

**CAMBIOS EN LA PATOGENICIDAD DE *EIMERIA ACERVULINA* EN
PRESENCIA DE AFLATOXINA B₁ EN POLLOS DE ENGORDE**
**Patogenicity Changes of *Eimeria acervulina* in Presence
of Aflatoxin B₁ in Broiler Chickens**

Rosmar V. Marcano M.^{*,1} José M. Carabaño E.^{*}, Elías R. Ascanio E.^{**}
y Luis A. Silva^{***}

^{*}Cátedra de Medicina Poblacional, ^{**}Cátedra de Farmacología, ^{***}Cátedra de
Histología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de
Venezuela. Apartado 4563. Maracay 2101A, Estado Aragua, Venezuela

Recibido: 10/05/06 - Aprobado: 18/09/06

RESUMEN

Con objeto de estudiar los efectos de la Aflatoxina B₁ (AFB₁), *Eimeria acervulina* (*E. acervulina*) y la combinación de ambos factores, sobre los pollos de engorde, se realizó un estudio bajo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3², con dos factores: niveles de AFB₁ de no detectables, 20 y 200 µg/kg y tres niveles de infestación con *E. acervulina* de 0, 250.000 y 500.000 oocystos. El experimento contó con un total de 216 aves y una duración de 5 semanas. El alimento fue contaminado con un estándar de AFB₁ y se verificó los niveles deseados con la técnica de inmunoafinidad Aflatest[®]. Cada réplica recibió alimentación *ad libitum* y a la cuarta semana fueron inoculados con oocystos de *E. acervulina*. A la quinta semana, se realizó la necropsia y toma de muestras para histología y parasitología. Los frotis por aposición para *E. acervulina* resultaron positivos para los tratamientos donde hubo infección. Los resultados histológicos para *E. acervulina* evidencian los efectos de los dos niveles de inóculo sobre el duodeno. Cuando están presentes las dos variables se presentan dos situaciones. Para el nivel de 20 µg/kg de AFB₁, hubo un aumento de la patogenicidad por *E. acervulina* para ambos inóculos, en cambio para el nivel de 200 µg/kg de AFB₁, por el efecto de erosión epitelial de ésta sobre la vellosidad, hubo una disminución de la patogenicidad para los dos

inóculos de *E. acervulina*. Sobre la ganancia de peso no se evidenció interacciones estadísticamente significativa entre las variables; hubo influencia tanto de la AFB₁ con sus dos niveles, como con los dos inóculos de *E. acervulina*, produciendo una disminución estadísticamente significativa en comparación con el tratamiento control. En conclusión, existe evidencia de que niveles de 20 µg/kg de AFB₁ pareciesen hacer al duodeno más susceptible para la infección con *E. acervulina*, mientras que nivel de 200 µg/kg de AFB₁ parece disminuir la patogenicidad de *E. acervulina*. No se evidenció interacción entre la AFB₁ y la *E. acervulina* sobre la ganancia de peso de las aves.

(Palabras clave: Pollos de engorde, aflatoxinas, patogenicidad, *Eimeria acervulina*)

ABSTRACT

With the purpose of studying the effects of the Aflatoxin B₁ (AFB₁), *Eimeria acervulina*, and its combination, was performed a study on broilers following a design of treatments factorial type 3² totally randomized; with two factors: AFB₁ levels with non detectables levels, 20 and 200 µg/kg and *E. acervulina* with oocysts levels of 0, 250.000 and 500.000. The study included a total of 216 birds, during 5 weeks. Feed was contaminated with an AFB₁ standard, and desired levels were verified with Aflatest[®] immunoaffinity technique. Each replica was feeded *ad libitum*. On the fourth week of age chickens were inoculated with *E. acervulina*. At the fifth week necropsy was performed and samples were collected for histopathological and parasitological studies. The apposition smears of *E. acervulina* resulted positive for the treatments where there was coccidia infection. The histologic studies for *E. acervulina* evidenced the effects of the two levels of treatment on the duodenum. When the two variables are present two situations are presented. At the level of 20 µg/kg of AFB₁ there was an increase in the pathogenicity for *E. acervulina* for both treatments. On the other hand at the level of 200 µg/kg of AFB₁, due to epithelial erosion effect on the intestinal villi, there was a decrease of the pathogenicity for the two treatments of *E. acervulina*. As for the effects on the weight gain it did not evidence statistically significant interaction between the two variables; but

there was influence of the two levels of AFB₁ as with the two treatments of *E. acervulina*, producing a statistically significant decrease in comparison with control treatment. In conclusion there is evidence that a level of 20 µg/kg of AFB₁ appears to make more susceptible the duodenum to *E. acervulina* infection. As long as the level of 200 µg/kg of AFB₁, it seems to decrease the pathogenicity of *E. acervulina*. There is no interaction between AFB₁ and *E. acervulina* on the weight gain of chickens.

(Key words: Broiler chickens, aflatoxins, pathogenicity, *Eimeria acervulina*)

INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son un problema de interés mundial, por el hecho de presentarse en localizaciones geográficas diferentes. Los problemas relacionados con micotoxinas pueden producirse en zonas tropicales a la altura del nivel del mar, lo mismo que en climas más frescos con una temperatura ambiental algo más baja (Wyatt, 1984).

