principal punto de linfopoyesis después de la eclosión, sin olvidar que los linfocitos T aumentan 70 veces entre los días 1 y 7 (Lowenthal, 1994).

Linfocitos B

Los anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Igs), son la unidad funcional de la inmunidad humoral. Son secretados por las células plasmáticas de la Bolsa de Fabricio (BF), que son un tipo de linfocitos B. Las Igs se encuentran en los tejidos corporales y en los espacios tisulares, y son más efectivas en la eliminación de los patógenos extracelulares. A diferencia de otros animales, los linfocitos B de las aves se desarrollan en la Bolsa de Fabricio (BF), un órgano linfoide primario asociado al intestino, localizado en la cercanía de la cloaca. Durante el desarrollo embrionario, las células tronco prebursa entran en una única onda en el rudimento de la bolsa (Davidson y Boyd, 1992), donde maduran para generar Ac a través de la conversión de genes y diversificación somática, produciendo tres clases diferentes de inmunoglobulinas (Igs): IgM, IgG e IgA (Erhard y Schade, 2001). La IgM se encuentra sobre la superficie la mayoría de células B y es el primer Ac que se produce seguido de la inmunización primaria. A medida que la respuesta inmune va progresando la IgM produce una interrupción en sus células para producir IgG o IgA. La IgG es el principal anticuerpo producido después de la inmunización secundaria y es la clase de Igs que predomina en la sangre de las aves. La IgG de las aves, anfibios, reptiles y los peces es de mayor tamaño que la IgG homóloga de los mamíferos, mientras que la IgA es la más importante en la respuesta inmunitaria de las mucosas (Sharma, 2003).

Las células de la bolsa migran hacia la periferia pocos días antes de la eclosión. Las aves generan potentes respuestas de Ac a antígenos dependientes e independientes de los linfocitos T. Después del encuentro inicial con el antígeno, los linfocitos B secretan el isotipo IgM de Ac, que posteriormente cambian a IgG o IgA en las exposiciones secundarias. La IgY es considerada un ortólogo de la IgG mamífera

(Leslie y Clem, 1969), a pesar de que el cDNA que codifica la cadena pesada de la IgY es semejante a la IgE mamífera (Parvari, 1988).

Estos linfocitos B tienen un papel importante en la defensa del hospedero contra muchas enfermedades infecciosas, ya que producen Ac antígeno-específicos que funcionan como células efectoras y pueden bloquear la invasión de las células del hospedero por patógenos, neutralizar toxinas o matar patógenos extracelulares a través de la CDAMC. El mecanismo de acción de los Ac consiste en reaccionar ante las proteínas de superficie de las bacterias, parásitos o virus, adhiriéndose a moléculas específicas del patógeno recubriendo de esta manera al patógeno, combinándose con él para impedir su desarrollo adecuado y estimulando el sistema de complemento, el cual a su vez lleva a cabo su actividad enzimática (enzimas líticas), fagocitaria de las células del sistema inmune, dando como resultado la destrucción del agente extraño. (Terzola, *et al*, 2004).

2.9.1 Sistema inmune del aparato digestivo de las aves

El sistema inmune del aparato digestivo de las aves tiene la capacidad de desarrollar una protección al problema de la coccidiosis, permitiendo un control suficiente del parásito para que ambos sobrevivan en equilibrio, aún cuando no haya drogas anticoccidiales (Caldwell, 2004). Para que esta inmunidad se desarrolle, se requiere de un cierto tiempo de exposición al parásito y un nivel mínimo de desafío. Lograr esto en condiciones de campo, implica esperar aproximadamente 6 - 8 semanas, situación que en las condiciones actuales de presión sobre crecimiento en el pollo de engorda comercial, no son aceptables. Por esta razón el uso de anticoccidiales resulta la opción económicamente más viable para mantener los resultados zootécnicos de las aves (Cortes y García 2003). La interacción entre la *Eimeria* y el sistema inmune de la mucosa intestinal es la clave del componente en la defensa de los pollos para patógenos entéricos.

Las aves desarrollan una efectiva respuesta a infecciones homólogas secundarias. La inmunidad no previene la invasión de esporozoitos a las células, pero sí puede prevenir el desarrollo de los esporozoitos. El rol de los linfocitos en el transporte de esporozoitos los LT residentes en el TLAM son las principales células efectoras en la

respuesta inmune contra coccidios. Las especies de *Eimeria* son muy selectivas y los esporozoitos reconocen diferentes estructuras de células hospedadoras durante el proceso de invasión. Escaso tiempo después de la invasión, los esporozoitos de *E. tenella* pueden observarse invadiendo células epiteliales del intestino y ciego. Algunas especies despliegan su desarrollo en la superficie del epitelio, mientras que otras lo hacen en células endoteliales de las vellosidades, la lámina propia o el epitelio de las criptas.

Si bien la sensibilización previa del huésped a los parásitos influye en la habilidad invasora de los esporozoitos, el rol de los anticuerpos en la inhibición de la invasión de las células huésped es rebatible. Algunos trabajos indican que los anticuerpos inhiben la invasión (Rose y Hesketh, 1987; Rose, 1996), mientras que otros estudios discuten su rol (Speer, 1985; Augustine y Danforth, 1986). Ante el desafío con *E. tenella*, en aves inmunes se observa un 50% menos de esporozoitos intracelulares que en pollos no inmunes. Esta inhibición puede estar relacionada a anticuerpos específicos presentes en la mucosa, los cuales actúan directamente bloqueando la invasión o por destrucción intraluminal de esporozoitos.

A pesar de esto, se ha observado que pollos bursectomizados, con escasa o nula síntesis de anticuerpos, han desarrollado inmunidad protectora luego de infección primaria con *E. tenella*, indicando un rol de la inmunidad celular adaptativa. Los esporozoitos se han reportado dentro de linfocitos CD8+ y macrófagos luego de la infección primaria, sugiriendo que estas células pueden participar en el transporte de los esporozoitos desde el sitio de invasión al sitio de desarrollo. Otros trabajos describen que los linfocitos intraepiteliales no se involucran en el transporte de esporozoitos de *E. tenella*. Las razones de las diferencias encontradas por los investigadores aún deben dilucidarse.

Respuesta inmune del huésped. En forma similar a otros antígenos, los protozoos estimulan ambos tipos de respuesta inmune: humoral y celular. Mientras que los anticuerpos responden a la presencia extracelular de parásitos en sangre y fluidos corporales, los parásitos intracelulares desencadenan una respuesta mediada por células. Los animales infectados con *Eimeria spp.*, producen anticuerpos específicos para los parásitos en la circulación y en secreciones de las mucosas. Los anticuerpos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

circulantes son de tipo IgM, IgG e IgA. En bilis se detecta IgM y predominantemente IgA; ésta además se encuentra en la luz del intestino junto a IgG entre la segunda a tercer semana post-infección y en bajas concentraciones luego de re-infecciones. Los anticuerpos específicos presentes en la luz intestinal pueden producirse y secretarse localmente o provenir de la circulación sanguínea, como es el caso de la IgG, la participación de la respuesta inmune humoral en la protección contra coccidios no es clara (Yun, *et al.*, 2000). Los anticuerpos actúan contra el desarrollo de estadios extracelulares, solos o en conjunto con las células del huésped, facilitando la fagocitosis o por citotoxicidad, así como en los estadios intracelulares dado que la infección incrementa la permeabilidad de la célula huésped, habiéndose demostrado *in vitro* que los anticuerpos de *E. tenella* pueden atravesar ambas membranas: de las células huésped y del parásito.

Existen diversos inmunomoduladores que tienen acción en el sistema inmune de mucosas ante la infección con coccidios, como la vitamina A, probióticos y oligonucleótidos sintéticos conocidos como (ODNs). La carencia de vitamina A genera en el sistema inmune de intestino alteraciones en las subpoblaciones de linfocitos intraepiteliales, especialmente LT CD4+, y además CD8 y $\alpha\beta$ TCR (Dalloul, *et al.*, 2007), generando de este modo una mayor susceptibilidad a los coccidios. Por otra parte, el suministro de probióticos estimula el sistema inmune local y aumenta la resistencia a *Eimeria*, demostrada por medio de la disminución en la eliminación de oocistos en la materia fecal del huésped (Dalloul, *et al.*, 2005; Dalloul, *et al.*, 2007).

La importancia de los LT aviares en la respuesta inmune contra los coccidios ha sido bien documentada. Tanto las células del bazo como los linfocitos de sangre periférica son capaces de transferir resistencia pasiva sin exposición previa a antígenos de coccidios. El rol de células T en la resistencia a coccidiosis fue investigado con agentes inmunosupresores como ciclosporina (Lillehoj, 1987; Kogut y Eirmann, 1991) y betametazona (Long y Rose, 1970).

Los antígenos solubles de varios estadios de desarrollo de *E. acervulina* o *E. tenella* indujeron la proliferación de LT de pollos previamente infectados con las mismas especies. Los antígenos de *E. acervulina*, sin embargo, produjeron escasa o nula proliferación de células T de pollos infectados con *E. tenella*. Estos ensayos

demuestran la naturaleza específica de especie de la respuesta inmune del huésped y que en determinadas, circunstancias ocurre inmunidad cruzada (Lillehoj, 1986). Si existen los epitopes para reacciones cruzadas de LT, el interrogante es por qué la protección cruzada no se observa *in vivo* (Yuño y Gogorza, 2008).

Es escasa la información disponible respecto al rol de varias subpoblaciones de linfocitos en la producción de citoquinas en coccidiosis aviar, aunque se sugiere que los mecanismos inmunes pueden variar en las diferentes localizaciones del intestino o bien que diferentes mecanismos se activan dependiendo de las especies de *Eimeria* que participen en la infección.

Células intraepiteliales CD8+. El ingreso a los LT CD8+ es activo por parte de los esporozoitos, ya que los esporozoitos muertos no ingresan a estas células y los LT no los fagocitan. La razón por la cual los esporozoitos ingresan a las células CD8+ con mayor frecuencia que a otras células aún debe ser determinada. La coloración con dos tinciones de inmunofluorescencia en el duodeno, luego de la infección con *E. acervulina*, mostró que luego de 24 horas de infección primaria, muchos esporozoitos se localizan predominantemente próximos a células T CD8+ y a macrófagos. A las 48 horas de la infección secundaria, se observa un número elevado de células CD8+ en el intestino, especialmente en contacto con células epiteliales parasitadas. En contraste, el número de LT CD8+ es escaso a las 48 horas de la infección primaria. Estos resultados ponen en evidencia el rol protector de células intraepiteliales CD8+ para infecciones con *E. acervulina*, citoquinas y linfoquinas. Se ha demostrado que estos efectores solubles influyen en el curso de infecciones a coccidios. Los macrófagos producen varias citoquinas post-infección. Los esporozoitos y merozoitos de *E. tenella* inducen *in vitro* la producción de un factor similar al FNT por parte de macrófagos que provienen de sangre periférica.

Adicionalmente, los macrófagos muestran producción de interleuquina-1 y FNT- α así como también se incrementa la producción de factor estimulante de colonias, en forma consecutiva a una infección por *E. tenella* o *E. maxima*, a pesar que el rol exacto de FNT y de interleuquina-1 en coccidiosis necesita mayor conocimiento, estos hallazgos explican la severidad de las lesiones clínicas asociadas a infecciones por coccidios (Lillehoj y Trout 1996).

La producción de IFN en aves ha sido usada para medir la respuesta de LT a antígenos coccidiales. Se ha observado que las diferentes especies de *Eimeria* inducen la producción de IFN- γ y, además, su actividad está asociada a la alteración de las células hospedadoras y no sobre los parásitos. El rol de IFN- γ aún no está del todo dilucidado; se espera poder lograr interpretar su función cuando sea posible obtenerlo en forma recombinante.

Macrófagos, células NK y mastocitos. Se observa un significativo número de esporozoitos cerca de macrófagos luego de infecciones primarias y secundarias con *E. acervulina*. Sin embargo, no se han hallado diferencias significativas en el número de esporozoitos dentro de los macrófagos en ambos tipos de infecciones. Estos resultados indican la escasa chance de capturar esporozoitos en pollos inmunes a *E. acervulina*, a pesar que el suero hiperinmune a *E. tenella* logra la fagocitosis de macrófagos *in vitro* (Lillehoj y Trout 1996).

Los niveles de la actividad de las células NK en linfocitos esplénicos e intraepiteliales es mayor en animales infectados que en normales, coincidiendo con la eliminación de parásitos. Este aumento de la actividad de las NK es acompañado de un incremento en el número de linfocitos intraepiteliales CD8+. Luego de una infección con *Eimeria spp.*, hay un incremento del número de NK, lo cual sugiere que las células NK intraepiteliales pueden estar involucradas en la defensa ante la invasión de coccidios a la mucosa. (Lillehoj y Trout 1996).

2.9.2 Respuesta inmune de las aves ante coccidiosis

El desarrollo de la inmunidad contra coccidias implica la activación de células linfáticas especializadas. En una primera instancia el parásito que penetra a las células y las destruye durante su fase de desarrollo, envía señales a los Macrófagos y otras células del CTLAI. Los Macrófagos reaccionan produciendo linfocitos con marcadores CD4+ y CD8+, los cuales se activan para la destrucción y fagocitosis de las células parasitadas. Adicionalmente, las propias células desarrollan con el tiempo la capacidad de producir Interferones, reduciendo la capacidad de colonización de las *Eimerias* y por lo tanto disminuyendo el problema clínico (Lillehoj, 1998).

Factores inespecíficos incluyen barreras físicas, fagocitos, leucocitos, quimiocinas y complemento. La inmunidad antígeno-específica es mediada por Ac, linfocitos y citocinas. Debido a la invasión específica y al desarrollo intracelular de las coccidias en el intestino, es importante conocer los CTLAI. El CTLAI tiene tres funciones principales en la defensa del hospedero contra los patógenos entéricos: procesamiento y presentación del antígeno, producción de anticuerpos intestinales y activación de la inmunidad mediada por células (IMC). En un hospedero que aún no tuvo contacto con el antígeno, las coccidias activan las células dendríticas y los macrófagos locales, estimulando diversas quimiocinas y citocinas (Lillehoj, 1998). Existen dos formas de protección de animales contra agentes infecciosos: se les puede exponer a antígenos derivados de un agente infeccioso para estimular una reacción inmunitaria protectora; o bien, pueden recibir un anticuerpo preformado que se haya obtenido de algún sujeto inmune. La primera forma se realiza por medio de diferentes clases de vacunas: virus o bacterias vivas liofilizadas, virus o bacterias muertas en emulsiones oleosas, y recientemente la creación de vacunas clonadas y recombinantes. Cada una de ellas presenta ventajas y desventajas respecto a la protección, respuesta inmune y duración de la protección. Además, en algunos casos se presentan complicaciones indeseadas en el huésped a causa de la vacunación (Tizard, 1998). La segunda forma de protección, también llamada inmunidad pasiva, incluye la transferencia de Ac específicos contra agentes infecciosos al sujeto susceptible de protección. En hospederos inmunes, los parásitos entran en el intestino inmediatamente después de la infección pero no se desarrollan, indicando que la inmunidad adquirida contra la coccidiosis puede implicar mecanismos que inhiban la progresión natural del desarrollo del parásito (Rose *et al.*, 1984; Trout y Lillehoj 1996; Lillehoj y Choi 1998; Yun, *et al.*, 2000). Estudios recientes demostraron el papel de diferentes citocinas producidas localmente durante la coccidiosis (Yun, *et al.*, 2000; Min, 2003; Lillehoj, *et al.*, 2004; y Lillehoj 2005), que son las responsables por el aumento de la inmunidad protectora contra *Eimeria* (Lillehoj, 1998; Yun, *et al.*, 2000). Después de la coccidiosis, es posible detectar Ac circulantes y secretorios específicos contra coccidias en el suero, en la bilis y en el intestino (Lillehoj, 1988; Yun, *et al.*, 2000). Entre tanto, los títulos de Ac en el suero y en el intestino no están

correlacionados con el nivel de protección después de la infección oral con coccidias (Lillehoj y Ruff, 1987). Modelos de gallinas agamaglobulinémicas ofrecen evidencias convincentes sobre la implicación mínima de los Ac humorales en la limitación de la infección por coccidias. Por otra parte, se ha observado que gallinas bursectomizadas por medios hormonales y químicos fueron resistentes a la reinfección con coccidias, esto demuestra la importancia del intestino en el control de la coccidiosis (Rose, 1970; Lillehoj, 1987).

