

ESTUDIO DE COCCIDIA EN POLLOS DE ENGORDE DEL MUNICIPIO MARACAIBO. II. Estudio histopatológico de las infecciones naturales y experimentales.

Study of Coccidia in broiler chicken of Maracaibo County: II. Histopathological study of Natural and Experimental Infections.

Nelly I. Martínez de Chirinos *
Lucila Arcay de Peraza **
Angel R. Chirinos Rodríguez *

* Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad del Zulia,
Apdo. 526
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

** Facultad de Ciencias. Instituto de Zoología Tropical,
Universidad Central de Venezuela
Caracas, Venezuela.

RESUMEN

En el presente trabajo se reportan las especies de Coccidia que infectan los pollos de engorde del Municipio Maracaibo, Estado Zulia; *Eimeria maxima*, *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella*, *Eimeria necatrix*, y *Eimeria brunetti*, esta última especie fue identificada por primera vez en Venezuela. Se llevo a cabo el estudio histopatológico de las lesiones macroscópicas y microscópicas producidas por infecciones naturales y experimentales. Se inocularon pollos sanos con cada una de las especies identificadas. Las lesiones de los pollos inoculados con: *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. brunetti* fueron séveras, con mortalidades del 8.33%, 16.66% y 16.66% respectivamente.

Palabras claves: Coccidiosis, pollos de engorde, infección natural, experimental.

ABSTRACT

The Coccidiosis caused damage to aviar industry must be taken into consideration in our country. In the present work were reported the species of Coccidia that infest the broiler chicken of Maracaibo County of the Zulia State: *Eimeria maxima*, *Eimeria acervulina*, *Eimeria tenella*, *Eimeria necatrix*,

and *Eimeria brunetti*; this last specie has been identified for the first time in Venezuela. A histopathologic study was carried out of the macroscopic and microscopic injuries caused by natural and experimental infection and were inoculated healthy chicken with each one of the identified species. The injuries of the inoculated chicken with *E. acervulina*, *E. tenella* and *E. brunetti* were severe; each inoculated group of chicken had mortalities of 8.33%, 16.66% and 16.66% respectively.

Key words: Coccidiosis, broiler, infection, natural experimental.

INTRODUCCION

La Coccidiosis representa uno de los mayores riesgos en la producción de pollos de engorde. Los síntomas de la enfermedad varían con la especie de Coccidia, así como su gravedad, sus características y los niveles de las lesiones en el tubo digestivo.

Las especies de Eimeria que parasitan los pollos domésticos pueden de modo general dividirse en cuatro grupos topográficos de acuerdo con la localización y desarrollo de los estadíos intracelulares: *E. acervulina* y *E. maxima* completan sus ciclos en el intestino delgado, *E. brunetti*, es una especie intestinal que puede extenderse al ciego, *E. necatrix* desarrolla la segunda generación de esquizontes en el intestino delgado

pero la gametogonia es restringida al ciego, el desarrollo intracelular de *E. tenella* está confinado al ciego, pero puede extenderse hacia el intestino delgado y recto en infecciones graves. [6]

En Venezuela son escasos los trabajos relacionados con el comportamiento de las especies de *Eimeria*, tanto en infecciones naturales como experimentales, así como su distribución en diferentes regiones del país. Mayaudon y Ayala (15) reportaron dos nuevas especies de Coccidios en el país *Eimeria tenella* y *Eimeria necatrix*. Vergani y Toro [30] identificaron las especies *E. maxima* y *E. necatrix* en Maracay, Estado Aragua. Ruiz [27] realizó la infección experimental de pollos con *E. tenella* en Maracay. Posteriormente, Martínez y Bohorquez [14] determinaron la prevalencia de la Coccidiosis, así como los factores involucrados en la enfermedad en pollos de engorde del Municipio Maracaibo, Estado Zulia. Dichos autores han reportado la existencia de 5 especies de Coccidia infectando dichas aves: *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti*, y *E. necatrix*. En el presente trabajo se realizaron inoculaciones experimentales en pollos sanos con cada una de las especies mencionadas que infectaban los pollos de engorde del Municipio Maracaibo, Estado Zulia. Se reprodujo la enfermedad y se llevó a cabo el estudio histopatológico de las lesiones por infección natural y experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

AVES DE EXPERIMENTACIÓN.

Se utilizaron pollitos recién nacidos de la raza Sussex arañada criados desde su nacimiento. Se examinaron diariamente las heces para descartar posibles infecciones accidentales, para ello fueron acondicionados en cajas de metal con piso de malla de alambre para facilitar la obtención de las heces; las jaulas fueron cubiertas completamente con tela transparente y lavadas diariamente con solución de amoníaco como lo señala Joyner [8] y fueron aislados en un cuarto aparte, hasta el día de la inoculación experimental a los 12 días de nacidos. Fueron alimentados con una dieta balanceada, como la

que sugiere Joyner y Davies [9], libre de coccidiostáticos hasta finalizar el estudio experimental.