Las Aflatoxinas son metabolitos fúngicos altamente tóxicos y carcinógenos originados por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* y *Penicillium puberulum* (Hoerr, 1991). Son reconocidas como unas potentes toxinas hepáticas, dentro de las cuales la más potente es la B₁. Sus efectos en animales varían según la dosis, tiempo de exposición, edad, especies y el estado nutricional. Dosis sub-letales producen una toxicidad crónica y pueden resultar en cáncer. Exposición a altas dosis puede conducir a una toxicidad aguda que afecta la sanidad y productividad animal. Los principales sistemas orgánicos afectados son el hepático, el inmunológico y el hematopoyético (Hoerr, 1991; Jordan y Pattison, 1996)

Según Guzmán (1991) y Carabaño *et al.* (1997), la AFB₁ produce erosión del epitelio intestinal, el cual es el principal lugar donde se alojan las coccidias como la *E. acervulina*. Aunado a esto, la coccidiosis es una patología de alta incidencia en el trópico.

La coccidiosis es una enfermedad que puede afectar cualquier tipo de explotación avícola (reproductoras, ponedoras o pollos de engorde), debido al ciclo de vida directo y corto del parásito y a su alto potencial reproductivo (Malcolm y McDougald, 1991). Los

parásitos protozoarios del Género *Eimeria* se multiplican en el aparato intestinal y ocasionan daño tisular con interrupción de la alimentación y de los procesos digestivos o de absorción de nutrientes, deshidratación, pérdida de sangre, mortalidad y aumento en la susceptibilidad a otros patógenos infecciosos. La gravedad de la infección puede variar con la especie de coccidia, la cantidad de oocytos ingeridos y el estado inmunológico del ave (Ruíz, 1990).

La *E. acervulina* produce una coccidiosis de tipo crónica, la cual tiene un gran impacto económico por su efecto en la ganancia de peso y la conversión alimenticia (Ruíz, 1984).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad de *E. acervulina* en presencia de diferentes niveles de AFB₁ evaluando los cambios morfológicos y la respuesta productiva de los pollos de engorde sujetos a estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental, descriptivo y correlacional; bajo un diseño de tratamientos completamente aleatorizado tipo factorial 3²; donde los factores fueron la AFB₁ y los niveles de oocytos de *E. acervulina*: no detectables, 20 y 200 mg/Kg para la AFB₁ y 0, 250.000 y 500.000, respectivamente. Estos niveles fueron seleccionados con base a estudios realizados anteriormente por diferentes autores (Ruíz, 1990; Carabaño *et al.*, 1997; Carabaño, 1999, Carabaño *et al.*, 2001). Para el nivel de 20 mg/kg de AFB₁ por ser el mínimo permitido por la FAO, en alimento de aves, se tomó como referencia para evaluar si existían o no efectos utilizando este nivel. El experimento constó de nueve tratamientos con cuatro réplicas por tratamiento y 6 aves por cada réplica distribuidos de la siguiente manera: T1: niveles no detectables de AFB₁ con 0 oocytos de *E. acervulina*; T2: niveles no detectables de AFB₁ con 250.000 oocytos de *E. acervulina*; T3: niveles no detectables de AFB₁ con 500.000 oocytos de *E. acervulina*; T4: 20 mg/kg de AFB₁ con 0 oocytos de *E. acervulina*; T5: 20 mg/kg de AFB₁ con 250.000 oocytos de *E. acervulina*; T6: 20 mg/kg de AFB₁ con 500.000 oocytos de *E. acervulina*; T7: 200 mg/kg de AFB₁ con 0 oocytos de *E. acervulina*; T8: 200 mg/kg de AFB₁ con 250.000 oocytos de *E. acervulina*; T9: 200 mg/kg de AFB₁ con 500.000 oocytos de *E. acervulina*.

Lugar y población

El ensayo se llevó a cabo en el galpón experimental de la sección de aves en la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela (FCV-UCV). Dicho galpón fue lavado y desinfectado previo a dejar las aves en jaulas metálicas de 60 x 60 x 45 cm. Las jaulas modificadas para hacer su ambiente lo más parecido a las condiciones normales de los galpones, se les colocó cama de concha de arroz y una fuente de calor para su recepción. Se utilizaron 216 pollitos de engorde, machos de la línea comercial Arbor Acres, de un día de nacidos, no vacunados, clasificados como de «primera», recibidos con agua y alimento suministrados *ad libitum* durante todo el ensayo.

Preparación del alimento

Formulación de la dieta basal: El alimento utilizado en el ensayo, se elaboró en la Planta de Alimento del INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias), considerando los requerimientos nutricionales de las aves según el manual de la Línea Arbor Acres. Se realizó el análisis de las materias primas para Aflatoxina B₁ y Ocratoxina A por los métodos de anticuerpos monoclonales (Aflatest®) (Benjamín y Radlo, 1987) y prueba inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) (Enríquez y Ramírez, 1994), siendo negativo para ambas micotoxinas.