Hay varios distintos mecanismos efectores mediados por Ac, los anticuerpos se pueden combinar con los antígenos, tales como las toxinas bacteriales para neutralizar su efecto; pueden remover sustancias dañinas que circulan en fluidos corporales; pueden enlazar bacterias o células extrañas en un proceso conocido como aglutinación. Una vez que los anticuerpos se adjuntan a los antígenos en las superficies de las células, pueden activar un grupo de por lo menos 11 proteínas de suero sanguíneo conocidas como complemento, dando como resultado el rompimiento de las células invasoras en una compleja serie de reacciones enzimáticas. Se considera que las proteínas del complemento causan hinchazón y la eventual ruptura de las células al hacer agujeros en la porción lipídica de la membrana celular (Lillehoj, *et al.*, 2009).

2.9.3 Producción de IgY a partir de yema de huevo

En 1893, Klemperer demostró por primera vez la capacidad de la yema como una protección específica, en los últimos diez años se ha puesto en evidencia la facilidad de contar con un animal capaz de producir más Acs., que un mamífero de laboratorio, sin tener que sacrificarlo. Desde 1996 la producción y el uso de los Ac-IgY se conocen como “Tecnología IgY”. La transferencia ovárica de la IgY al huevo demanda alrededor de cinco días (Patterson, *et al.*, 1962). Existe una importante correlación positiva entre los títulos séricos y los presentes en la yema (Erhard, *et al.*, 1997). La IgY de origen aviar es una alternativa que se ha venido desarrollando para ser utilizadas en el control y tratamiento de varias de las enfermedades de diferente origen causal, en varias especies de animales incluyendo al hombre (Erhard y Schade, 2001). La transferencia de las IgY al huevo ocurre en los folículos ováricos,

donde las membranas de los ovocitos de las gallinas cuentan con receptores específicos que captan activamente las IgY presentes en el suero, lo cual igualmente permite transferir los anticuerpos maternos a la descendencia y posibilita, de esta manera, la adquisición de inmunidad pasiva en los polluelos. Por otra parte, esta forma de transferencia permite que en la yema del huevo, la concentración de IgY alcance niveles similares a los del suero de 10 a 20 mg/mL (Terzola, *et al.*, 2004).

Nguyen (2003), reportó el efecto protector que tuvo un preparado de polvo de Ac de huevos (IgY) de gallinas hiperinmunizadas con las principales proteínas de coccidias, 3-1E, en un modelo de desafío de enfermedad con *E. acervulina* y *E. tenella*. Pollos alimentados con una dieta estándar suplementada con polvo de IgY conteniendo Ac contra 3-1E, fueron mejor protegidos contra el desafío oral con oocistos de *E. tenella* y *E. acervulina*. La prueba de que los anticuerpos IgY los cuales son específicos contra parásitos de coccidia, son los responsables de mediar protección contra la coccidiosis se obtuvo de las siguientes observaciones: 1) Los anticuerpos IgY purificados bloquearon la entrada de esporozoitos de coccidia a las células huésped in vitro, 2) El enlace IgY de esporozoitos en la presencia de suero fresco de pollo como fuente de complemento, llevó a la destrucción de esporozoitos, y 3) la continua alimentación con anticuerpos IgY a los pollos de engorda resultó en una significativa reducción de la salida de oocistos en heces y se redujeron las lesiones intestinales. Estos resultados claramente apoyan la noción de que los anticuerpos específicos a antígenos en el polvo de yema de huevo obtenido de gallinas hiperinmunes, median una acción directa en contra de las etapas invasivas de la coccidia, reduciendo el daño intestinal en el que se incurre por el desarrollo intracelular de parásitos de coccidia. Se ha demostrado que el tratamiento con soluciones de IgY específicamente dirigidas contra antígenos de *Salmonella*, son capaces de inhibir la adhesión de esta bacteria a las células epiteliales (Rejiv, *et al.*, 2002). También se ha demostrado su eficiencia contra la formación de placa dental, reduciendo la incidencia de caries (Terzola, *et al.*, 2004; Carlander 2002), estudiaron la IgY en la profilaxis de fibrosis cística (enfermedad común y mortal), trataron a los pacientes oralmente (enjuagues) con IgY, logrando retrasar la aparición de infecciones crónicas en los pacientes y así disminuir los tratamientos con antibióticos. Los estudios

realizados por Worledge, *et al.*, (2000) demostraron que con la administración oral de IgY, como antifactor de Necrosis Tumoral (relacionado con inflamación intestinal) se logro un efecto de protección.

Por otra parte, estudios realizados en terneros que fueron tratados con yemas de huevos obtenidos de gallinas hiperinmunizadas con algunos virus y bacterias productoras de cuadros diarreicos se demostró de manera significativa un menor número de episodios diarreicos y la ausencia total de reincidencia de la enfermedad en comparación con otros grupos de terneros que no recibieron el tratamiento (Ikemori, 1992; Kuroki, 1994). Por otra parte, estudios realizados por Marquardt, (1998), demostraron la prevención de diarreas en lechones cuando se les administró IgY.

2.9.4 Ventajas en el uso de la IgY

Al comparar la estructura de la IgY aviar con la de los mamíferos se observan diferencias en la masa molecular, siendo de 200 kDa en las aves y de 160 kDa en los mamíferos (Tizard, 1982). Por otra parte, la IgG aviar posee gran similitud en su secuencia de ADN con la IgE humana (Shimizu, *et al.*, 1992), estas diferencias estructurales de las Igs permiten que no exista una reacción cuando las IgY son utilizadas en otras especies diferente a la aviar. Por otro lado, adicionalmente la producción de IgY es un método no invasivo que no requiere del sacrificio de las aves o de el sangrarlo frecuente (cada 8 días), como ocurre con el método invasivo utilizado en los mamíferos (ratón, rata, conejo, borregos, cuyos, monos y equinos) En el caso de las aves solamente se tiene que recolectar diariamente la producción de huevo para obtener de las gallinas una cantidad de Igs equivalentes a las que se producen en los mamíferos mayores en un mes (Frendscho, 1994). Las gallinas son inmunizadas con antígenos de superficie de gametocito de *E. maxima* para transferir de manera pasiva los anticuerpos a la cría. La inmunidad bloqueadora de transmisión contra la etapa gametocito del parásito, mediada por los anticuerpos transferidos de parte de la madre, resulta efectiva por 2-3 semanas, sin embargo el nivel de anticuerpos maternos decrece de manera natural conforme madura el sistema inmune del pollo. Por otro lado, ya que los antígenos inmunizantes se derivaron de la

etapa gametocito, los anticuerpos maternos producidos son efectivos en la reducción de la reproducción sexual de los oocistos, mas no previenen los efectos patógenos de los esporozoitos o merozoitos (Frendscho, 1994).



III. JUSTIFICACIÓN

Con el aumento de la demanda de productos avícolas, incluyendo carne de pollo y huevos como principales fuentes de proteína de la dieta de México, la industria avícola está enfrentando nuevos desafíos para la producción de pollos de engorda saludables. Uno de los principales desafíos es el control de enfermedades, de origen viral, bacteriano, micótico y parasitario, de este último grupo la coccidiosis provocada por los protozoarios del género *Eimeria* requieren de mayor atención en la industria avícola.

La coccidiosis es una enfermedad parasitaria, de impacto mundial debido a los efectos económicos, que son estimadas en más de 3,000 millones de dólares anuales, así como la repercusión en el detrimento de los índices de productividad que ocasiona en la industria avícola moderna. Las *Eimerias* son parásitos de la familia de los protozoarios que afectan a la mayoría de los animales mamíferos domésticos y las aves (pollos de engorda y gallinas de ponedoras), las principales especies que afectan y provocan mayormente los estragos de la enfermedad son: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella*, *E. mitis*. El ciclo de vida y la diseminación se efectúan por medio de las heces, la cama, polvo, escarabajos (*Alphytobius* spp) moscas y otros fómites, dentro y fuera de la granja.

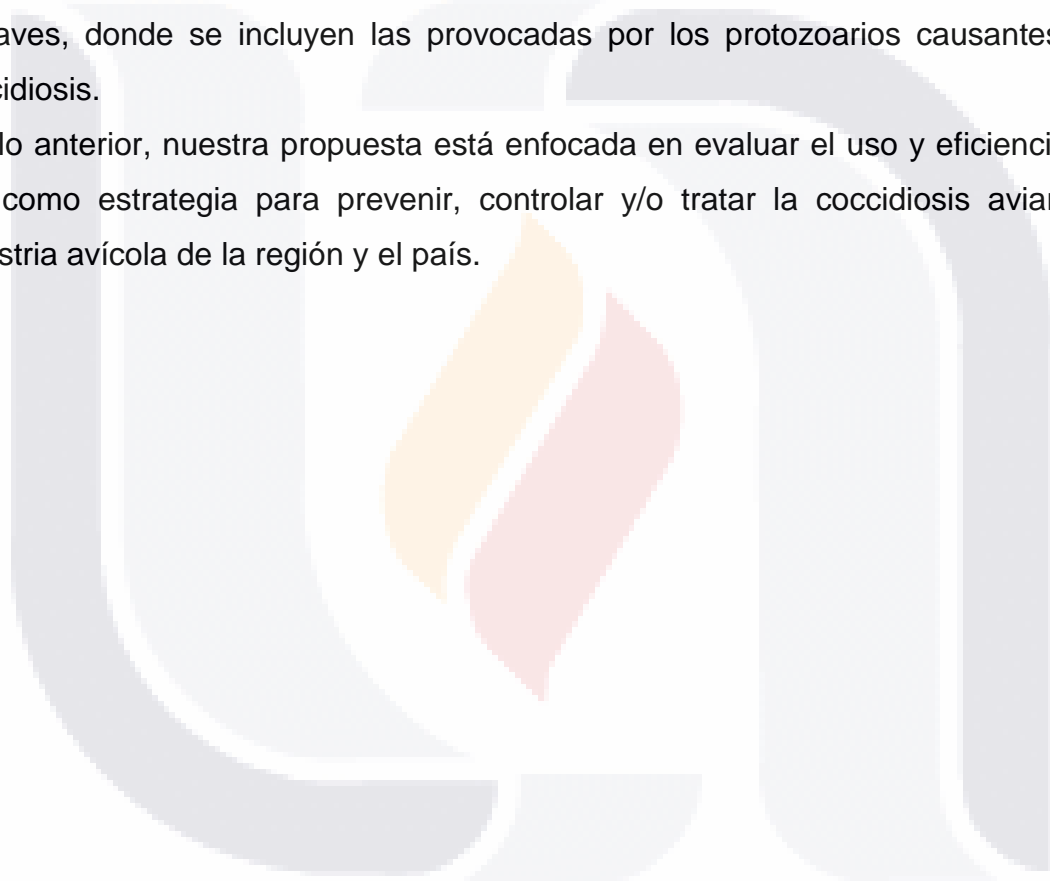
La coccidiosis puede presentarse de manera subclínica acompañada síntomas como la diarrea y anemia, trayendo como consecuencia una disminución de las tasas de crecimiento y un aumento de la mortalidad en las parvadas afectadas.

La coccidiosis con manifestaciones crónicas las aves sufren un impacto en los parámetros productivos, como la pérdida en la ganancia de peso, retardo del crecimiento, alta morbilidad, un aumento del índice de conversión u hasta provocar la muerte de las aves (Augustine, 2000).

La prevención, control y el tratamiento de la coccidiosis a nivel mundial se ha venido abordando de diferentes maneras como el lavado, la limpieza y desinfección de las casetas, así como el uso y aplicación de los anticoccidianos y el uso de diferentes tipos de vacunas con resultados aún muy variables de los mismos.

La inmunoterapia transferida pasivamente, usando moléculas intactas de Ac o fragmentos de cadena simple de la región variable (ScFv) con actividad de ligación de antígenos, ha atraído el interés como potencial inmunoterapia contra agentes infecciosos. El principal obstáculo al desarrollo de una estrategia basada en Ac contra la coccidiosis aviar, no obstante, es la existencia de muchas especies diferentes de *Eimerias*. Sin embargo, el uso de las Igs provenientes de las yemas de huevos de gallinas hiperinmunizadas en los últimos diez años ha demostrado tener un efecto positivo de protección inmunológica contra las enfermedades que afectan a las aves, donde se incluyen las provocadas por los protozoarios causantes de la coccidiosis.

Por lo anterior, nuestra propuesta está enfocada en evaluar el uso y eficiencia de la IgY como estrategia para prevenir, controlar y/o tratar la coccidiosis aviar en la industria avícola de la región y el país.



IV. HIPÓTESIS

La IgY reducen los efectos nocivos de las coccidias en pollos de engorda, desafiados de manera experimental contra *Eimeria tenella*, sin afectar de manera negativa los parámetros productivos.

La IgY tiene un efecto anticoccidiano en el control de la coccidiosis, similar al coccidiostato comercial utilizado en los pollos de engorda explotados de manera comercial, sin afectar de manera negativa los parámetros productivos.

La respuesta inmunológica a las vacunas contra las enfermedades NC, IA, no se ven afectadas por la administración de las IgYs en la dieta de pollos de engorda de manera experimental y comerciales.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto anticoccidiano, así como la respuesta serológica, en pollos de engorda a los que se les administró la IgY en el alimento, mediante, la determinación de sus parámetros productivos y niveles de Acs., contra NC e IA de manera experimental y comercial.

5.2 Objetivos específicos

Evaluar el efecto anticoccidiano de la IgY, en pollos de engorda desafiados de manera experimental con la cepa de *Eimeria tenella* determinando los parámetros productivos.

Determinar los niveles de la respuesta inmunológica contra las enfermedades de Newcastle (NC), e Influenza Aviar (IA) en pollos de engorda que recibieron en su alimentación IgY y coccidiostato comercial.

Comparar el efecto anticoccidiano de la IgY y coccidiostato comercial, administrados en el alimento de pollos de engorda, desafiados de manera natural con cepas de campo de *Eimeria spp*, mediante la evaluación de sus parámetros productivos.



VI. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 Ubicación

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Posta Zootécnica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes ubicada en el municipio de Jesús María, Aguascalientes, cuyas coordenadas son 21°57'40" al Norte y 102°20'36" al Oeste, con una elevación de 1880 msnm, temperatura media anual de 17° C y una precipitación anual de 531 mm, la cual es estacional presentándose en el verano y de clima predominante tipo estepario, los vientos dominantes son alisios en dirección suroeste-noroeste durante el verano y noroeste-sureste en parte del otoño.

6.2 Materiales

Este estudio se llevo a cabo en dos etapas. En la primera etapa se realizó el estudio que consistió en evaluar el efecto anticoccidiano de la IgY en pollos desafiados de manera experimental, mediante la medición de sus parámetros productivos. La segunda etapa del estudio consistió en comparar el efecto anticoccidiano de la IgY contra el coccidiostato comercial utilizado, en cinco parvadas de pollos de engorda, en una explotación de aves de engorda en caseta comercial.