PREPARACIÓN DE CULTIVOS E INOCULACIÓN DE LAS AVES.

Se trabajó con cepas puras para las 5 especies de *Eimeria*, procedentes de infecciones únicas. TABLA I

a) El material infectante fue tomado a partir de muestras fecales frescas recolectadas directamente en las granjas. De esta forma se aislaron especies de Coccidias típicas del lugar [16]. Los ooquistes fueron separados por un proceso de flotación usando el método de Joyner [9] y suspendidos en solución de dicromato de potasio al 2% para esporular a 28°C. temperatura del laboratorio.

b) Los ooquistes de *Eimeria tenella* fueron tomados directamente del ciego emulsionando, dicho material en bicromato de potasio al 2% [8]. La emulsión fue pasada a través de gasa para reducir el depósito de grasa y moco.

Exámenes de heces, para la estimación del número de oocystos se usó el método de Joyner [9] y la lámina de Mc Master; la presencia de ooquistes fue detectada por el método de concentración, utilizando solución saturada de cloruro de sodio.

Exámenes post mortem. Los intestinos fueron removidos, examinando color y tono, revisión de la superficie de la serosa, presencia de manchas blancas o rojas, etc, fueron abiertos longitudinalmente. El contenido intestinal y la mucosa fueron examinados para observar las lesiones y el grado de severidad de las mismas. Se realizaron frotis para examen microscópico.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los animales fueron separados en 5 grupos de 12 cada uno, correspondiente a las 5 especies identificadas, con excepción de *Eimeria necatrix* se inocularon 10 pollos. Los detalles son mostrados en la TABLA II. A cada pollo se le administró la dosis de ooquistes correspondientes por vía oral utilizando una sonda esofágica. Se introdujo 0,5 cc de la suspensión de 15000 ooquistes esporulados con *Eimeria acervulina* en cada pollo. Dosis de 10000 ooquistes de *Eimeria maxima*,

TABLA I

INOCULACIONES EXPERIMENTALES CON ESPECIES DE EIMERIA QUE PARASITAN LOS POLLOS DE ENGORDE DEL MUNICIPIO MARACAIBO

Especies	Dosis de ooquistes	Pollos inoculados	
		Edad(días)	No. de Pollos
<i>Eimeira acervulina</i>	15.000	12	12
<i>Eimeira maxima</i>	10.000	12	12
<i>Eimeira tenella</i>	7.000	12	12
<i>Eimeira brunetti</i>	10.000	12	12
<i>Eimeira necatrix</i>	5.000	12	10

TABLA II.

RESULTADOS DE LAS INOCULACIONES EXPERIMENTALES CON ESPECIES DE EIMERIA QUE INFECTAN LOS POLLOS DE ENGORDE DEL MUNICIPIO MARACAIBO

Especies	Pollos de engorde		Período Prepatente (días)	Mortalidad	%
	No inoculados	Infectados			
<i>Eimeria acervulina</i>	12	12	5	1	8.33
<i>Eimeria maxima</i>	12	12	6	0	0.00
<i>Eimeria tenella</i>	12	12	7	2	16.66
<i>Eimeria brunetti</i>	12	12	6	2	16.66
<i>Eimeria necatrix</i>	10	10	7	0	0.00

7000 de *Eimeria tenella*, 10000 ooquistes de *Eimeria brunetti* y 5000 ooquistes de *Eimeria necatrix* en cada pollo, TABLA I.

Los pollos inoculados fueron sacrificados a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la inoculación de 1 a 2 pollos en cada caso por especie con el fin de determinar el proceso de evolución del parásito desde los primeros estadios, localización de las lesiones y patogenicidad de la especie. El tracto intestinal fue fijado en formol y colocado con Hematoxilina - eosina.