Contaminación del alimento: Luego de la preparación del alimento, se extrajeron 4 kilos, los cuales fueron trasladados al Laboratorio de Farmacología de la FCV – UCV, donde se realizó la contaminación con la AFB₁. Para ello se utilizó un estándar de AFB₁ (Laboratorios SIGMA C.A., USA, 1999). Los 4 kilos de alimento se dividieron en: 2 kilos para la contaminación con 20 mg/kg y los otros 2 kilos para la contaminación con 200 mg/kg; agregándoles la cantidad de estándar necesario. Posteriormente se colocaron en un agitador por un lapso de dos horas. Cada uno de los dos kilos de alimento contaminado se mezclaron con 10 kilos sin contaminar durante 10 minutos en una mezcladora de 40 kilos y luego se mezcló al resto de los 200 kg de concentrado restantes en una mezcladora horizontal durante 15 minutos. Una vez obtenido el alimento concentrado final, se realizó el análisis por la Técnica de inmunoafinidad, Aflatest® (Benjamín y Radlo, 1987) para la detección de las cantidades esperadas.

Registros: Se llevó diariamente la cantidad de alimento suministrado en kilos y la mortalidad. Se realizaron pesajes semanales de las aves, en una balanza mecánica (Ohaus). El pesaje

se efectuó tomando la totalidad de los pollos de cada réplica (6 aves).

Contaminación con E. acervulina: A la cuarta semana se practicó la infección de las aves con oocystos de *E. acervulina*. Dicho inóculo fue obtenido de una cepa de campo, donde se encontraban oocystos de *E. acervulina* y *E. tenella*. Esta cepa de campo se les suministró a 6 pollos para lograr la reactivación y la producción de mayor cantidad de oocystos. Luego se preparó el inóculo (Ruíz, 1990) calculándose de esta manera la cantidad del mismo a suministrar a cada ave para lograr las dosis infectivas de 250.000 y 500.000 oocystos, respectivamente.

Fase experimental

La fase experimental fue de 5 semanas. A la quinta semana de edad, las aves fueron sometidas a una evaluación clínica, posteriormente pesada, y luego sacrificadas por sangramiento de la vena yugular. Luego se les realizó el examen físico externo y se procedió a realizar la necropsia para la toma de las muestras de los órganos de interés. Se hizo evaluación macroscópica de los órganos internos y se tomaron muestras de hígado y duodeno; las cuales fueron colocadas en formol al 10% para evaluación histopatológica. Se tomaron muestras de duodeno y se realizaron frotis por aposición para determinar la presencia o no de oocystos.

El comportamiento productivo de las aves se evaluó siguiendo los parámetros de consumo de alimento, ganancia de peso, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad.

Estudio histopatológico

Las muestras de hígado y duodeno recolectadas durante la necropsia fueron procesadas para estudios histopatológicos efectuándose cortes en secciones de 5 a 7 micras teñidas con hematoxilina-eosina (Stevens y Lowe, 1998) y evaluadas al microscopio de luz. Finalmente, se tomaron microfotografías de las lesiones con el fotomicroscopio con cámara incorporada Carl Zeiss con objetivos de 2.5, 10 y 16x y una película kodak color de asa 100.

Frotis por aposición

Se realizó la observación macroscópica del intestino y se procedió a seccionar una pequeña parte de su pared (aproximadamente de 1 cm), la cual se frotó y comprimió suavemente sobre la superficie de una lámina, realizando un extendido delgado de la mucosa intestinal para adherir el epitelio, lámina propia y sub-mucosa. Se agregaron 2

gotas de solución fisiológica y se colocó el cubreobjeto, para la obtención de un frotis fresco (Ruíz, 1990). Finalmente, se evaluó al microscopio para evidenciar la presencia o no de oocystos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos luego de las 5 semanas de ensayo, fueron organizados y tabulados, y luego analizados (SAS, 1989) de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado, efectuándose un análisis de varianza. Los casos donde se presentaron diferencias significativas fueron analizados por pruebas de comparaciones múltiples de Duncan. Las variables medidas fueron peso promedio del ave durante las 5 semanas e incremento de peso en ese período.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios anatomopatológicos

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten evidenciar los efectos individuales de la AFB₁, *E. acervulina* y de la combinación de ambos factores. Es de hacer notar que en este ensayo no hubo un cuadro clínico de intoxicación aguda, por lo que las aves no manifestaron ninguna signología clínica. No se presentó efecto sobre la mortalidad de ninguno de los tratamientos en estudio. A continuación se describen los hallazgos en duodeno estudiado bajo los diferentes tratamientos.

Duodeno

Las aves del grupo control, mostraron macroscópicamente un aspecto normal, sin lesiones aparentes. Microscópicamente, se observaron vellosidades con revestimiento epitelial conservado, de aspecto normal (Figura 1).

La mayoría de los estudios macroscópicos de los efectos de *Eimeria* sobre el duodeno se reportan por la escala de Johnson y Reid (1970), siendo Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991), los que principalmente hacen referencia a los estudios microscópicos.

Con el inóculo de 250.000 oocystos se observó, macroscópicamente según la escala de Johnson y Reid (1970), lesiones +1 que indican presencia de estrías blancas en la mucosa orientadas en sentido transversal. Estos resultados, se corresponden con los reportados por Ruíz (1990) y por Malcolm y McDougald (1991). Microscópicamente se observó un infiltrado linfocitario de leve a moderado en el corion de la vellosidad, con presencia de formas sexuales (macrogametocitos y microgametocitos) de *E.*

acervulina de leve a moderada. Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991), describen la presencia de un infiltrado linfocitario y de formas parasitarias dentro de las vellosidades, lo cual corrobora los resultados encontrados en este tratamiento. Sin embargo, la distribución de las formas parasitarias no fue uniforme, observándose moderada carga de ésta en unos campos y leve carga en otros.