6.2.1. Material biológico

6.2.1.1 Aves

Tanto en la etapa experimental como en la no experimental del estudio se utilizaron pollos de engorda de la línea comercial Ross-308, desde el primer día hasta los 42 días de edad. En la primera etapa del estudio se utilizaron puros machos y en la segunda etapa se usaron pollos sexados para la conformación de los grupos de hembras y machos utilizados para el estudio. En ambas etapas del estudio las aves de engorda fueron seleccionadas y distribuidas al azar en los diferentes tratamientos según correspondieran. En la primer etapa los animales se alojaron en la unidad de aves de engorda de la Posta Zootécnica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes en jaulas de crianza (0 a 21 días de edad)

calentadas criadora de gas LP, suministrándoles el agua y el alimento *ad libitum* y posteriormente cambiados a jaulas invertidas de 50/35, dentro de la misma unidad de aves de engorda de los 22 a 42 días de edad que fue la duración del estudio. En la segunda etapa los animales se alojaron en la unidad de aves de engorda de la Posta Zootécnica del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes en el piso, recibieron el agua y el alimento *ad libitum* de los 0 a 42 días de edad que fue la duración del estudio.

6.2.1.2 Producción de IgY de yema de huevo

La obtención de IgY fueron obtenidas de huevos de aves libres de patógenos específicos en edad productiva, de 20 – 24 semanas de edad como mínimo y hasta 80 semanas de edad como máximo en aves de primer ciclo que fueron hiperinmunizadas de acuerdo al método descrito por Ruiz, *et al.*, (2001). Las gallinas fueron desafiadas dosis de 4,000 a 20,000 oocistos en cualquier etapa de su ciclo de vida contenidos en 0.3 a 0.8 mL de una solución antigénica usada para inmunizar gallinas de postura en la etapa de crianza a las 8, 12 y 16 semanas de edad. Una vez que los huevos de las gallinas de postura muestran Igs anticoccidianas, determinadas mediante ensayo de microneutralización, los huevos fueron recolectados (Chacana *et al.*, (2004).

6.2.1.3 Oocistos

Para la primer etapa (estudio experimental), se conto con oocistos esporulados de *Eimerias tenella* para el desafío de las aves con una dosis única de una concentración de 2500 oocistos/mL Para la segunda etapa (estudio de campo) fue con una parasitosis natural.

6.2.1.4 Características del alimento

El alimento se preparó en ambas etapas como una dieta estándar en forma de harina, proveniente de la Fábrica de Alimentos de la Posta Zootécnica de la UAA de acuerdo a las recomendaciones del Consejo Nacional de Investigación de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Estados Unidos NRC, (1994) de acuerdo a su etapa de crecimiento (iniciación, desarrollo y finalización).

6.2.1.5 Heces

Para la primera etapa se utilizaron muestras de heces frescas que fueron colocadas en bolsas de plástico en una cantidad de 50 g/jaula/tratamiento e identificadas adecuadamente. En el caso de la segunda etapa igualmente fueron heces frescas tomadas directamente de la cama de los cuatro grupos de aves en el estudio.

6.2.1.6 Sangre

En ambas etapas del estudio se tomaron muestras de sangre que fueron obtenidas mediante punción intracardiaca, colocadas en viales, reposadas y obtención del suero. Las muestras de suero se identificaron y se conservaron en refrigeración hasta la cuantificación de Ac.

6.2.1.7 Muestras de Intestino delgado

En ambas etapas del estudio los animales fueron sacrificados mediante inyección intratecal con 1.5 mL de metanol o mediante dislocación cervical. La cavidad abdominal se incidió inmediatamente y se seccionó parte del intestino para la obtención de la muestra necesaria para la evaluación de las lesiones provocadas por las *Eimerias*.

6.2.2. Reactivos utilizados

Se adquirieron en Sigma Aldrich (México, D.F.) y en los laboratorios Merck (Estado de México). Todos los reactivos químicos utilizados fueron grado analítico.

6.3 Métodos

6.3.1 Primer Etapa

6.3.1.1 Protocolo experimental

El propósito de este experimento fue el de evaluar el efecto anticoccidial de la IgY en un desafío experimental con *Eimeria tenella*. Bajo un diseño experimental completamente al azar se seleccionaron 315 pollos de engorda machos, de la línea ROSS - 308 de un día de edad, con un peso promedio de 38.0 ± 3 g. Se distribuyeron en siete tratamientos con 3 repeticiones de 15 aves cada uno. Se formaron dos grupos de tratamientos los no desafiados y los desafiados a *Eimerias tenella* a las tres semanas de edad con 2500 oocistos/mL En el primer grupo se encuentran los T₁; Control (C), T₂; alimento con coccidiostato (CC), y el T₆; pollos vacunados con *Eimerias spp.* (V), mientras que en el grupo de las aves desafiadas están el T₃; alimento sin coccidiostato y desafiados (SCD), T₄; alimento con coccidiostato (CCD), T₅; alimento con inmunoglobulina y desafiado (IgYD) T₇; alimento sin coccidiostato y vacunados con *Eimerias spp* (VD), como se indica en la cuadro 4.

Cuadro 4. Características del experimento: Efecto anticoccidiano de IgY al desafío de *Eimeria tenella*

Tratamiento	No. de aves	Dosis (oocistos/mL)	Vía de Administración
1.) Control (C)	45	0	Oral
2.) Alimento con coccidiostato (CC)	45	0	Oral
3.) Alimento sin coccidiostato y desafiados (SCD),	45	2,500	Oral
4.) Alimento con coccidiostato (CCD)	45	2,500	Oral
5.) Alimento con inmunoglobulina y desafiado (IgYD)	45	2,500	Oral
6.) Vacunados Coccivac D <i>Eimerias spp.</i> (V)	45		Aspersión en alimento
7.) Alimento sin coccidiostato y vacunados Coccivac D <i>Eimerias spp</i> y desafiado (VD)	45	2500	Aspersión en alimento

6.3.1.2 Características del alimento

Se administró el agua y alimento *ad libitum*, manejando tres fases de alimentación: iniciador del día 1 al 21 de edad, crecimiento del 22 al 35, y finalizador de 36 a 42 días, el alimento fue igual en todos los experimentos. Las dietas fueron isoproteicas e isoenergéticas (NRC, 1994) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Características nutricionales del alimento

Tipo de alimento/etapa	P.C (%)	E.M (Kcal/Kg)
INICIADOR 0 a 21 días	22.0	3,200
CRECIMIENTO 22 a 35 días	20.0	3,200
FINALIZADOR 36 a 42 días	18.0	3,200

PC= proteína cruda, EM= energía metabolizable. (NRC, 1994)

6.3.1.3 Administración de IgY

A las premezclas se les adicionó las yemas de huevo deshidratadas a razón de dos kilogramos por toneladas de alimento, para que el pollito desde el primer día de edad consumiera las inmunoglobulinas, el alimento se preparó cada semana, dándosele cinco minutos de tiempo de mezclado por bacheo y se encostaló en sacos de 40 kilogramos cada uno, el alimento se suministró a los pollos en harina, durante toda la engorda.

6.3.1.4 Administración de la *Eimeria tenella*

Las *Eimerias* se administraron vía oral, en una concentración de 2500 oocistos por mL a la tercera semana de edad (21 días) a los grupos que fueron desafiados.

6.3.1.5 Administración de la Vacuna

La vacuna anticoccidial que se suministró fue un producto comercial (COCCIVAC, Laboratorios, Schering-Plough Animal Health), la cual fue directamente asperjada al

alimento, en una cantidad suficiente para que las aves lo consumieran en un tiempo menor a los 30 minutos.

6.3.1.6 Niveles de Ac

Para la toma de sangre: Se realizó por punción intracardiaca con aguja del No 21/32mm, obteniéndose 3 mL por ave sin anticoagulante semanalmente a partir de la tercera semana de edad y hasta a la sexta semana de edad en que se concluyó el experimento. Después de realizado el sangrado se dejó reposar la sangre aproximadamente tres horas a temperatura ambiente, para dar oportunidad a que se separara el suero, luego se procedió a separar el coagulo y almacenarse los sueros en refrigeración a una temperatura de 4 – 6 °C hasta su uso. Los sueros fueron enviados al laboratorio para su determinación de Ac contra NC e IA.

Técnica de Inhibición de la Hemaglutinación

El procedimiento para la Técnica de Inhibición de la Hemaglutinación es el siguiente:

- 1) Adicionar 100 μ L de antígeno de 10 unidades en la primera cavidad y 50 en las demás.
- 2) Usando el microdiluidor de 25 microlitros, adicionar 25 microlitros del suero problema en la primera cavidad. Mezclando bien y retirando el microdiluidor.
- 3) Usar el microdiluidor de 50 μ L de la primera cavidad a la segunda: 50 de la segunda a la tercera, y así sucesivamente hasta la última cavidad. Las diluciones así se duplican, iniciando con 1:5; siguiendo 1:10; 1:20; 1:40 etc.
- 4) Incubar a temperatura ambiente por un mínimo de 30 minutos.
- 5) Al final del periodo de incubación adicionar 50 μ L de glóbulos rojos a la concentración necesaria.
- 6) Mezclar bien, agitando suavemente las bandejas.
- 7) Incubar por aproximadamente 45 minutos.
- 8) Los resultados se leen al final del periodo de incubación. El titulo final de un suero es la reciproca de la dilución más alta donde se haya inhibido la hemaglutinación.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Es importante incluir sueros controles positivos y negativos que sirvan como referencia. Además un control de glóbulos rojos es indispensable.

6.3.1.7 Número de oocistos por gramo de heces (OPGH)

Muestreo de Heces.

De cada corral o jaula se tomaron pequeñas porciones de heces frescas de 0.5 a 1.0 g de diferentes lugares tanto en el centro como en los laterales hasta coleccionar un total de 50 g por muestra. Se realizaron muestreos de heces desde los 21, 28, 35 y 42 días de edad de la parvada. Las heces se prepararon a razón de 1:5 (1 g de heces/5 mL de dicromato de potasio al 2.5%) y se realizó el conteo de oocistos en cámara de Neubauer por la técnica de Mc Master. (Moreno, *et al.*, 2000; Yun, 2006)

Técnica de Mc Master.

Pesar 20 g de heces, agregar 50 mL de agua, homogenizar perfectamente y colar. Llenar la cámara

Llenado: Deslizado del cubreobjetos, Humedecer los puentes exteriores con agua destilada, Colocar el cubreobjetos por un extremo.

Alimentación: Tomar una muestra con la pipeta, Colocar una gota entre el cubreobjetos y la cámara de conteo.

Técnica de conteo

Líneas límites externas, Conteo de la zona de medición definida. El recuento se efectúa en el ángulo superior izquierdo Repetir este procedimiento en los 4 cuadrantes

Cálculo OPGH:

Número de oocistos/4 = número de oocistos/mm³.

Número de oocistos/mm³ x 10, 000 = número de oocistos/mL

Número de oocistos/mL x 20 g/50 mL.= número de oocistos/g

6.3.1.8 Lesiones de coccidias

Para la toma de órganos se sacrificaron dos aves por tratamiento cada semana a partir de la tercera semana y hasta a la sexta, tomando muestras de intestino delgado en sus parte de duodeno, yeyuno e íleon, sacos ciegos en porciones de aproximadamente dos centímetros, las muestras se colocaron en formol al 10% en una proporción 1:10 y se guardaron a temperatura ambiente para realizar su estudio histopatológico. Todas las muestras recolectadas fueron identificadas de acuerdo a los tratamientos, edad y sexo de los pollos, así como la fecha de recolección. Las lesiones fueron evaluadas de acuerdo a la técnica descrita por Johnson y Reid (1970). En el cuadro 6, se muestra la clasificación de las lesiones en intestinos y su interpretación.

Cuadro 6. Clasificación de las lesiones intestinales provocadas por coccidia.

Clasificación de la lesión	Interpretación
0	Sin lesiones
1	Heces acuosas sin moco
2	Medianamente lesionado, con moco en las heces
3	Lesionado
4	Muy lesionado

Fuente: Clasificación de las lesiones en intestinos.(Adaptado de Johnson y Reid 1970)

6.3.1.9 Parámetros productivos (Quintana, 2003)

Semanalmente se registraron los pesos promedio de las aves (PP), el índice de conversión (IC), la Ganancia Diaria de Peso (GDP) y el índice de productividad (IP).

El PP fue obtenido dividiendo el peso total de los animales expresados en kg, entre el número de las aves pesadas.

El IC fue obtenido mediante la siguiente relación:

$$IC = \frac{\text{Consumo Alimento}}{\text{Ganancia de Peso}}$$

La GDP (g/día), se calculó restando el peso final del peso inicial y dividido entre el número de días.

Para el cálculo de IP se aplicó la siguiente fórmula $IP = GDP * viab / IC * 10$ donde:

GDP= a la ganancia diaria de peso expresado en g/día

Viab= se le resta a las aves iniciadas la mortalidad y lo que resta es la viabilidad.

IC= es la cantidad de alimento consumido entre la cantidad de carne producido.

10= factor

6.3.1.10 Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento para Modelos Lineales Generales (GLM) del software de Statistical Analysis System, versión 6.12, (SAS Institute, 1996) con el tratamiento como efecto principal, de acuerdo a lo señalado por Snedecor y Cochran (1967). También se reportan diferencias entre las medias de los valores de cada variable obtenidos en cada grupo, utilizando pruebas de rango múltiple de Tukey con $P < 0.05$.

Diseño experimental

Se empleará un diseño completamente aleatorizado para los n tratamientos con n repeticiones.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{(i)j} \quad (i = 1, 2, \dots, t; j = 1, 2, \dots, r)$$

Donde: Y = variable de respuesta

μ = media general

t = efecto del i-ésimo tratamiento $1 = i = 5$

e = error experimental $1 = j = 5$

6.3.2 Segunda Etapa

En esta etapa solo se muestra el protocolo de campo ya que las demás variables y análisis estadístico fueron similares a lo del diseño experimental.

6.3.2.1 Protocolo de Campo

El propósito de este estudio fue el de evaluar el efecto anticoccidial de la IgY en un desafío natural con *Eimeria spp* de campo en una caseta comercial en cinco repeticiones. Como se indica en el cuadro 7, se seleccionaron 8500 pollos al azar línea Ross-308, mixtos de un día de edad, con un peso promedio de 38.0±3 g, provenientes de incubadora, que fueron alojados en una caseta tipo comercial en piso en cuatro grupos de pollos, separados por sexo, los cuales fueron asignados a cuatro tratamientos No 1; Grupo de machos que se les administro IgY en el alimento a razón de 200 ppm durante todo el ciclo de producción (SCM), No 2; Grupo de hembras que se les administró IgY en el alimento a razón de 200 ppm durante todo el ciclo de producción (SCH), No 3; Grupo de hembras que se les administró coccidiostato (Salinomocina 60 ppm o nicarbazina 125ppm)., en el alimento durante todo el ciclo de producción y No 4; Grupo de machos que se les administró coccidiostato (Salinomocina 60 ppm o nicarbazina 125ppm)., en el alimento durante todo el ciclo de producción.

Cuadro 7. Características del estudio de campo: Efecto anticoccidiano de IgY al desafío de *Eimeria spp* de campo

Tratamiento	No. de aves	Dosis de IgY	Vía de Admón.	Sexo
1	2125	200g/ton de alimento de IgY	Oral, en el alimento	Hembras
2	2125	200g/ton de alimento de IgY	Oral, en el alimento	Machos
3	2125	Coccidiostato Salinomocina 60 ppm o nicarbazina 125ppm.	Oral, en el alimento	Hembras
4	2125	Coccidiostato Salinomocina 60 ppm o nicarbazina 125ppm.	Oral, en el alimento	Machos

VII. RESULTADOS

7.1 Primera etapa (Diseño experimental)

7.1.1 Índice de lesiones en intestino provocadas por *Eimeria tenella*

En la figura 5, Se muestran los resultados de las lesiones encontradas para cada tratamiento después del desafío con *E. tenella*. La escala de lesiones se designa como 4+ para las máximas lesiones encontradas en los ciegos y la ausencia de lesiones se designa como 0+. Como se puede observar el tratamiento 3 (sin coccidiostato y desafiado) presentaron el mas alto índice de lesiones en el intestino (4+). Mientras que los que presentaron el menor índice de lesiones fueron los tratamientos 1, 2, 5 y 6 (1+) (sin coccidiostato y sin desafió, con coccidiostato y sin desafío, desafiado e IgY, y vacunado con *coccidia* spp y sin desafío, respectivamente).

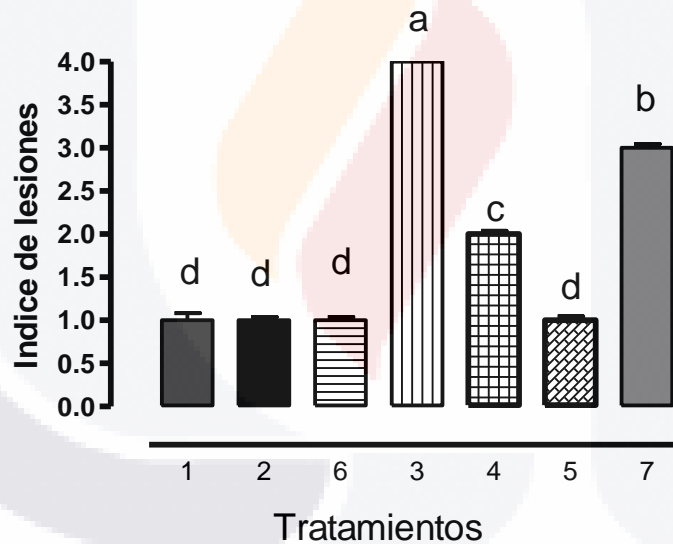


Figura 5. Grado de lesión de los intestinos en pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 días post inoculación. Las literales distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

7.1.2 Número de oocistos por gramos de heces (OPGH).

El conteo de oocistos/g en heces se presentan en la figura 6, donde se puede observar que los grupos que fueron desafiados (3, 4, 5, 7) a los 42 días de edad de las aves y 21 días post-desafió con *Eimeria Tenella* (2500 oocistos/mL) presentaron el mayor número de oocistos, donde el tratamiento 3 (SCD) fue el de mayor cantidad de oocistos por gramo de heces (2916 oocistos/g). Mientras que los tratamientos de los grupos de aves no desafiados (1, 2, 6) fueron los que mostraron el menor número de oocistos por gramo de heces, siendo el tratamiento 1 y 2 (SC y CC, respectivamente) los que mostraron cero oocistos por gramo de heces. Sin embargo, el tratamiento 6 (V) mostró valores de 416 oocistos/g de heces a pesar de no haber sido desafiado.

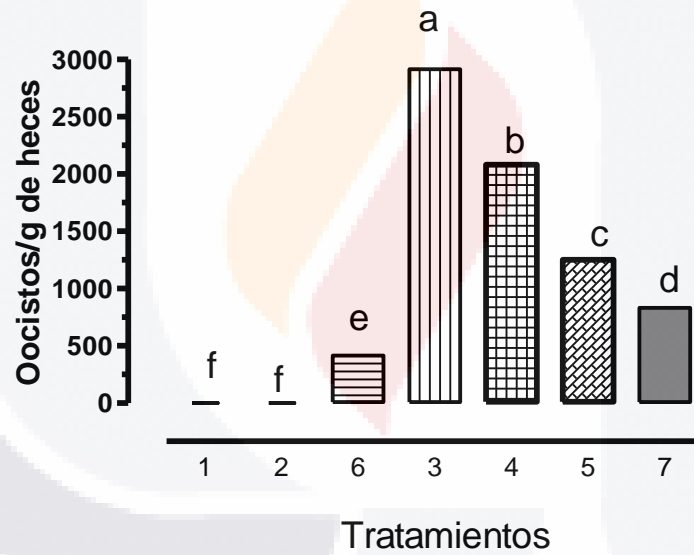


Figura 6. Cantidad de oocistos por gramo de heces en pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 post inoculación. Adaptado de la técnica de flotación de Mc Master. Las literales distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

7.1.3 Respuesta serológica

7.1.3.1 Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle.

Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle, se considera que el logaritmo del 4 al 5 hay una respuesta vacunal favorable, los resultados en la figura

4, indican que las aves que fueron vacunadas contra la enfermedad de NC cepa la sota y cepa Puebla 2005 (P05) a los 10 días de edad y que fueron muestreadas en las semanas 2, 4 y 6, mostraron valores logarítmicos de la titulación de anticuerpos contra New Castle, mediante la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación superiores a 4.

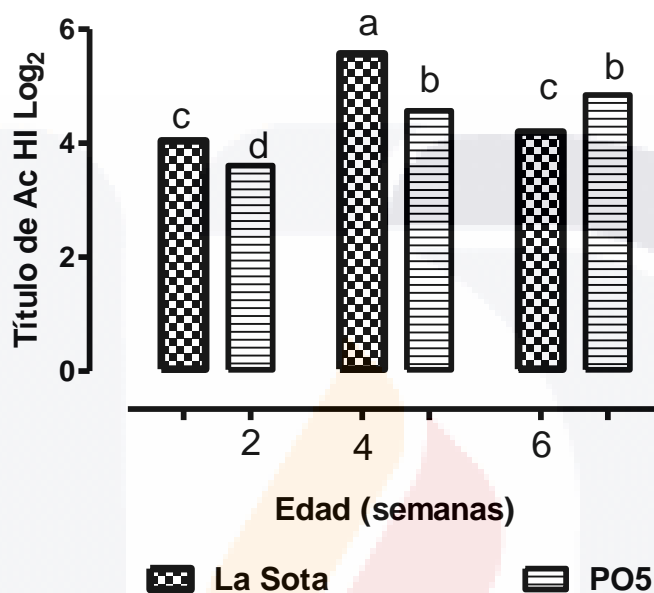


Figura 7. Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle obtenidos en pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 14, 28 y 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los tres grupos, con los análisis de la cepa la sota de New Castle y la cepa PO₅ (Puebla 2005), vacunados con virus vivo y emulsionado a los 10 días de edad y revacunados a los 28 días con solo virus vivo de New Castle. Las literales distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

7.1.3.2 Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza aviar (IA),

Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza aviar (IA), se considera que valores logarítmicos de 4 a 5. Los resultados obtenidos en este estudio se muestran en la figura 5, los cuales nos indican que las aves que fueron vacunadas contra la enfermedad de (IA) con la cepa H₅N₂ y Puebla 2004 (P04) a los 10 días de edad y que fueron muestreadas en las semanas 2, 4 y 6. Presentaron valores inferiores a 4 a excepción del muestreo de la segunda semana, donde los valores de anticuerpos de PO₄, fueron superiores a 4. Estos resultados indican que las aves no estaban debidamente protegidas ante un desafío de campo.

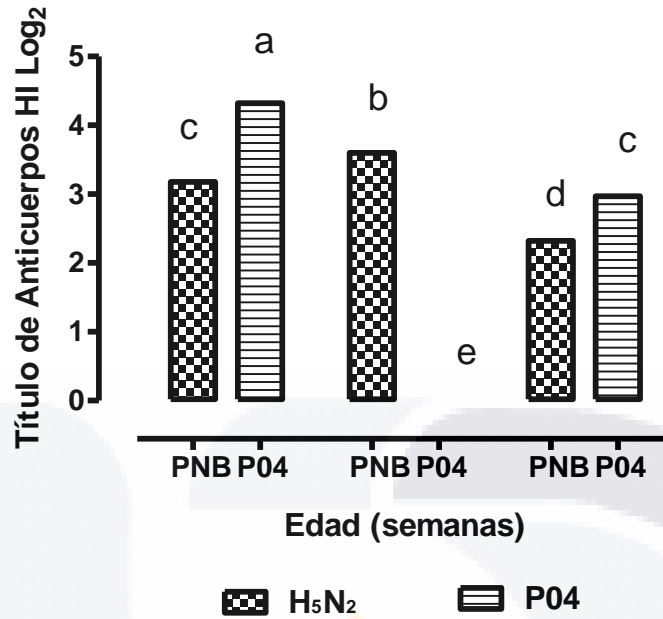


Figura 8. Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar (IA), obtenidos en pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 14, 28 y 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los tres grupos, con los análisis de la cepa H₅N₂, PO₄ (Puebla 2004), vacunados con virus emulsionado a los 10 días de edad. Las literales distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

7.1.4 Parámetros productivos

7.1.4.1 Peso corporal promedio

En aves a las 42 días de edad a las cuales se les aplicaron los seis tratamientos y se comparan contra el tratamiento control, en la figura 9, se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos que recibieron los coccidiostatos e inmunoglobulinas solas y con desafío con respecto al grupo control que no recibieron ni inmunoglobulinas ni coccidiostato y no fueron desafiados ($P \geq 0.05$). Sin embargo, se puede observar que el grupo de animales que fueron desafiados presentaron una tendencia a tener un menor peso promedio con respecto a aquellos grupos de animales que no fueron desafiados.

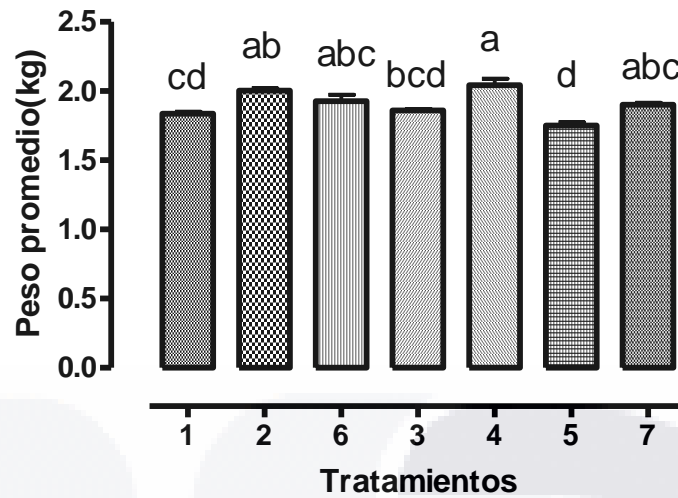


Figura 9. Peso promedio de pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 días post inoculación. Las literales distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

7.1.4.2 Índice de conversión

En la figura 7, se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos que recibieron los coccidiostatos e inmunoglobulinas solas y con desafío con respecto al grupo control que no recibieron ni inmunoglobulinas ni coccidiostato y no fueron desafiados ($P \geq 0.05$). Sin embargo, se puede observar que el grupo de animales que fueron vacunados, vacunados-desafiados, inmunoglobulinas-desafiados, mostraron una tendencia a tener un menor índice de conversión con respecto a los otros tratamientos incluyendo el grupo control.

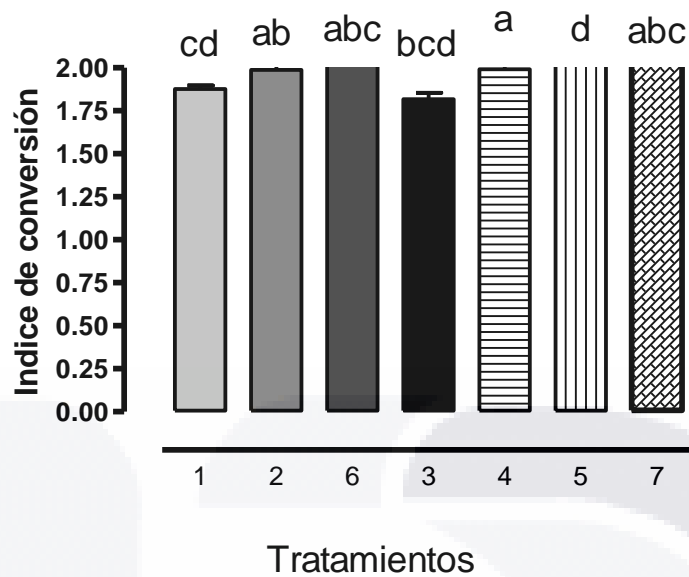


Figura 10. Índice de conversión alimenticia de pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 días post inoculación. Las literales distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

7.1.4.3 Ganancia diaria de peso

Los resultados de la ganancia diaria de peso obtenidos en éste estudio se muestran en la figura 11, donde se puede observar que los valores menores de ganancia diaria de peso (40g/día) fueron en los tratamientos 1, 3, 5 (sin coccidiostato no desafiado, sin coccidiostato desafiado, con inmunoglobulinas y desafiado, respectivamente), mientras que los valores mayores de ganancia diaria de peso (46 g/día), se obtuvieron en los tratamientos 2, 4, 6, 7 (Con coccidiostato, vacunado, con coccidiostato desafiado, vacunado desafiado, respectivamente).

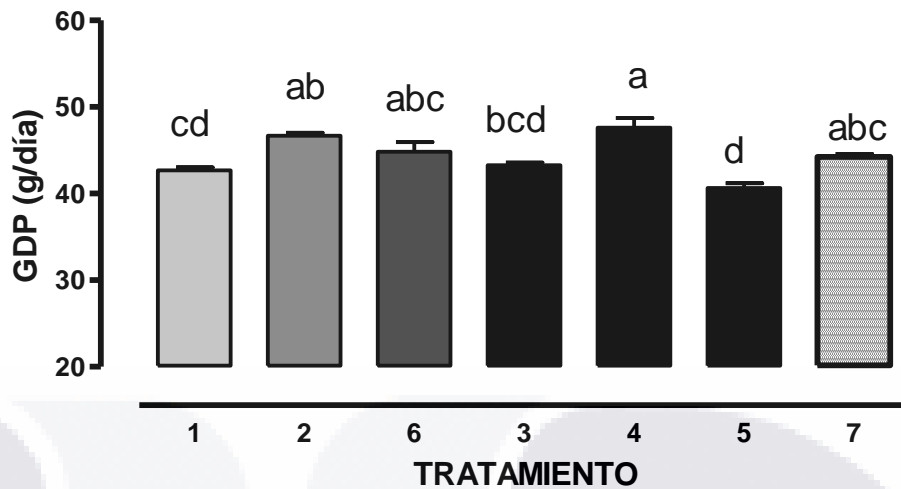


Figura 11. Ganancia diaria de peso de pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 días post inoculación. Las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

7.1.4.4 Índice de productividad

Los datos obtenidos de los índices de productividad en las aves a 42 días de edad se muestran en la figura 12, donde se observa que los valores de ésta variable mostraron variabilidades importantes lo que dio origen a que éstos resultados no mostraran diferencia significativa en ninguno de los tratamientos, entre los grupos de las aves que fueron desafiadas (2500 oocistos/mL de *Eimeria tenella*) y las no desafiadas. Así como, los grupos de animales que fueron vacunados contra la coccidia y alimentados con IgY As o sin desafiar ($P \geq 0.05$) el desafío se realizó con por ave.

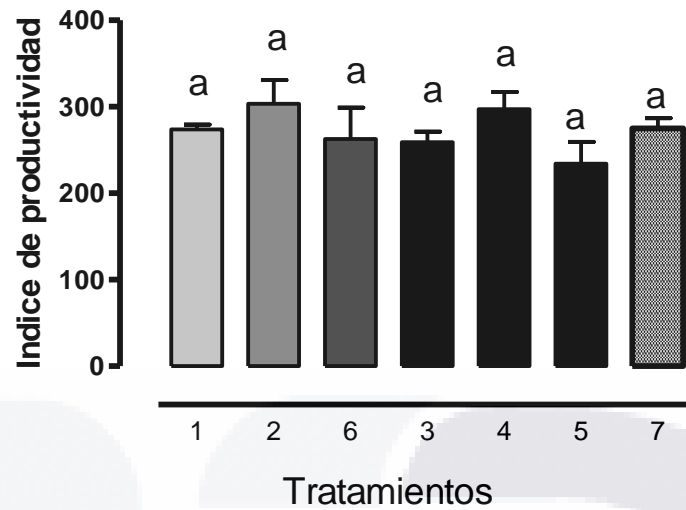


Figura 12. Índice de productividad de pollos de engorda machos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, expuestos y no expuestos a la infestación con oocistos de *Eimeria tenella* (2500 oocistos/mL). Se muestran los siete tratamientos (1=C, 2=CC, 3=SCD, 4=CCD, 5=IgYD, 6=V, 7=VD). Se indican las medias y los EE (n=15) a los 21 días post inoculación. Las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$). Por lo tanto como todas las literales son iguales no hay diferencias significativas.