Macroscópicamente para el tratamiento con 500.000 oocystos se observó lesiones entre +1 y +2 en la escala de Johnson y Reid (1970), lo cual señala una mayor presencia de estrías blancas en la mucosa, orientadas en sentido transversal con tendencia a la formación de placas. Microscópicamente se notó erosión epitelial moderada por efecto de las coccidias (macrogametocitos y microgametocitos), con una infección parasitaria masiva, congestión, edema y atrofia de la vellosidad (Figura 2). Estas lesiones fueron más severas que las observadas con la inoculación del tratamiento anterior y concuerdan con las reportadas por Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991).

En el tratamiento de 20 mg/kg de AFB₁ y 0 oocystos de *E. acervulina*, macroscópicamente se observó hemorragia y edema leve de la mucosa con un valor 0 en la escala de lesiones, es decir, sin lesiones de coccidias. Microscópicamente se observaron vellosidades conservadas con la lámina epitelial sin lesiones aparentes. En el estudio macroscópico con 20 mg/kg + 250.000 oocystos se evidenciaron lesiones +2, con presencia de estrías blancas en la mucosa, orientadas en sentido transversal con tendencia a la formación de placas. En el estudio microscópico las vellosidades revelaron una presencia moderada de gametos de coccidias intraepitelialmente, congestión de vasos sanguíneos, hemorragia, edema del corión y atrofia (Figura 3). Estos resultados se corresponden con los de Johnson y Reid (1970), Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991). Aún cuando la dosis del inóculo fue de 250.000 oocystos, las lesiones fueron más severas en presencia de la AFB₁, que cuando la *E. acervulina* se encontró en forma individual.

Para la evaluación macroscópica del tratamiento de 20 mg/kg de AFB₁ y 500.000 oocystos de *E. acervulina*, se observaron lesiones +4 en la escala de Johnson y Reid (1970), con presencia de estrías blancas fusionadas en la mucosa, congestión, petequias, engrosamiento de la pared intestinal e intestino con un contenido de un exudado cremoso. Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991) reportaron hallazgos compatibles con los de este estudio. Es de hacer notar, que estas lesiones fueron más severas a las observadas en el tratamiento anterior, lo cual pudo deberse a la

mayor carga de oocystos, ya que el nivel de AFB₁ fue el mismo. Estos resultados no concuerdan con los señalados por Witlock y Wyatt (1981), quienes reportaron que las lesiones macroscópicas por coccidia se mantenían iguales con o sin la presencia de AFB₁. Por el contrario, Wyatt *et al.* (1975), reportaron que la severidad de las lesiones macroscópicas disminuían de +4 a +3 cuando se les administraba AFB₁ conjuntamente con la coccidia. Cabe señalar que estos autores utilizaron concentraciones de 2500 mg/kg de AFB₁ y de 10.000 y 100.000 oocystos tanto de *E. acervulina* como *E. tenella*.

A nivel microscópico, se observó la presencia masiva y severa de los gametos y oocystos de coccidias en la lámina epitelial, infiltrado mononuclear y edema moderado en el corion, con erosión epitelial moderada y atrofia severa de la vellosidad (Figura 4). Estas lesiones han sido reportadas por Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991). Sin embargo, cabe destacar que estas lesiones fueron más severas que las observadas cuando se administraba *E. acervulina* en forma individual. No está claro el mecanismo por el cual se produce esta acción, pero se conoce que bajos niveles de AFB₁ producen efectos sobre órganos del sistema inmune como bursa, bazo y timo; deprimiendo la respuesta inmune celular y la humoral; disminuyendo así la resistencia contra ciertas enfermedades como la Coccidiosis, Marek, Gumboro entre otras (Wyatt y Hamilton, 1975; Chang y Hamilton, 1982; Hamilton, 1992; Reddy, 1992).

Los reportes de efectos de las aflatoxinas sobre el intestino no son frecuentes. Sin embargo, en el tratamiento de 200 mg/kg, macroscopicamente se observó presencia de un puntillado hemorrágico, congestión y edema leve. A nivel microscópico se observó la vellosidad con marcada erosión epitelial, edema del corion y hemorragia (Figura 5); resultados similares a los reportados por Carabaño *et al.* (1997); Carabaño, (1999); Escalona *et al.* (2001); Machado, (2002); quienes utilizaron concentraciones de AFB₁ entre 100 y 350 mg/kg. Contrario a lo descrito en este ensayo, Mahalingam *et al.* (1989), no observaron lesiones a nivel de duodeno con el uso de 3000 mg/kg de AFB₁.

Mientras que para los tratamientos de 200 mg/kg de AFB₁ y 250.000 oocystos y 500.000 oocystos de *E. acervulina* los hallazgos macroscópicos fueron leve puntillado hemorrágico y congestión, a nivel microscópico se muestran las vellosidades en la zona apical con erosión epitelial, congestión y hemorragia de los vasos y severo infiltrado inflamatorio mononuclear, revelando una marcada enteritis (Figura 6). En la zona basal se observó un infiltrado inflamatorio

interglandular y la dilatación de los fondos glandulares. La presencia de enteritis ha sido descrita por Hoerr (1991) y Leal y De Rosa (1993). En cuanto al estudio microscópico Carabaño *et al.* (1997); Carabaño (1999); Escalona *et al.* (2001) y Machado (2002); reportan lesiones que se corresponden con las de este ensayo, con el uso de las mismas concentraciones de AFB₁.