7.2 Segunda etapa (Diseño no experimental)

7.2.1 Índice de lesiones en intestino provocadas por *Eimeria spp*

La figuras 13, indica el promedio del grado de lesiones observados en los intestinos de los diferentes grupos de aves que recibieron IgY y coccidiostato comercial durante los 42 días del estudio, de acuerdo a la escala de calificación de Johnson y Reid (1970). El T1 (hembras que se les suministró IgY en el alimento) presentaron el menor número de lesiones (grado 1 ± 0.0), mientras que el T4 (machos que se les administró coccidiostato en el alimento) fue el que presentó el promedio mayor del grado de lesiones (2.4 ± 0.24) siendo diferentes significativamente ($P \leq 0.05$). Mientras que no se presentaron diferencias significativas entre el T1 y los T2 (1.6 ± 0.24) y T3 (1.8 ± 0.37) ($P \geq 0.05$).

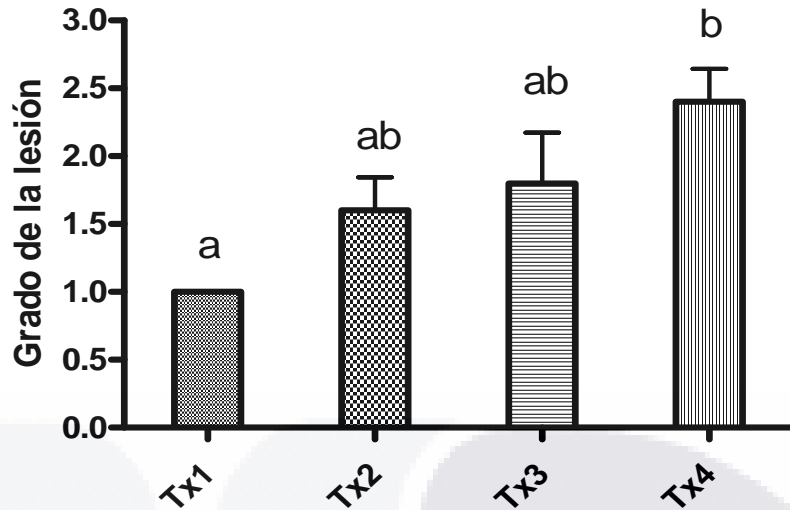


Figura 13. Grado de lesión de los intestinos de cinco ciclos, en pollos de engorda machos y hembras de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial y desafiados con las cepas de campo (*Eimeria spp.*). Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

7.2.2 Número de oocistos excretados en las heces

El número de oocistos de *Eimerias spp.* esporulados por gramo de heces (OPGH), de los diferentes muestreos tomadas directamente de la cama los días 21, 28, 35 y 42 días y de los diferentes tratamientos fueron en un rango de 500 a 8500 por lo que no fue posible encontrar una diferencia significativa en ninguno de los tratamientos ($P \geq 0.05$). Sin embargo, en el caso del grupo de pollos machos (T2) que recibieron las IgY (200g/ton de alimento) se observaron los valores menores de oocistos/g de heces (500 ± 100). Mientras que el grupo de pollos machos (T4) que recibieron el coccidiostato comercial mostraron los valores más altos de todos los grupos en el estudio (8500 ± 5000 oocistos/g de heces), como se puede observar en la figura 14 ($P \geq 0.05$).

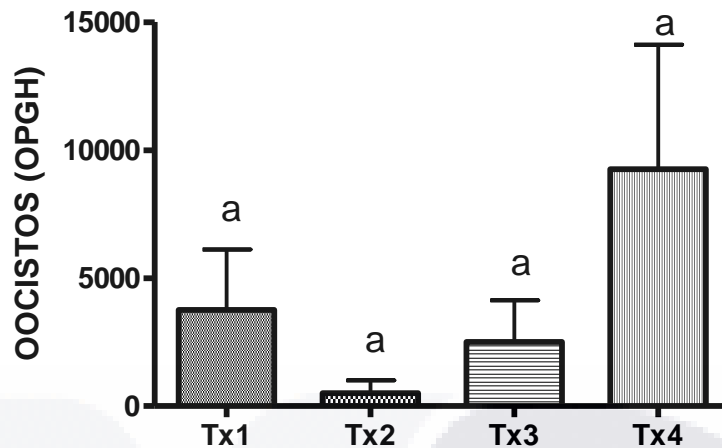


Figura 14. Cantidad de oocistos por gramo de heces de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial y desafiados con las cepas de campo (*Eimeria* spp). Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P > 0.05$).

7.2.3 Respuesta serológica

7.2.3.1 Respuesta de anticuerpos contra NC

En la figura 15. se muestran los valores promedio y errores estándar de los Ac de las pruebas de Inhibición de la Hemaglutinación (HI) contra la enfermedad de NC realizadas a los 28, 35 y 42 días de edad a los sueros de las aves de cinco repeticiones. Donde se puede apreciar que el análisis de varianza realizado no arrojó que existiera diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos ($P \geq 0.05$). En todos los casos los niveles de Ac fueron por arriba de 5.

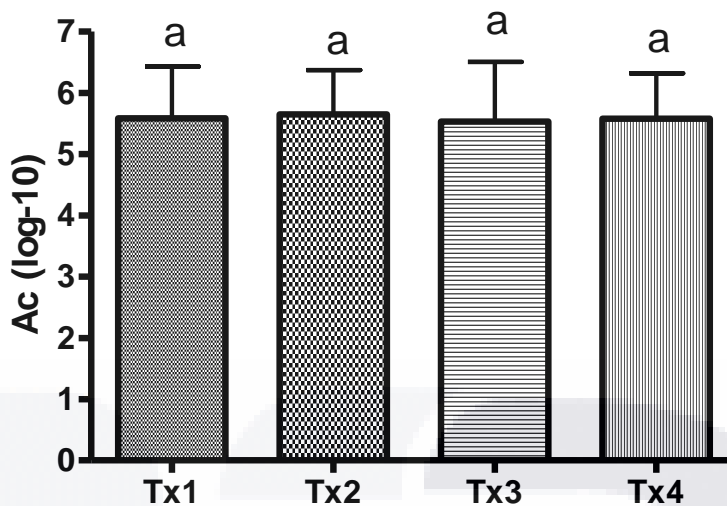


Figura 15. Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de New Castle de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial y vacunados con virus vivo y virus emulsionado a los 10 días de edad y revacunados contra Newcastle a los 28 días de edad vía agua de bebida. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

7.2.3.2 Respuesta de anticuerpos contra IA

Igualmente los niveles de Ac observados para la IA fueron superiores a 4 pero tampoco se encontró diferencias significativas entre los grupos de aves ($P \geq 0.05$) como se puede observar en la figura 16. Estos resultados nos indican que la adición del supracox (IgY) comercial si bien no ocasionó un incremento en la titulación de Ac contra IA este no causó efectos negativos (inmunodepresión) en las aves que la consumieron, ya que los títulos obtenidos en el presente estudio se consideran protectivos contra la enfermedad de IA.

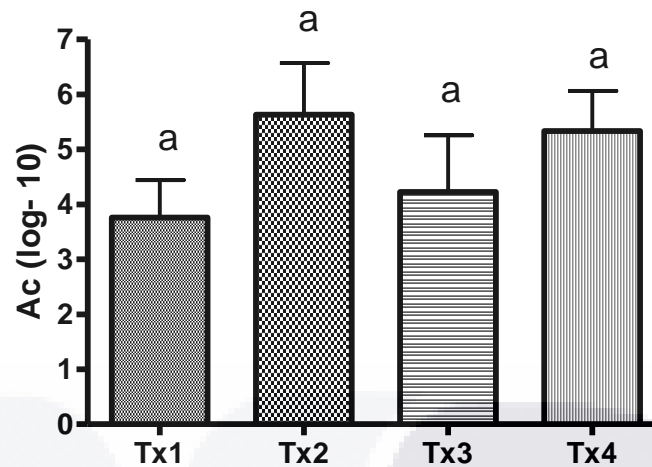


Figura 16. *Títulos de anticuerpos contra la enfermedad de Influenza Aviar, de cinco ciclos en pollos de engorda machos y hembras de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial y vacunadas virus emulsionado a los 10 días de edad. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).*

7.2.4 Parámetros productivos

7.2.4.1 Peso promedio

Los pesos corporales promedio obtenidos de los pollos a los 42 días de duración del estudio se pueden observar en la figura 17. Donde se puede apreciar que el análisis de varianza realizado no arrojó que existiera diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos, en todos los casos los pesos fueron superiores a 2000 g ($P \geq 0.05$). Sin embargo, los valores observados de los pesos fueron más altos para los grupos de pollos machos con 2249.6 ± 108.78 para los que recibieron IgY y de 2259 ± 116.71 para los que recibieron coccidiostato ($P \geq 0.05$).

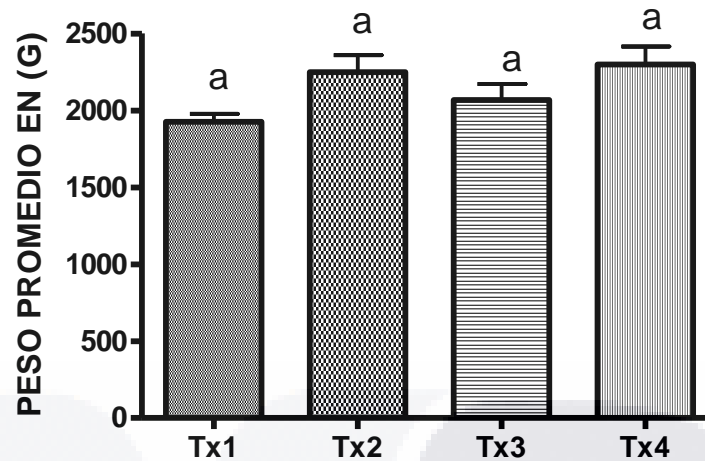


Figura 17. Peso promedio de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

7.2.4.2 Índice de conversión alimenticia

El índice de conversión alimenticia de los pollos a los 42 días de duración del estudio se pueden observar en la figura 18. Donde se puede observar que el análisis de varianza de los resultados no demostró que hubiera diferencias significativas entre los tratamientos ($P \geq 0.05$). Sin embargo, para el grupo de aves del T2 (machos que recibieron IgY en el alimento) se observó el mejor IC (1.73 ± 0.09) seguido por el grupo de aves del T1 (hembras que recibieron IgY en el alimento) con un IC de 1.95 ± 0.07 , mientras que los grupos de los T3 y T4 (hembras y machos que recibieron coccidiostato en el alimento) mostraron ambos un IC de 2.0 ± 0.14 ($P > 0.05$).

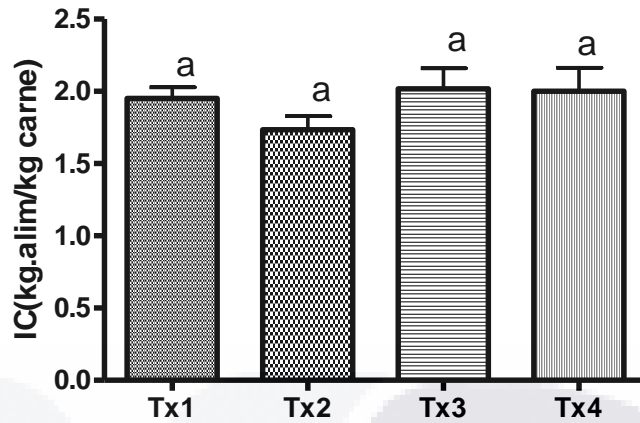


Figura 18. Índice de conversión alimenticia de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

7.2.4.3 Ganancia diaria de peso

La GDP de los pollos a los 42 días de duración del estudio se pueden observar en la figura 19. Siendo mayor la GDP para el T2 con un valor promedio de 75 ± 5.2 g/día ($P \leq 0.05$). Mientras que para el grupo de aves del T3 y T4 (hembras y machos que recibieron coccidiostato en el alimento) se observó una GDP promedio de 68 ± 4.7 g/día. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de aves que recibieron IgY y coccidiostato en el alimento ($P \geq 0.05$).

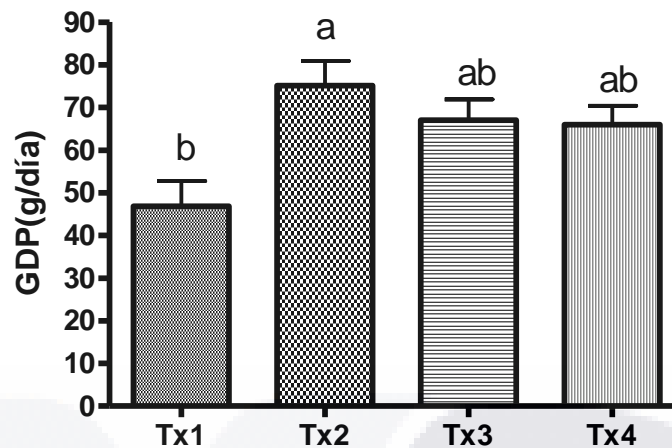


Figura 19. Ganancia diaria de peso de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

7.2.4.4. Índice de productividad

Los IP obtenidos de los pollos a los 42 días de duración del estudio se muestran en la figura 20. Siendo mayor el IP para el T2 con un valor promedio de 375 ± 19.65 y para T1 de 210 ± 30.86 ($P \leq 0.05$). Mientras que para el grupo de aves del T3 y T4 (hembras y machos que recibieron coccidiostato en el alimento) se observó un IP promedio de 305 ± 34.32 y 322.60 ± 41.49 respectivamente. Sin embargo, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de grupos de aves que recibieron IgY y coccidiostato en el alimento en el grupo de hembras fueron ligeramente menores con respecto a los machos ($P \uparrow 0.05$).

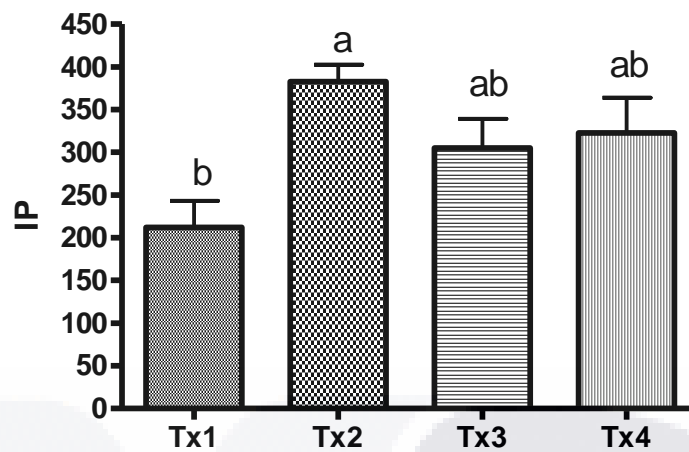


Figura 20. Índice de productividad de pollos de engorda machos y hembras de cinco ciclos productivos de la línea Ross-308 de 42 días de edad, criados en caseta avícola tipo comercial. Se muestran los cuatro tratamientos (1=Machos con IgY, 2=Hembras con IgY, 3=Hembras con coccidiostato, 4=Machos con coccidiostato). Se indican las medias y los EE (n=2125), las literales distintas indican diferencias significativas ($P \uparrow 0.05$).

VII. DISCUSIÓN

Actualmente la principal forma de prevención y tratamiento de la coccidiosis aviar en la industria avícola nacional y mundial, ha sido a través del uso de la administración de la quimioterapia. El empleo de un programa dual a base de Nicarbazina en la fase de iniciación y de un ionóforo en la fase de finalización es probablemente el programa más empleado en la avicultura comercial a nivel mundial. La lógica de este programa se basa en que el método de acción de ambos compuestos es diferente, siendo la Nicarbazina un anticoccidiano químico muy eficiente, pero con efectos tóxicos importantes, por lo que sólo es incluido en las primeras fases, mientras que el programa se complementa con un ionóforo, que muestra un modo de acción diferente y no tiene tantos problemas de toxicidad. Sin embargo, en los últimos 10 años la resistencia que han mostrado los parásitos a este tipo de drogas o principios químicos, ha dado origen a que se esté trabajando en nuevas alternativas, principalmente en la elaboración y aplicación de vacunas para el control de esta enfermedad. Por otra parte, existen evidencias que otra posible alternativa para controlar y tratar la coccidiosis parasitaria en las aves, pudiera ser el uso de Ac policlonales obtenidos a partir de la yema de huevo de aves hiperinmunizadas (Friendschön, 1994; Kuroki, 1994; Lee, *et al.*, 2009).

8.1 Índice de lesiones en intestino provocadas por *Eimerias spp.*

En nuestros estudios (experimental y de campo) el grupo con el menor nivel de lesiones de acuerdo a la clasificación de Johnson y Reid (1970), fue en los grupos a los cuales se le administró 200g de la IgY/ton de alimento, con un valor promedio de 1.25 para ambos estudios. Estos resultados que obtuvimos son similares en cuanto a la protección que ofrece la administración de IgY como ya ha sido reportado por Lillehoj *et al.*, (2004). Asimismo, otros estudios han reportado, como nosotros una disminución del grado de lesión en los intestinos mediante la aplicación de IgY, independientemente de su administración ya sea en el agua de bebida o del alimento balanceado (Jeffers, *et al.*, 1970; Long y Reid 1982; Lillehoj y Choi, 1998). Estudios realizados en México por Lillehoj *et al.*, (2009) han reportado el beneficio de protección a la coccidiosis que se logra administrando la IgY de yema de huevo

preparada de gallinas hiperinmunizadas contra múltiples especies de oocistos de *Eimerias* en la dieta de pollos de engorda reduciendo la propagación de oocistos en comparación con las aves control, las cuales fueron alimentadas con una dieta no suplementada. Nuestros resultados sugieren que la administración de la IgY de yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas afectó de manera directa la viabilidad de los oocistos de las *Eimeria spp* (desafiados experimentalmente) y de los de campo por un estímulo de la producción de células inmunes en el intestino. Se ha demostrado que las inmunoglobulinas, IgG, IgA, y IgM, juegan un papel vital en la fijación de antígenos extraños al huésped y que la presencia de estos anticuerpos pueden sobre la superficie de los parásitos o microorganismos producir aglutinaciones y las cantidades de estas IgG e IgM activar el sistema de complemento (Tizard, 1998; Reinap, *et al.*, 1999). Aunque es difícil entender el complejo molecular y los eventos celulares involucrados en la respuesta inmune contra la coccidiosis, a pesar de que ha sido reportado en pollos que han sido infectados con *Eimeria spp.*, produciendo anticuerpos específicos contra el parasito tanto a nivel de circulación como secreción de las mucosas (Yun *et al.*, 2000). Esto asume de que este desarrollo de anticuerpos es de manera paralela al de la inmunidad celular (Bedrink y Kucera, 1988) y que participa en la protección *per se* y como posible modulador de la respuesta celular a nivel intestinal (Mockett y Rose, 1986). Aunado a lo anterior, los Ac IgY han sido detectados con pruebas de ELISA en pollos vacunados con *E. tenella* (Hafeez *et al.*, 2006). Esto pudiera explicar el porqué el grupo de aves que recibieron las IgY tuvieron menor grado de lesiones. Igualmente podemos inferir de que el producto comercial supracox tiene un efecto que favorece el control de la coccidiosis en los pollos de engorda.

8.2 Número de oocistos por gramos de heces (OPGH)

Los resultados que observamos en cuanto al número de oocistos por g de heces fue una disminución de la eliminación de oocistos en las heces de los pollos de engorda que recibieron tratamientos con IgY a la dosis de 200g/ton de alimento de manera tanto experimental como en caseta comercial. Esto puede ser explicado a que gracias a que el número de lesiones y el grado de estas es menor en los animales

que recibieron la IgY, las coccidias no tuvieron la capacidad de propagarse y por ende no tener la posibilidad de manifestarse en las heces. Estos estudios concuerdan con los estudios realizados por Lee *et al.*, (2009), quienes encontraron un efecto de protección a la coccidiosis, así como una reducción en la propagación de oocistos en comparación con las aves control, que no recibieron una dieta con IgY de yema de huevo. Estos resultados sugieren, al igual que en los resultados obtenidos de los índices de las lesiones en el párrafo anterior, que la IgY afectó de manera directa la viabilidad de los oocistos y que estimuló la producción de células inmunes en el intestino reduciendo por consecuencia la propagación de las *Eimerias* y por lo tanto el número de oocistos eliminados en las heces. De tal forma, que nuestros resultados sugieren que los grupos de aves (hembras y machos) en el estudio en campo, que recibieron el supracox (IgY) en el alimento tuvieron un beneficio adicional en la producción de Ac específicos contra la coccidia que favoreció la no infección, comparado con los que recibieron el anticoccidiano comercial.

8.3 Respuesta serológica

En nuestros estudios (experimental y de campo) no se observaron diferencias significativas en cuanto a la respuesta serológica de las aves con respecto a la vacunación contra NC e IA, tanto en las aves que recibieron coccidiostato, IgY así como, las que fueron vacunadas con respecto a las aves control. En todos los casos se registraron valores de títulos por debajo de los valores considerados protectivos contra dichas enfermedades. Estudios realizados por Ellis, *et al.*, (2004); y Lillehoj (2006); Kapczynski y King (2005); Miller *et al.*, (2006); Miller *et al.*, (2007); Estevez *et al.*, (2007); Lucio *et al.*, (2007); Yuño y Gorgona (2008), han utilizado o hecho uso de Ac obtenidos de la yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas para prevenir y controlar la diseminación de la influenza aviar, quienes refieren que el uso de los Ac derivados del huevo, la transmisión del virus decrece y que por tanto hay una mayor prevención de los brotes. Por otro lado, Rahimi, *et al.*, (2007), comentan que los Ac derivados del huevo, pueden ser una atractiva herramienta para prevenir los brotes del virus de Influenza aviar y que también posiblemente evite la diseminación a los

humanos. Con nuestros resultados no nos permiten sugerir evidencias de mejoras en la prevención o control de estas enfermedades, por lo que es recomendable continuar realizando estudios que permitan valorar este posible beneficio que pudiera aportar u ofrecer el uso de las IgY de yema de huevo en la lucha contra las enfermedades de NC y IA.

8.4 Parámetros productivos

8.4.1 Peso corporal promedio

Varios estudios reportan que ciertas etapas del ciclo de vida de la *Eimeria* disminuyen las pérdidas de peso corporal, ocasionando pérdidas económicas importantes relacionadas con la coccidiosis aviar. Igualmente como ya fue mencionado anteriormente, se ha reportado que el empleo de un programa dual a base de Nicarbazina en la fase de alimentación de iniciación y ionóforos en la fase de alimentación de finalización es probablemente el programa más empleado en la avicultura comercial a nivel mundial. El empleo de las inmunoglobulinas como producto único durante todo el programa de crianza de las aves, ya ha sido documentado con resultados de éxito (Lillehoj, 2005). Nuestros resultados son similares al estudio realizado por Mendoza, *et al.*, (2009) y Mathis, (2001) quienes demostraron que el uso de las inmunoglobulinas en la dieta de las aves presentan una tendencia a mejorar el peso corporal de las aves con relación al uso de drogas anticoccidiales. Nuestros resultados pueden sugerir que la IgY no causa lesiones a nivel intestinal, ni tiene ningún efecto tóxico por ser inocuo, como sí lo refieren muchos anticoccidianos, por lo que existe una mejor absorción de nutrientes proporcionada en la dieta.

8.4.2 Índice de conversión

En aves a los 42 días de edad tanto en el estudio experimental como en el de campo, no se logró observar diferencia estadística entre los tratamientos. Estos resultados difieren a los reportados recientemente por Lee, *et al.*, (2009), quienes reportan diferencias significativas en la conversión alimenticia entre los grupos de aves alimentadas con IgY y las controles, siendo mayor para el grupo de IgY. Si bien,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

estos resultados no muestran un mejor índice de conversión pero consideramos que sigue siendo una ventaja el uso de la IgY ya que esta logra mantener valores de este parámetro en condiciones similares a las obtenidas en animales que han sido vacunados y tratados con coccidiostatos, por lo tanto se pudiera inferir que el IgY si funciona como tratamiento y control de la coccidiosis.

8.4.3 Ganancia diaria de peso

El efecto de los diferentes tratamientos, en los cuales se aplicó, inmunoglobulina IgY en la dosis de 200g/ton de alimento, coccidiostato en el alimento, vacuna contra coccidiosis aviar y el desafío de las aves mediante la inoculación directa a las aves con *E. tenella* (2500 oocistos/mL) de manera experimental, así como en el estudios de la contaminación natural en casetas comerciales, se observó una mejora en las ganancias diarias de peso. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores, quienes realizaron, la aplicación de IgY vía alimento, durante toda la engorda de los pollos (Losch *et al.*, 1986; Bafundo y Jeffers, 1990; Marquart, 1998; Lillehoj y Choi, 1998; Chapman, 2005; Morales *et al.*, 2005; Marrufo y Lucio, 2009; Lee *et al.*, 2009). Estos estudios sugieren que la IgY afectó de manera directa la viabilidad de varios tipos de oocistos y estimuló la producción de células inmunes en el intestino por lo que la alimentación continua con IgY en el pollo de engorda puede resultar recomendable para mejorar los valores de GDP en las explotaciones avícolas.

8.4.4 Índice de productividad

Los datos obtenidos del índice de productividad en este estudio experimental no encontramos diferencias. Sin embargo, en el estudio de campo a nivel de explotación comercial se logró observar una diferencia a favor del grupo de aves que recibieron la IgY. Nuestros resultados coinciden con los trabajos de Lillehoj et al., (2009) reportan valores significativos de las aves que recibieron IgY, en la eficiencia alimentaria en comparación con las aves control, las cuales fueron alimentadas con una dieta no suplementada. Los estudios han sugerido que la IgY afectó de manera directa la viabilidad de varios tipos de oocistos y estimuló la producción de células

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

inmunes en el intestino lo que mejoró el aprovechamiento de los alimentos. En los estudios llevados a cabo por Mendoza, *et al.*, (2009) reportan índices óptimos en cuanto a productividad (258) cuando combinaron las inmunoglobulinas y el coccidiostato salinomicina. Esto refleja que dado a que este producto no causa lesiones a nivel intestinal, ni tiene ningún efecto tóxico, como sí lo refieren muchos anticoccidianos, por lo que existe una mejor absorción de nutrientes proporcionada en la dieta. Información similar ha sido reportada por trabajos realizados en el United States Department of Agriculture (USDA) por la Dra. Lillehoj, (2006), quien informa de un mayor índice de productividad cuando se utiliza la IgY como anticoccidiano y que además no se presenta ningún tipo de signología de la coccidiosis. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que permitan esclarecer el mecanismo inmune mediado por anticuerpos IgY en la protección contra coccidiosis. La inducción pasiva de la inmunidad protectora mediada por la alimentación oral de Ac de yema de huevo es diferente a los otros tipos de Acs de protección los cuales ya han sido descritos (Belli, *et al.*, 2004).

A pesar de que en estos estudios no fueron encontradas diferencias estadísticas en los parámetros productivos evaluados como Peso Promedio e Índice de Conversión a los 42 días de vida de las aves que recibieron el supracox (IgY) y coccidiostato estos tuvieron una tendencia favorable hacia los grupos de aves alimentados con la IgY. Esto de alguna manera indica un aspecto positivo para el supracox. Existen reportes realizados por el laboratorio de Investigaciones Aplicadas (IASA, 2007) realizados en México y Perú donde reportan una mejor peso a la finalización en las aves que recibieron el supracox. Con relación a la GDP e IP nuestros resultados si mostraron diferencias estadísticas a favor de los grupos de aves que recibieron el supracox (IgY), situación que no se ha reportado en pocos estudios.

IX. CONCLUSIÓN

Con el uso de inmunoglobulinas en el alimento se confirma que éstas si protegen a las aves contra brotes de campo de las coccidias y que productivamente si se tiene una mejora en el parámetro de GDP e IP, que se mantuvo bajos los niveles de oocistos y que disminuyó de manera importante el grado de lesiones durante el tiempo de administración respecto a los grupos de aves que recibieron el coccidiostato comercial, consolidándose entonces como una nueva alternativa de tipo natural, inocua, segura y eficaz en el control y tratamiento de la coccidiosis aviar. Otra ventaja que se tiene el uso de las IgY de gallinas hiperinmunizadas (supracox) es que no tiene que retirar de la dieta en ninguna etapa de la vida del animal ya que no se tienen problemas de salud pública, como es el caso del uso de los coccidiostatos comerciales.

X LITERATURA CITADA

- Alcaíno, H., González, J. P. Fredes, F., Gorman, T. (2002). Coccidias aviarias de gallineros industriales de Chile. *Parasitología Latinoamericana*. Vol. 57, No.1-2, pp. 34-39.
- Alarcón, C. E., Hurtado, H., Castellanos, J. (2000). Anticuerpos aviarios: alternativa en producción y diagnóstico. *Biomédica*; 20: 338 - 43.
- Allen, P. C. and Fetterer, R. H. (2002). Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 58 – 65.
- Anderson, L. C., Rush, H. G. and Glorioso, J. C, (1984). Strain differences in the susceptibility and resistance of *Pasteurella multocida* to phagocytosis and killing by rabbit polymorphonuclear neutrophils. *Am. J. Vet Res.* 45. 1193 - 1198.
- Anderson, J. W., Bftu, T. Brown, C., Donald, R., Gurnett, A., Leavitt, P. S., Mathew, J. Bakela, N. Schmatz, D., Tamas, T., Thompson, D., Zhong, T., Liberator, P. (2005). Anticoccidial drugs discovery: approaches toward the identification of novel chemotherapeutic agents. Proceedings of The International Coccidiosis Conference, Foz do Iguazú (Brasil).
- Angulo, I., Ruiz, H., Madrigal, J. (1983). Observaciones sobre la Investigación en Coccidiosis Aviar en Venezuela, En: 9° Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Maracay, Venezuela, p. 090.
- Augustine, P. C., Danforth, H.D. (1986). A study of the dynamics of the invasion of immunized birds by *Eimeria* sporozoites. *Avian Dis* 30: 347 - 351.
- Augustine, P. (1996). Avian *Eimeria* Species: Effect of immunity or simultaneous inoculation of one species on cellular invasion by a second species in vivo and in vitro. *Avian Dis*; 40: 783 - 787.
- Augustine, P. (2000). Cellular invasión by avian eimeria species. *Avian Poul Biol. Rev*, 11: 113 - 22.
- Augustine, P. (2001). Cell sporozoite interaction and invasion by apicomplexan parasites of genus eimeria. *Int. J. Parasitol.* 31: 1 - 8.
- Augustine, P. (2006). Selection of poultry *Eimeria* strains through extra-intestinal sporozoites . *Avian Dis*; Vol 39 pp 709-717.
- Bafundo, K. W. and T. K. Jeffers. (1990). Selection for resistance to monensin, nicarbazin and the monensin plus nicarbazin combination. *Poultry Science*; 69: 1485 - 1490.