Ruíz (1990) y McDougald (1998), reportan la afinidad que tiene *E. acervulina* por el duodeno y que su penetración en el epitelio es superficial. Por lo cual, se puede asumir que el efecto de erosión del epitelio de las vellosidades intestinales, posiblemente causado por la AFB₁, pareciera no permitir que la células invasoras de *E. acervulina* se instauren, debido a la ausencia del sitio de colonización y multiplicación, produciéndose de esta manera una disminución de la carga parasitaria, situación contraria a lo que ocurre cuando el nivel de la AFB₁ es de 20 mg/kg.

Frotis por aposición

Los resultados reportados se basan en el estudio de 36 muestras de duodeno, obteniéndose 12 muestras negativas y 24 muestras positivas; considerándose como positivas aquellas donde se observaban formas parasitarias como esquizontes, merozoítos, oocystos, y como negativas aquellas donde no se observaba ninguna forma parasitaria. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

La presencia de mayor cantidad de oocystos se notó en los tratamientos 3 y 6, siendo éstos los que tenían el mayor inóculo. Llama la atención que los tratamientos 8 y 9 tuvieron menor cantidad de oocystos en comparación con los otros tratamiento, a excepción de los que no tenían ningún inóculo de *E. acervulina*.

El frotis por aposición es reportado por Ruíz (1990) y Malcolm y McDougald (1991), como una técnica diagnóstica importante. Los resultados obtenidos se corresponden con la dosis de inóculo utilizada para cada uno de los tratamientos. Para las dosis de 500.000 oocystos se observó mayor presencia de formas parasitarias, a excepción del tratamiento 9, lo cual se pudiera atribuir a la posible erosión que produce la AFB₁ sobre el epitelio de la vellosidad, que es el sitio donde se instauran las coccidias, éstos, al no encontrar su sitio de fijación, no se instauran y por ende hay menor presencia de formas parasitarias.

Para las dosis de 250.000 se observó el mismo comportamiento que en la dosis de 500.000 oocystos, pero con menor cantidad de formas parasitarias.

Efectos sobre la respuesta productiva

La ganancia de peso por pollo (g/peso vivo) en los diferentes tratamientos durante las 5 semanas del ensayo se presentan en la Tabla 2. Para el tratamiento de AFB₁ no hubo diferencias significativas entre los tratamientos durante las 4 primeras semanas. Para la semana 5, hubo diferencias significativas entre los tratamientos de AFB₁ en comparación con el tratamiento control, pero no hubo diferencias significativas entre los dos tratamientos de AFB₁.

Para el caso de *E. acervulina*, se puede señalar que en una semana de infección hay efectos estadísticamente significativos sobre el incremento de peso de ambos tratamientos inoculados, en comparación con el tratamiento control; sin embargo, entre ambos tratamientos inoculados no hubo diferencias estadísticamente significativas, lo cual evidencia el efecto negativo sobre el incremento de peso de las aves producto de la infección con *E. acervulina*.

Para las variables consumo de alimento y conversión alimenticia no se evidenció diferencia significativa entre los tratamientos suministrados y el tratamiento control.

Estadísticamente no se evidencia interacción entre la AFB₁ y *E. acervulina* sobre la respuesta productiva en el período estudiado (Tabla 3), lo cual permite asumir que los efectos de estos factores son independientes el uno del otro.

En los ensayos realizados por Smith y Hamilton (1970); Reddy *et al.* (1982); Huff *et al.* (1986); Mahalingam *et al.* (1989); Enríquez y Ramírez (1994); Jindal *et al.* (1994); Jordan y Pattison (1996), las disminuciones en el peso corporal e incremento de peso se observaron a niveles iguales o mayores a 2.500 mg/kg de AFB₁ suministradas en un período de tiempo que oscilaba entre 3 y 4 semanas. Estos resultados se corresponden con los encontrados en este ensayo, aún cuando estas disminuciones no son tan marcadas. En cuanto a los resultados reportados por Carabaño *et al.* (1997); Carabaño, 1999 y Carabaño *et al.* (2001), en los cuales utilizaron 200 mg/kg, se observó un comportamiento similar, aún cuando ellos reportan tener diferencias significativas entre las concentraciones utilizadas (100, 200, 300 y 350 mg/kg) lo cual no ocurrió durante este ensayo, a pesar de que las dosis fueron bastante diferentes. Esto posiblemente se atribuye a que los efectos de las aflatoxinas no dependen de un solo factor, sino de la interrelación de varios de ellos, entre los cuales se mencionan: dosis ingerida, tiempo de exposición, edad, especies y el estado nutricional (Hoerr, 1991).

Para concluir, se puede evidenciar que niveles de 20 mg/kg de AFB₁ pareciesen hacer al duodeno más susceptible a la infección con *E. acervulina*, debido a la mayor presencia de formas parasitarias, mientras que el posible efecto erosivo sobre el epitelio duodenal del nivel de 200 mg/kg de AFB₁ parece disminuir la patogenicidad de *E. acervulina*. Tanto la AFB₁ como la *E. acervulina* afectan negativamente la ganancia de peso de las aves en forma individual, pero no existe interacción entre ellos.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela y todo el personal que colaboró en la elaboración de esta investigación. A Fravi C.A., Laboratorios Reveex de Venezuela, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y FUNDACITE Aragua.