- Bafundo, K. W. (1995). Diferencias entre Ionóforos anticoccidiales. Consideraciones prácticas y expectativas realistas. Memorias del III seminario sobre nutrición y patología aviar. 1995 marzo 17; Juriquilla Qro. México DF: Labs. Pfizer SA de CV 1995: 13 -17.
- Bafundo, K. W. (2006). Control quimioterapeutico de la coccidiosis: perspectivas sobre programas presentes y futuros. Memorias de la XXVII Convención anual de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas.
- Boyce, J. D. and Adler, B. (2000). The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). *Infect. Immun.* 68: 3463 – 3468.
- Bocdiert, A. (1968). Parasitología Veterinaria. Ciudad de La Habana: Edición Revolucionaria; p. 632.
- Brown, E., Cuellar, D., Moreno, D. (2006) prevalencia de *eimerias spp* en gallinas ponedoras de granjas pertenecientes a tres municipios del estado de Trujillo en Venezuela. *RCV.* 16 n. 6. p. 579 - 584.
- Cabriales, J. J. (2002). Comportamiento de la eliminación de ooquistes como herramienta en la evaluación de una vacuna contra la coccidiosis aviar en aves reproductoras. Memorias de la XXVII Convención anual de la Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas, Puerto Vallarta, Mayo 1-4; p 134 - 136.
- Caldwell, D. J. (2004). Participation of the intestinal epithelium and mast cells in local mucosal immune responses in comercial poultry. *Poul. Sci.* 83: 591 – 599.
- Carlander, D. (2002) Avian IgY antibody. In vitro and in vivo. Acta Universitatis Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine; 1119, 1 - 53.
- CEE2505/2001CEE (2001). Del consejo sobre aditivos en la alimentación animal. Diario oficial # L297 de 15 nov. del 2001 pag. 0003-0004. Bruselas.
- Chacana, P. A., Terzolo, H. R., Gutiérrez, C. E. & Schade, R. (2004). Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 85 (5): 179 - 189.
- Chapman, H. D. (1993). Twenty-one years of monensin for the control of coccidiosis (a review). Barta, J. R. & Fernando, M. A. (Eds.). Proceedings of the VIth International Coccidiosis Conference (pp. 37 - 44). 21 - 25 June. Guelph, Ontario, Canada.

- Chapman, H. D. (1994a) Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin following the use of a coccidiosis vaccine in broiler chickens. *Poult. Sci.* 73: 476 – 478.
- Chapman, H. D. (1994b). A review of the biological activity of the anticoccidial drug nicarbazin and its application for the control of coccidiosis in poultry. *Poult. Sci. Rev.* 5: 231 - 243.
- Chapman, H. D. (2000a). Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. *World's Poultry. Science Journal.* Vol. 56. p. 7 - 12.
- Chapman, H. D. (2000b). Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. *World's Poul. Sci. J.* 56: 7 – 20.
- Chapman, H. D. (2001). Use of anticoccidial drugs in broiler chickens in the USA: analysis for the years 1995-1999. *Poult. Sci.* 80: 572 - 580.
- Chapman, H. D. & Johnson, Z. B. (2002). Use of antibiotics and roxarsone in broiler chickens in the USA: analysis for the years 1995-2000. *Poult. Sci.* 81: 356-364.
- Chapman, H. D., Cherry, T.E., Danforth, H.D. et al. (2002). Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. *Int. J. Parasitol.* 32, 617-629.
- Chapman, H. D. (2005). Perspectives for the control of coccidiosis in poultry by chemotherapy and vaccination. Proceedings of the IX International Coccidiosis Conference, Foz do Iguassu, Brazil. pp. 99 - 103. September 19 – 23.
- Coltey, M. (1989). Analysis of the first two waves of thymus homing stem cells and their t cell progeny in chick-quail cimeras. *J. Exp. Med.* 170, 543-557.
- Conway, D. P., K. Sasai, S. M. Gaafar, and C. D. Smothers. (1993). Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. *Avian Dis.*, 37: 118-123.
- Cooper, M. D. (1991). T cell receptor gene deletion circle identify recent thymic emigrants in tehe peripheral T cell pool. *Adv. Immunol.* 50, 87 - 117.
- Cortes, (1999). Efecto de la coccidiosis subclínica en la absorción de xantofilas de marigold por el pollo de engorda. ANECA pp 81-84 (1999).
- Cortes, R., García, J. (2003). Evaluación del uso de Bio-Mos (oligosacárido manano) en programas anticoccidiales.
- Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Shellem, T. A., Doerr JA. (2003). Enhanced mucosal immunity against *Eimeria acervulina* in broilers fed a *Lactobacillus*-based probiotic. *Poultry Sci* 82: 62-66.

- Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Doerr, J. A. (2005). *In ovo* and dietary modulation of host intestinal immunity and its subsequent effects on coccidiosis. *Proceedings of The International Coccidiosis Conference*, Foz do Iguazú (Brasil).
- Dalloul, R. A. and Lillehoj, H. S. (2006). Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert Rev. Vaccines* 5 (1), 143-163.
- Dalloul, R. A. and Lillehoj, H. S. (2005). Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against acoccidiosis. *Avian. Dis.* 49; 1 - 8.
- Daniel, W. W. (1999). *Bioestadística, Base para el análisis de las ciencias de la salud.* 3ª ed. México (DF) Limusa (Ed).
- Davidson, N. J., Boyd, R. L. (1992). Immune system function and development in broilers. *Int. Immunol.* 4, 1175-1182.
- Doelling, V. W., Poston R. M., Martin, A., Charniga, L. M., Griffin, L. K., Link, D. B., Avakian, A. P. (2005). Non-interference of Inovocox™, a live coccidial oocyst vaccine, with Marek's disease vaccine or Bursaplex, a live bursal disease vaccine, after *in ovo* administration. *Proceedings of The International Coccidiosis Conference*, Foz do Iguazú (Brasil).
- Doran, D. and Vetterling, J. (1967). Comparative cultivation of poultry coccidia in mammalian. *Kidney Cell Cultures. J. Protozool*; 14: 657 - 671.
- Duszynsky, D. W., Upton, S. J. (2001). Enteric protozoans: cyclospora, eimeria, isospora and cryptosporidium. In: Samuel, W. M., Pybus, M. J. Kocan, A.A., Editors. *Parasitics Diseases of Wild Mammals.* 2da ed. Iowa State.
- Drugueri, L., Modern, D. (2003) Coccidiosis en bovinos. *Zoetecno-campo [revista Línea]* Sept 2002 [citado de 7 de julio 2003.] 24 (3) Disponible en: URL: <http://www.zoetecnocampo.com/documentos/eimeria/eimeria.htm>.
- Ellis T. M., Leung, C. Y., Chow, M. K., Bissett, L. A., Wong, W. and Guan, Y., *et al.* (2004). Vaccination of chickens against H5N1 avian influenza in the face of an outbreak interrupts virus transmission, *Avian Pathol* 33 (2004) (4), pp. 405–412.
- Erhard M.H., P. Schmidt, A., Hofmann, J. Bergmann, P. Mittermeier, P. Kaufmann, K-H. Wiesmüller, W., Bessler & U. Lösch. (1997). Lipopeptid Pam3Cys-Ser: an alternative adjuvant to Freund's adjuvant for immunisation of chicken to produce egg yolk antibodies. *ATLA* 25:173-181.
- Erhard, M. and Schade, R. (2001). Short introduction to hens humoral immune system En: Schade, Behn, Erhard, Hlinnak and Staak (Eds). *Chicken egg yoly antibodies production and application.* Springer-Verlag, Berlin. 255 pp.

- Estevez, C., King, D., Seal, B., and Yu, Q. (2007). Evaluation of Newcastle disease virus chimeras expressing the Hemagglutinin-Neuraminidase protein of velogenic strains in the context of a mesogenic recombinant virus backbone. *Virus Res* **129**(2), 182-190.
- Farr, M., Doran, D. (1962). Comparative excystation of four species of poultry coccidia. *J. Protozool* 9: 403 – 407.
- Frigg, M., Broz, J. And Weber, G. (1983). Compatibility studies of ionophore anticoccidials with various antibiotics and chemotherapeutics in broiler chicks. *Arch geflügelkunde* 47(5):213-220.
- Why IgY? Chicken polyclonal antibody, an appealing alternative. *Promega Notes* 46: 11.
- García, D. A., Nicholls, R. S., Arevalo, A., Torres, O. y Duque, S. (2005). Obtención, purificación y caracterización de Anticuerpos policlonales IgY. *Biomedica* 25-451-63.
- Gobel, T. W., Cehn, C. H. (1996). Avian natural killer cells. *Curr Top Microbiol Immunol*; 212:1107-17.
- Graat, E. (1966). Effects of initial litter contamination level with eimeria acervulina On population dynamics and production characteristics in broilers. *Vet Parasitol*; 165:223-232.
- Harish, V. (2008). Mantenimiento de la salud del tubo gastrintestinal en aves. *Industria avícola* 1 de mayo.p. 22-23. (Avitech. India).
- Hernández, V. X., Escamilla, R. y Petrone, V. M. (2006). Evaluación de una vacuna de *E. tenella*, *E. acervulina* y *E. maxima* en pollo de engorda Dpto. Producción Animal: Aves, FMVZ. UNAM.
- Ikemori, Y. (1992). Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with k99- pillated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 53:2005-2008.
- Janse, E. M., Jeurissen, S. H. (1991). Vertebrate immune system. *Immunobiology.* 182; 472 – 481.
- Jeffers, T. K., Challey, J. L., McGibbon, W. H. (1970). Review for prevention disease coccidiosis in aviculture. *Avian Dis.* 14, 203-210.
- Jeffers, T. K., Challey, J. R. and McGibbon, W. H. (1970). Response of several lines of fowl and their single-cross progeny to experimental infection with *Eimeria tenella*. *Avian Dis.* 14, 203-210.

- Johnston, P. A. (1997). In ovo methods for utilizing the modified live edwardsiella ictaluri vaccine against enteric septicemia in channel catfish. *Poult. Sci.* 76, 165-178.
- Joyner, I. (1982). Host and site specificity. in: Long, P. Editors. The biology of the coccidia. Baltimore, M. D: University Park Press; p. 35-62.
- Juárez, Z. A. (2003). Producción de pollo para carne en México. Estudio descriptivo y análisis de la cadena productiva. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.
- Kapczynski, D. R., and King, D. J. (2005). Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak. *Vaccine* 23 (26), 3424-33.
- Klemperer, F. (1893). Ueber natürliche Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisirungstherapie. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 31: 356-382.
- Konjufca V., Wanda, S. G.,Yenkins, M. and Curtiss, R. (2006). A Recombinant Attenuated Salmonella enterica Serovar Typhimurium Vaccine Encoding *Eimeria acervulina* Antigen Offers Protection against *E. acervulina*, Challenge Infection and Immunity, p. 6785-6796, Vol. 74 No. 12.
- Kogut, M. H. and Eirmann L. (1991). The effect of cyclosporin A on the development of *Eimeria* in non-specific hosts. *Int J Parasitol* 21: 979-983.
- Kuroki, M. (1994). Passive protection against bovine rotavirus in calves by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Arch. Virol.* 138: 143-148.
- Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Park, D. W., Jang, I. S., Morales, A., García, D., Lucio, E., Larios, R., Victoria, G., Marrufo, D., and Lillehoj, E.P. (2009). Induction of passive immunity in broiler chickens against *Eimeria acervulina* by hyperimmune egg yolk IgY. *Poultry Sci* 88:562-566.
- Leslie, G. L. and Clem, L. W. (1969). Pasive cutaneos anaphylaxis in the chicken. *J. Exp. Med.* 130, 1337-1352.

- Lillehoj, H. S. (1986). Immune response during coccidiosis in SC y FP chickens. I. *In vitro* assessment of T cell proliferation response to stage-specific parasite antigens. *Vet Immunol Immunopathol* 13: 321-330.
- Lillehoj, H. S. (1987). Effects of immunosuppression of avian coccidiosis: *cyclosporin* A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. *Infect Immun.* 55:1616–1621.
- Lillehoj, H. S., and Ruff. M. D. (1987). Comparison of disease susceptibility and subclass specific antibody response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella*, *E. acervulina* or *E. máxima*. *Avian Dis.* 31, 112-119.
- Lillehoj, H. S. (1987). Effects of immunosuppression on avian coccidiosis: *cyclosporin* A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. *Infect Immun* 55:1616-1621.
- Lillehoj, H.S. (1988). Antigenic Diversity in *Eimeria maxima* and the Influence of Host Genetics and Immunization Schedule on Cross-Protective Immunity. *Avian Dis.* 32, 437-444 (1988).
- Lillehoj, H. S. (1988). Influence of inoculation dose, inoculation schedule, chicken age, and host genetics on disease susceptibility and development of resistance to *Eimeria tenella* infection. *Avian Dis.* 32, 437-444.
- Lillehoj, H. S. (1989). *Eimeria tenella* Infection Induces Local Gamma Interferon Production and Intestinal Lymphocyte Subpopulation Changes *Vet. Immunol. Immunopathol.* 20, 135-148.
- Lillehoj, H. S. and Trout JM. (1996). Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites. *Clin. Microbiol. Rev* 9: 349-360.
- Lillehoj, H. S, and Choi, K. D (1998). Recombinant chicken interferon gamma-mediated inhibition of *Eimeria tenella* development *in vitro* and reduction of oocyst production and body weight loss following *Eimeria acervulina* challenge infection. *Avian Dis.* 42:307-314.
- Lillehoj, H. S. (1998). Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. *Int. J. Parasitol.* 28, 1071-1081.
- Lillehoj, H. S. and Lillehoj, E. P. (2000). Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. *Avian Dis.* 44:408-425.
- Lillehoj, H.S. (2003). *In vivo* effects of CpG oligodeoxynucleotide on eimeria infection in chickens. *World Poult.* 19 (Coccidiosis 4), 18 - 21.

- Lillehoj, H. S. *et al.*, (2004). Passive Protection against Two Eimeria Species in Chickens by Orally Administered Antibodies Specific for a Single Eimeria Protein. *Proc. AVMA*.
- Lillehoj, H. S. (2005). Immune response to coccidia. *Proceedings of The International Coccidiosis Conference*, Foz do Iguazú (Brasil).
- Lillehoj, H. S., Min, W. and Dalloul, R. A. (2004). Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to Eimeria. *Poult. Sci.* 83:611–623.
- Lillehoj, H. S., Ding, X., Dalloul, R. A., Sato, T., Yasuda, A. and Lillehoj, E.P. (2005). Embryo vaccination against Eimeria tenella and E. acervulina infections using recombinant proteins and cytokine adjuvants. *J. Parasitol.* 91:666-673.
- Lillehoj, H. S., Ding, X., Quiroz, M. A., Bevenssee, E., Lillehoj, E. P. (2005). Resistance to intestinal coccidiosis following DNA immunization with the cloned 3-1E Eimeria gene plus IL-2, IL-15 and IFN- gamma. *Avian Dis.* 49, 112-117.
- Lillehoj, H.S., Hong, Y., and Kim, C. (2008). Quantitative genetic and functional genomics approaches to investigating parasite disease resistance and protective immune mechanisms in avian coccidiosis. *Dev. Biol. (Basel)* 132: 67-75.
- Lillehoj A., *et al.* (1970). Extended schizogony of *Eimeria mivati* in betamethasone treated chickens. *Parasitology* 60: 147-155.
- Long, P. L. and Reid, W. M. (1982). A guide for the diagnosis of coccidiosis in chickens. Research report 404. Athens (Ge): College of agriculture Experimental State University of Georgia.
- López, P. R. (2003). Coccidiosis aviar problema de todos los días. notas científicas, revista línea, abril junio 2000. Citado de 23 de mayo 2003; Disponible en: URL: <http://www.ilender.com.pe/servicios/publicaciones/notas/coccidia.pdf>.
- Lösch, V., Schraner, I., Wanke, R. and Jurgens, L. (1986). The chicken egg, an antibody source. *J. Vet. Med. B* 33: 609-619.
- Lowenthal, J. W. (1994). Evaluation of oral, subcutaneous and nasal administration of salmonella enteritidis immune lymphokines on the potentiation of a protective heterophilic inflammatory response to salmonella enteritidis in day-old chickens. *Cell Biol.* 72, 115-122.
- Lucio E, Morales A, Ortega, R., Rodríguez A. y Absalón A. (2007). Características de los virus de enfermedad de Newcastle que circulan en México y sus repercusiones en protección y persistencia en las zonas afectadas. Memorias en CD-ROM del Simposio de Enfermedades Emergentes Avícolas. Noviembre

9, 2007. Querétaro, Qro., México. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México, AC.

Lucio, D. E. y Morales, G. J. A. (2007). Compositions for the prevention and treatment of infections caused by parasites in animals. Tomado de la red URL: <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?wo=2007037669>. Abril 5, 2007.

Marquardt, W. (1973). Host and site speciæcity in the coccidia. in: Hammond, D, Long, P. Editors. The coccidia. Baltimore, M. D: University Park Press; p. 23-43.

Marquart, R. (1998). Antibody-loaded eggs for piglets: prevention of mortality of baby pigs from diarrhea. Proc. 2nd International Symposium on Egg Nutrition and Newly Emerging Ovo-Technologies. Alberta, Canadá. Poultry Sci. 72 1807-1812.

Martínez, de Ch. N., Bohorquez, N. (1994.) Prevalencias y factores asociados a la coccidiosis en pollos de engorde. Rev. Científ. FCV-LUZ. IV (1):25-36.

Marrufo, D., and Lucio, E. (2009). Protección contra Coccidiosis: Rol de la Inmunidad Pasiva (Inmunidad Inmediata) Mediada por Anticuerpos Hiperinmunes IgY 9° congreso Avícola IASA Acapulco Gro.

Mast, J. (1998). Monocytes, macrophages and interdigitating cell by the monoclonal antibody. *Veterinary Immunol. Immunopathol.* 61, 343-357.

Mathis, G., (2001). New organic anticoccidial can safely use in feed. *World Poultry-Elsevier* Vol. 17, No 5, '01. pp 50-52.

Mathis, G. F. (2003). Examination of the restoration of sensitivity to Clinacox by using Coccivac-B. Proceedings of the 13th Congress of the Worlds Veterinary Poultry Association (p. 211). 19-23 July. Denver, CO, USA.

McDougald.,L. R., (1993). Chemotherapy of coccidiosis. Proceedings of the VIth International coccidiosis Conference; 1993 21-25; Ontario Canada; Department Pathology, University of Guelph 1993: 45-47.

McDougald. L. R. and Reid, W. M. (1997). Diseases of Poultry. 10a Ed. Edit. by B.W.Calnek, Edit. Board for the American Association of Avian Pathologists, Iowa State University Press Ames, U.S.A, pp 865-878.

Miller, P. J., King, D. J. and Suarez, D. L. (2006). Protection against Ca/02 (exotic NDV) challenge of chickens vaccinated with inactivated vaccines of Newcastle disease virus (NDV) from different genetic lineages. Proceedings of the Annual Meeting of the American Association of Avian Pathologists. July 15-19, Honolulu, Hawaii.

- Miller, P. J., King, D.J., Alfonso, C.L., Suarez, D.L. (2007). Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge. *Vaccine*, 25:7238–7246.
- Min, W. (2003). Malabsorption síndrome in broilers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 62, 392-399.
- Min, W., Dalloul, R. and Lillehoj, H.S. (2004). Application of biotechnological tools for coccidian vaccine development. *J Vet Sci* 5: 279-288.
- Morales, G. A., García, L. D., Rodríguez, R. A. y Lucio, D. E. (2005). Uso de la Inmoglobulinas aviar en el control de coccidiosis. Investigación Aplicada S. A. de C. V. Tehuacán Puebla, México.
- Morán, M., Leslie, E. and Joseph, N. (2006). S-T131 Response of broilers receiving a coccidial vaccination versus dietary salinomycin when reared on fresh and used litter: 8 week live performance, carcass characteristics. Auburn University, Auburn, Alabama. *Poultry Science*. p. 186.
- Moreno, D. R. e Ibarra, V. F. (2000). Frecuencia de *Eimeria spp* en algunas granjas de la zona avícola de Tehuacán Pue. *Vet. Mex.* 32(2), 103-108.
- Nakano, M., Oeasswara, S., Okiko, M. y Chiarelli, V. (1976). La halofuginona un producto para la prevención de la coccidiosis avícolas. Proceedings of the 4^{to} Congreso Latinoamericano de Avicultura, 1975 May 12-16; Caracas, Venezuela.
- National Research Council (1994). Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. Washington: National Academy Press.
- Negash, T. (2004). Vaccination of chickens against campilobacter. *Vet. Q.* 26, 76-87.
- Nguyen, S. (2003). Human infections associated with wild birds. *Proc. Amer. Ass. Avian Pathol*, Denver, CO, p.21.
- Oliver, P. y LeDouarin, N. J (1984). Avian thymic accessory cell. *J. Immunol.* 132, 1748-1755.
- Parvari, R. (1988). IgY clues to the origins of modern antibodies. *EMBO J.* 7, 739-744 (1988).
- Patterson, R., S. Younger, W. O. Weigle & F. J. Doxon. (1962). Antibody production and transfer to egg yolk in chickens. *J. Immunol.* 89: 272-278.

- Quintana, L. J. (2003). Avitecnia manejo de las aves domésticas más comunes pp. 11-36.
- Rahimi, S., Shiraz, Z. M., Selebi, T. Z., Torshizi, M. A. K., and Grimes, J. L. (2007). Prevention of Salmonella Infection in Poultry by Specific Egg-Derived Antibody. *International Journal of Poultry Science* 6 (4): 230-235.
- Rahimi, S., Salehifar, E., Ghorashi, S. A. Gimes, J. L. and Torshizi, M. K. (2007). The Effect of Egg-Derived Antibody on Prevention of Avian Influenza Subtype H N in Layer Chicken International. *Journal of Poultry Science* 6 (3): 207-210.
- Rejiv, B. M., Dik, J. K., Cees, M. V., Rien, J. M., and Nijman. (2002). Patología y terapéutica. *Infection and Immunity*, p. 7022-7032, Vol. 70, No. 12.
- Ricketts, A. P., Dirlam, J. P. and Shively, J. E. (1992a). Anticoccidial efficacy and chicken toleration of potent newpolyether ionophores. The Portomicin Relative CP-84, 657. *Poult Sci* 1992; 71:1631 - 1636.
- Ricketts, A. P. Olson, J. A. and Rice, J. R. (1992b). In vivo expression of in vitro anticoccidial activity. *Antimicrob Agents Chemother* 36(10): 2338 - 2341.
- Rosenstein, E. S. (2000). Prontuario de especialidades veterinarias. 20va Ed. México: Ediciones PLM S. A. de C. V.
- Rose, M. E. (1970). Zaito migration during *E. tenella* infection parasite adaptation to host defence. *Parasitology* 60, 291-299.
- Rose, M. E. (1984). The effect of immunity on the early events in the life-cycle of *eimeria tenella* in the cecal mucosa of the chicken. *Parasitology* 88, 199-210.
- Rose, M. E. (1996). Immunity to coccidia. In: *Poultry Immunology* (Davison TF, Morris TR, Payne LN ed.), *Poultry Science Symposium Series*, 24: 265-298.
- Rose, E. and Hesketh, P. (1987). *Eimeria tenella*: effects of immunity on sporozoites within the lumen of the small intestine. *Exp Parasitol* 63: 337-344.
- Ruff, M. D. (1993). Valor de la prueba de sensibilidad en Coccidiosis aviar. *Avic Prof*; 10(3):109 –116.
- Ruiz, H. (1988). Presente y futuro de la coccidiosis. En: IV curso de actualización en producción y patología aviar (Maracaibo), Vol. 2. 225 pp.
- Ruiz, H., Sabaté, E. S., and Angulo, I. (2001). Evaluación del efecto de la vacunación contra coccidiosis aviar sobre parámetros productivos en pollos de engorda. *Zootecnia Tropical*, 19 (3): 359-369.

Ruiz J. (2007). Sistema inmune de las aves, una breve revisión. La protección de las aves depende de un buen sistema inmunológico. Industria Avícola Diciembre. pag. 16.

SAS. (1999). Procedures guide for personal computers. CARY, N. C.: SAS Institute, Inc., U. S. A.

Schering-Plough Animal Health. (2003). Bogotá D. C. Colombia. Citado de 23 de mayo Disponible En: Url: [Http://Www.Ceba.Com.Co/Schering.Htm](http://www.Ceba.Com.Co/Schering.Htm).

Schmidt, et al. (1989). Chicken Egg Antibodies for Prophylaxis and Therapy of Infectious Intestinal Diseases. J.Vet.B. 36:619-628.

Schnitzler, B. E., Thebo, P., Tomley, F. M., Shirley, M. W. and Ugglá, A. (1997). Identification of *Eimeria* sp in poultry by in vitro amplification of the internal transcribed spacer. In: Shirley, M. W., Tomley, F.M., Freeman, B. M. , editors. Control of coccidiosis into the next millennium; Philadelphia: Saunders; p.64.

Schnitzler, E., and Shirley, W. M. (1999). Immunological aspects of infections with *E. maxima*: A Short Review. Avian Pathology: 28(6): 537 - 543.

Sharma, J. M., Burmester, B. R. (1982). Immunological Tolerante in chickens hatching fom eggs injected with cell-associated herpesvirus of turkey. Avian Dis. 26, 134-149.

Sharma, J. M. (2003). The Avian immune system in: Diseases of poultry, 11 ed. Saif et al., Eds Iowa State Press. Pp 5-16.

Shimizu, M., H. Nagashima, K. Sano, K. Hashimoto, M. Ozeki, K. Tsuda. (1992). Molecular stability of chicken and rabbit immunoglobulin G. Biosci. Biotech. Bioch. 56: 270-274.

Shirley, M. W., Bushell, A. C., Bushell, J. E., McDonald, V., Roberts, B. (1995). A live attenuated vaccine for the control of avian coccidiosis: trials in broiler breeders and replacement layer flocks in the united kingdom. Vet. Rec. 28:453-457.

Shirley, M. W. (2004). Reporter gene expression in cell culture stages and oocysts of *Eimeria mieschulzi* (*Coccidia apicoplexa*). Trends Parasitol. 20, 199-201.

Shirley, M. W, Chapman H.D. (2005). Eight decades of research on *Eimeria* in poultry. *Proceedings of The International Coccidiosis Conference*, Foz do Iguazú (Brasil).

Snedecor GW, Cochran WG. 1967. Statistical Methods. Ed. Ames.

- Sorensen, J. T., Edwards, S., Noordhuizen, J., Gunnarsson, S., (2006). Animal production systems in the industrialised world. Scientific and technical review OIE 25 (2), 493-503.
- Speer, C. A., Wong, R. B., Blixt, J. A., Schenkel, R. H. (1985). Capping of immune complexes by sporozoites of *Eimeria tenella*.
- Staak, C., Schade, R., Behn, I., Erhard, M., Hlinak, A. (2000). Isolation of IgY from Yolk. (Eds) Chicken Egg Yolk Antibodies, Production and Application. IgY-Technology. (Ed) Springer Lab Manuals, Berlin Heidelberg New York p. 65-107.
- Szczypel, B. y Pérez A. (1990). La coccidiosis aviar y su control en: Cervantes C, Editor. Sociedad Cubana de Parasitología (monografía). Ciudad de la Habana: Ediciones Veterinarias del Consejo Científico de Cuba.
- Tapia, B. A., Lucio, D. E. y Morales, G. A. (1998). Avances y resultados con el uso de inmunoglobulinas específicas para la prevención de GET, Rotavirus y enterocolibacilosis en el ganado porcino. Memorias del XXXIII Congreso AMVEC . pp 118-120.
- Terzola, H. R. Chacana, P. A., Gutiérrez, C.E., Schade, R. (2004). Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina: biología, propiedades y su aplicación en medicina humana y veterinaria. Rev. Med. Vet. (Bs. As.) 85 (5): 179-189.
- Tizard, I. (1982). An introduction to veterinary immunology. 2nd edition. W. B. Saunders. Philadelphia.
- Tizard, I. (1998). Vacunación y vacunas In: Inmunología Veterinaria. 5a Ed. Mc Graw-Hill. pp285-305.
- Tovar, H. M. (2003). Situación actual en la prevención de la coccidiosis aviar. Selecciones Avícolas, revista línea, citado de 6 junio 2003. Disponible en: URL: <http://www.nanta.es/esp/revista/22/coccidiosis.pdf>.
- Trout, J. M., Lillehoj, H. S. (1996). Respuesta inmune a coccidiosis aviar. Vet. Immunol. Immunopathol. 53, 163-172.
- UNA. (2007). Indicadores económicos de la avicultura en México. Unión Nacional de Avicultores.
- Valls, G. (2008). Uso de antibióticos en animales productores de alimentos: situación actual. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. Madrid. España.

Vermeulen, A. N. (2005). Vaccination against coccidial parasites. *Proceedings of The International Coccidiosis Conference*,

Foz do Iguazú (Brasil).

Vertommen, M. H. y Peek, H. W. (1994). ¿Cómo podemos quebrar un problema de resistencia? World Poultr suplemento especial sobre Coccidiosis. Países Bajos.

Vieira, J. G. H., Oliveira, M. A. D., Russo, E. M. K. and Pereira, A. B. (1984). Egg yolk as a source of antibodies for human parathyroid hormone (HPTH) radioimmunoassay. *J. Immunoassay* 5: 121-129.

Wakenell, P. S. and Sharma, J. M. (1986). Vacuna en embrión contra la enfermedad de newcastle. *J. Vet. Res.* 47, 933-938.

Waldenstedt, L. (2004). An estimation of the cost of coccidiosis to Swedish poultry production. *Proceedings of world's poultry congress*, 8-13 june, Istanbul, Turkey.

Warr, W., Mayor, K. E. and Higgins, D. A., (1995). IgY: clues to the origin of modern antibodies. *Immunol. Today* 16: 392-398.

Wilber, P. G. Duszynski, D. W., Upton, S. J., Eville, R. S. and Corliss J. O. (1998). A revisión of the taxomny and nomenclature of the eimerians (Apicomplexa: eimeriidae) from rodents in the tribe marmotini (Sciuidae). *Systematic Parasitol*; 39:113 -135.

Williams, R. B. (1999). A comparmentalised model for the estimation of cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Int. J. Parasitol.* 29:1209–1229.

William, R. B. (2000). Progress toward anticoccidial vaccines for broiler chickens. <http://www-afac.slu.se/Williams>.

Williams, R. B. (2002). Anticoccidial vaccines for broiler chickens: Pathways to success. *Avian Pathol.* 31, 317-353.

Williams, R. B. Fifty years of anticoccidial vaccines for poultry (1952-2002). *Avian Dis.* 46, 775-802 (2002).

Wood-MacKenzie, (2005). Medicinal Feed Additives. Edinburgh, UK.

Worledge, *et al.* (2000). Oral administration of avian tumor necrosis factor antibodies effectively treats experimental colitis in rats katherine I. Worledge, bs, ronald godiska, phd, terrence a. Barrett, md, and john a. Kink, phd *digestive diseases and sciences*, vol. 45, no. 12 (december 2000), pp. 2298–2305.

- Yellowe, T. Y. (1996). Rhoptry organelles of apicomplexa: their role in host cell invasion and intracellular survival. *Parasitol Today*; 12: 308 – 315.
- Yun, Ch, H. Lillehoj, H. S. and Choi, K. D. (2000). *Eimeria tenella* Infection Induces Local Gamma Interferon Production and Intestinal Lymphocyte Subpopulation Changes. *Infection and immunity. Avian Dis.* 68 (3) 1282-1288
- Yun, C. H., Lillehoj, H. S. and Lillehoj E. P. (2000). Intestinal immune response to coccidiosis. *Develop & Comp Immunol* 24: 303-324.
- Yun, Ch. H. (2006) Recientes avances en biología e inmunología de *Eimeria* spp y en el diagnóstico y control de la infección. *Avian Dis.* 44, 305-312.
- Yuño, M.M. y Gorgona L.M. (2008) Coccidiosis aviar: respuesta inmune y mecanismos de control en la industria avícola. *Rev. Vet.* 19: 1, 61-66.
- Zigterman, G. J. W. J. *et al.*, (1993). Detection of mucosal immune responses in chickens after immunization or infection. *Vet Immunol Immunopathol*; 36:281–291.