REFERENCIAS

- Benjamín, T.L.; Radlo, J. 1987. Nuevos adelantos en la detección de micotoxinas. *Indus. Avíc.*, 11: 18-26.
- Carabaño, J.; Ascanio, E.; Silva, L.; Theis, W.; Reyes, Y. 1997. Comportamiento productivo de los pollos de engorde ante la presencia de AFB₁ en la ración. *Memorias del XV Congreso Latinoamericano de Avicultura*. México - D.F. pp. 45-46.
- Carabaño, J.M. 1999. Efecto de tres niveles (100, 200 y 300 mg/Kg) de Aflatoxina B₁ sobre los pollos de engorde durante la etapa de iniciación (0 a 4 semanas). *Trabajo de Ascenso al Escalafón Universitario en la categoría de Profesor Titular*. 183 p.
- Carabaño, J.M.; Silva, L.; Ascanio, E.; Tamburini, D.; Reyes, Y.; Marcano, R. 2001. Efecto de la Aflatoxina B₁ sobre la respuesta inmune de los pollos de engorde en la etapa de iniciación (0 a 28 días). *Memorias del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura*. Guatemala.
- Chang, C.F.; Hamilton, P.B. 1982. Increased severity and new symptoms of infectious bursal disease during aflatoxicosis in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 61:1061-1068.
- Enriquez, O., J.; Ramírez, H. 1994. Micotoxicosis: Innovaciones en diagnóstico. *Avic. Profes.*, 11:105-106.
- Escalona, A.; Silva, L.; Carabaño, J.M.; Ascanio, E. 2001. Efectos de la interacción Aflatoxina B₁ - Fumonisin B₁ en cerdos en etapa de engorde de una granja comercial del Edo. Aragua. *Memorias del V Congreso de Ciencias Veterinarias*. Maracay - Vzla, pp.14-18.

- Guzmán, V. 1991. Manejo de insumos energéticos en plantas de alimentos balanceados. Memorias de «Seminario de Actualización en Nutrición y Patología asociada a la nutrición de Aves». SOVVEA. Maracay - Edo. Aragua. pp.27-46.
- Hamilton, P. 1992. Micotoxinas en inmunidad en avicultura. *Avic. Profes.*, 10:56-58.
- Hoerr, F.G. 1991. Mycotoxicosis, in: Calnek, B.W. *Enfermedades de las Aves*. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, D.F. pp. 1094 -1131.
- Huff, W. E.; Kubena, L.F.; Harvey, R.B.; Corrier, D.E.; Mollenhauer, H.H. 1986. Progression of Aflatoxicosis in Broiler Chickens. *Poultry Sci.*, 65:1891-1899.
- Jindal, N.; Mahipal, S.K.; Mahajan, N.K. 1994. Toxicity of aflatoxin B₁ in broiler chicks and its reduction by activated charcoal. *Res. Vet. Sci.*, 56:37-40.
- Jordan, F.T.W.; Pattison, M. 1996. Mycotoxicosis, in: *Disease of Poultry*. 4^o Edition. W.B. Saunders Company. L.T.D. London. pp. 254-260.
- Johnson, J.; Reid, W.M. 1970. The anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floorpen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.*, 28:30-36.
- Laboratorios SIGMA. 1999. Biochemical and Reagents for Life Science Research. *Sigma-Aldrich*. F.D.-U.S.A. p. 62.
- Leal, S.; Rosa, M. de. 1993. Lesiones asociadas a micotoxinas en aves. Memorias de «Seminario de Actualización en Nutrición y Patología asociada a la nutrición de Aves». SOVVEA.. Maracay-Edo. Aragua. pp: 89-97.
- Machado, I. 2002. Efectos Patológicos en vías digestivas de pollos de engorde inducidos por la ingestión de diferentes niveles de Aflatoxina B₁. *Tesis de Maestría*, Postgrado en Medicina Veterinaria, Mención Patología Veterinaria. FCV – UCV. 55p.
- Malcolm, R.W.; McDougald, L.R. 1991. Protozoarios, in: Calnek, B.W. *Enfermedades de las aves*. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, D.F. pp: 964 - 986.
- Mahalingam, R.J.; Balachandran, C.; Punniamurthy, N.; Govindan, S. 1989. Pathology of feeding aflatoxin detoxified feed in broiler chickens. *Indian Vet. J.*, 66:1013-1015.
- McDougald, L.R. 1998. Intestinal protozoa important to poultry. *Poultry Sci.*, 77:1156-1158.
- Reddy, C.V. 1992. Aflatoxins in feed: an enemy to poultry producers in the tropics. *Misset-World Poul.*, 8:19-21.
- Reddy, A.R.; Reddy, V.R.; Rao, P.V.; Yadagiri, B. 1982. Effect of experimentally induced aflatoxicosis on the performance of commercial broiler chicks. *Indian J. Anim. Sci.*, 52:405-410.
- Ruff, M.D. 1998. Why can't we control Coccidiosis. *World Poul.*, 14:30-31.
- Ruíz, H. 1984. Factores a considerar para establecer un Programa de Control de Coccidiosis_Aviar. *F.C.V.- U.C.V.* pp: 1-11.
- Ruíz, H. 1990. Coccidiosis Aviar. *C.D.C.H.-U.C.V.* Caracas-Dtto Federal, Venezuela. 162p.
- SAS, INSTITUTE. 1989. SAS/STAT guide for personal computers, *version 6 ed.* SAS Institute, Cary, NC.
- Smith, J.W.; Hamilton, P.B. 1970. Aflatoxicosis in the Broiler Chicken. *Poultry Sci.*, 49:207-215.

- Stevens, H.; Lowe, P. 1998. *Histología Humana*. 2º Edición. Editorial Harcourt-Brace. España. pp.1-8.
- Witlock, D.R.; Wyatt, R.D. 1981. Effect of dietary aflatoxin on hemostasis of young turkeys poults. *Poultry Sci.*, 60:528-531.
- Wyatt, R. 1984. Diagnóstico Diferencial de micotoxicosis en aves. *Avic. Profes.*, 2:121-124.
- Wyatt, R.D., P.B. Hamilton. 1975. Interaction between aflatoxicosis and a natural infection of chickens with *Salmonella*. *Appl. Microbiol.*, 30:870-872.
- Wyatt, R.D.; Ruff, M.D.; Page, R.K. 1975. Interaction of aflatoxin with *Eimeria tenella* infection and monensin in young broiler chickens. *Avian Dis.*, 19:730-740.

Tablas

Tabla 1. Resultados sobre la presencia de oocystos mediante frotis por aposición

Tratamientos	Aflatoxina B ₁ (µg/kg)	Coccidia (Nº oocystos)	Nº Aves	Resultados
1	No detectables	0	4	-
2	No detectables	250.000	4	+
3	No detectables	500.000	4	++
4	20	0	4	-
5	20	250.000	4	+
6	20	500.000	4	++
7	200	0	4	-
8	200	250.000	4	+/-
9	200	500.000	4	+

(-): no se evidenció la presencia de oocystos de *E. acervulina*

(+/-): leve presencia de oocystos de *E. acervulina*

(+): moderada presencia de oocystos de *E. acervulina*

(++): severa presencia de oocystos de *E. acervulina*

Tabla 2. Ganancia de peso semanal e incremento total de peso (g)

Tratamientos		Peso inicial	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Incremento total
Aflatoxina	Coccidias							
0	0	45,6 _a	160,2 ^a	346,3 ^a	682,0 ^a	1117,2 _a	1470,4 _a	1424,7 ^a
0	1	45,9 _a	157,2 ^a	352,1 ^a	645,5 ^a	1047,0 _a	1257,9 _a	1211,9 ^a
0	2	46,8 _a	161,7 ^a	331,2 ^a	617,8 ^a	1021,0 _a	1278,3 _a	1231,5 ^a
1	0	47,3 ^a	156,1 ^a	330,7 ^a	626,9 ^b	1031,8 _b	1300,5 _b	1253,1 ^b
1	1	45,5 ^a	152,9 ^a	336,4 ^a	633,7 ^b	1063,2 _b	1174,4 _b	1128,9 ^b
1	2	47,0 ^a	163,3 ^a	331,2 ^a	627,7 ^b	1003,8 _b	1051,4 _b	1004,3 ^b
2	0	46,5 ^a	148,5 ^b	337,7 ^a	626,6 ^b	970,9 ^b	1257,4 ^b	1210,8 ^b
2	1	45,2 ^a	145,7 ^b	328,3 ^a	622,7 ^b	1065,5 ^b	1188,5 ^b	1143,2 ^b
2	2	45,7 ^a	149,7 ^b	331,7 ^a	621,5 ^b	1069,9 ^b	1211,2 ^b	1165,5 ^b

Medias en la misma columna con diferente letra difieren significativamente ($P < 0,05$).

Tabla 3. Peso promedio (g) por tratamiento durante la quinta semana y su acumulado bajo los tratamientos de la interacción Aflatoxina B₁ y *E. acervulina*

Tratamientos		Peso Semana 5	Peso Acumulado
AFB	Coccidia		
1			
0	0	1470,43	1424,79
0	1	1257,90	1211,90
0	2	1278,36	1231,55
1	0	1300,56	1253,19
1	1	1174,49	1128,95
1	2	1051,42	1004,33
2	0	1257,40	1210,82
2	1	1188,51	1143,22
2	2	1211,24	1165,53
Probabilidad		0,718 ns	0,508 ns

(P<0,05)

ns= no significativo

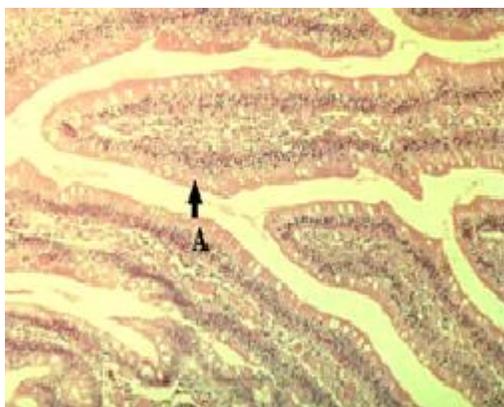


Figura 1. Microfotografía de mucosa duodenal de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de niveles no detectables de AFB₁ y 0 oocystos de *E. acervulina*, mostrando vellosidades con revestimiento epitelial conservado de aspecto normal (A). Coloración H y E. 125 X

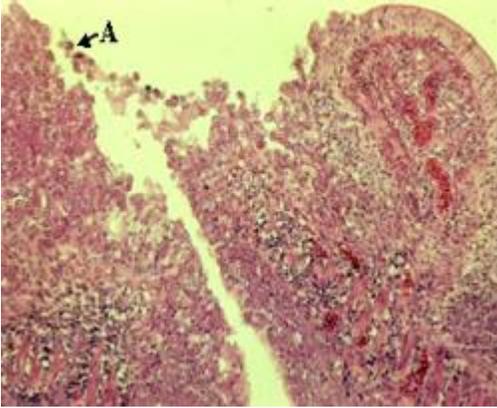


Figura 2. Microfotografía de mucosa duodenal de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de niveles no detectables de AFB₁ y 500.000 oocystos de *E. acervulina*. mostrando erosión epitelial por efecto de la coccidias (A). Nótese la infección parasitaria masiva, congestión, edema de la vellosidad. Coloración H y E. 125 X.

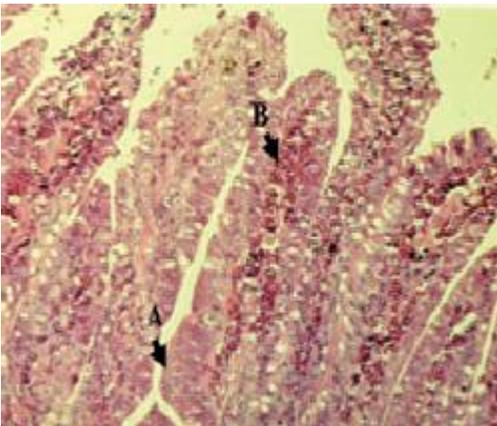


Figura 3. Microfotografía de mucosa duodenal de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de 20 mg/kg de AFB₁ y 250.000 oocystos de *E. acervulina*. Se observan vellosidades con presencia moderada de gametos de coccidias intraepiteliales (A), congestión de vasos sanguíneos, hemorragia (B) y edema del corion. Coloración H y E. 125 X.

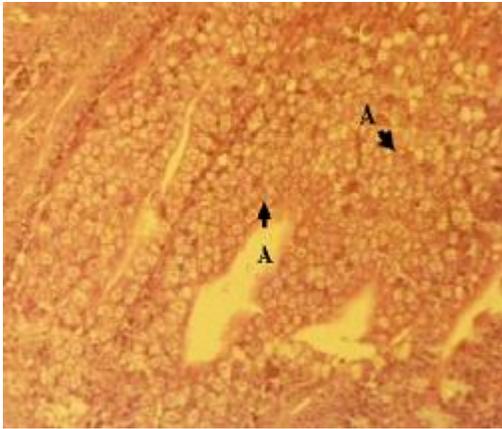


Figura 4. Microfotografía de mucosa duodenal de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de 20 mg/kg de AFB₁ y 500.000 oocistos de *E. acervulina*. Se observa la infección masiva de gametos de coccidias en la vellosidad (A), con ruptura de la misma y salida de los gametos. Coloración de H y E. 200 X.

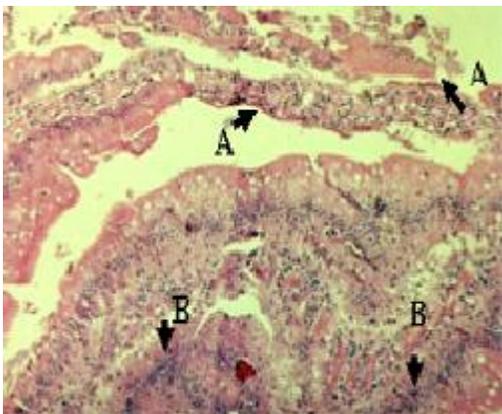


Figura 5. Microfotografía de mucosa duodenal (zona apical) de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de 200 mg/kg de AFB₁ y 0 oocistos de *Eimeria acervulina*. Se muestran vellosidades con marcada enteritis, erosión epitelial (A) e infiltrado inflamatorio mononuclear (B). Coloración H y E. 125 X.

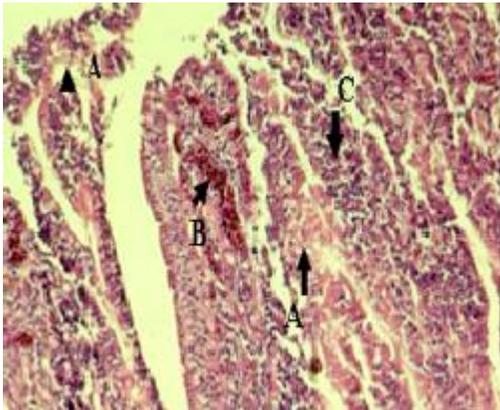


Figura 6. Microfotografía de mucosa duodenal (zona apical) de pollo de engorde (37 días de edad) con tratamiento de 200 mg/kg de AFB₁ y 250.000 oocystos de *E. acervulina*. Se muestran vellosidades con marcada enteritis, erosión epitelial (A), hemorragia de vasos (B) y un infiltrado inflamatorio mononuclear (C). Coloración H y E. 125 X.