RESULTADOS

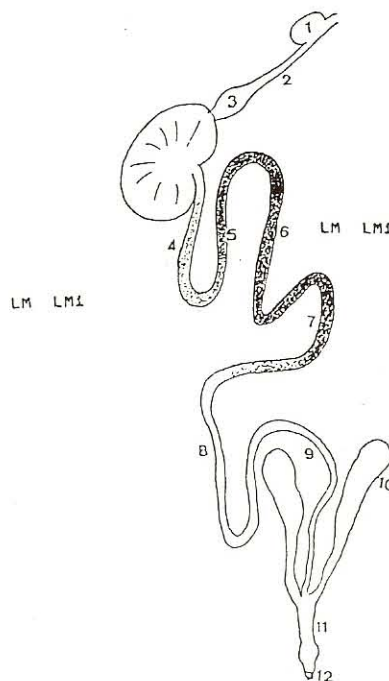
Eimeria maxima Tyzzer [29]

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS LESIONES INFECCIÓN NATURAL

Ochenta y nueve necropsias (22.03%) mostraron lesiones intestinales localizadas en el duodeno principalmente, extendiéndose hacia el yeyuno y en menor grado en la parte superior del íleon Fig 1. Las lesiones se caracterizaron por presentar abundante exudado de color anaranjado en el cual había sangre. Figs. 2 y 3. Al examinar la pared del intestino delgado fue bastante evidente el engrosamiento de ésta. A través de la serosa no se apreciaba el daño causado por las lesiones hasta abrir el intestino. En toda la superficie de la mucosa enferma se observaron áreas hemorrágicas.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL

El período prepatente en los pollos inoculados con *Eimeria maxima* fue de 6 días. Los animales sacrificados a las 24 horas después de la inoculación, no mostraron lesiones macroscópicas aparentes. A las 72 horas se observó en la región superior del intestino delgado pequeñas áreas congestivas. El pollito sacrificado a los 2 días del período patente, presentaba la mucosa del duodeno francamente congestiva. A los 8 días del período patente el examen postmortem puso en evidencia el engrosamiento de la pared de la porción anterior del intestino delgado, exudado anaranjado y a manera de pequeños hiliolos hemorrágicos cubrían la mucosa lesionada, Fig 3, que comprendían el duodeno y yeyuno.



LM = Lesión macroscópica
 Lmi = Lesión microscópica
 1-12 = Niveles del tracto digestivo examinados macroscópicamente y microscópicamente.

FIGURA 1. Diagrama del tracto digestivo de pollo infectado experimentalmente con *Eimeria maxima*, mostrando la localización del parásito durante su evolución.

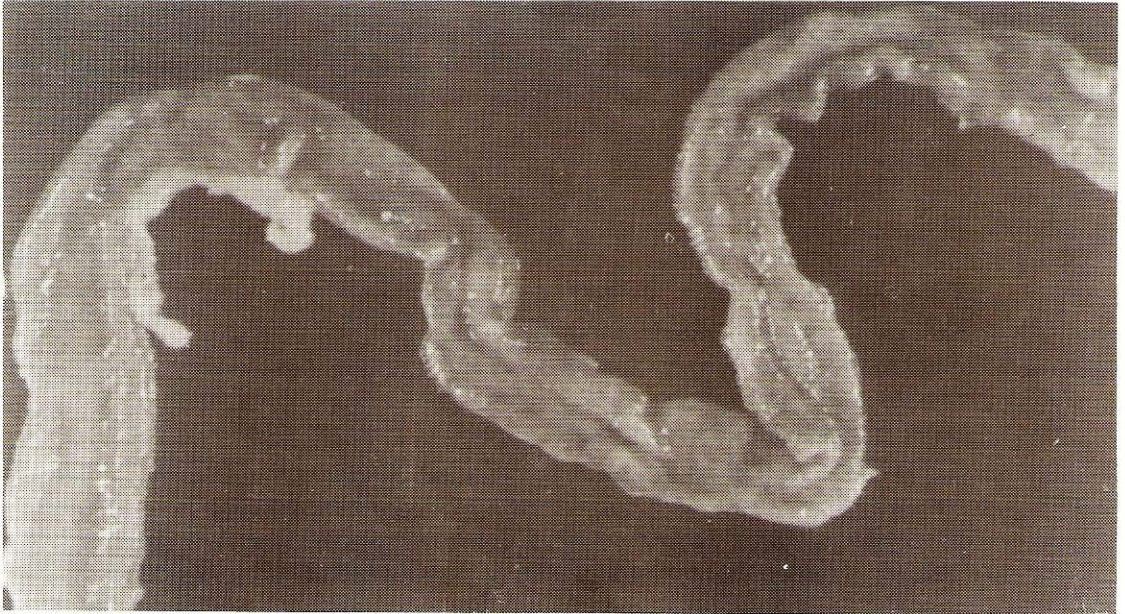


FIGURA 2. ASPECTO MACROSCÓPICO DE LAS LESIONES POR INFECCIÓN NATURAL; SE OBSERVA UN EXUDADO SEROSO DE COLOR ANARANJADO Y PUNTOS DE SANGRE COAGULADA DISTRIBUIDOS SOBRE LA SUPERFICIE DE LA MUCOSA ENFERMA.

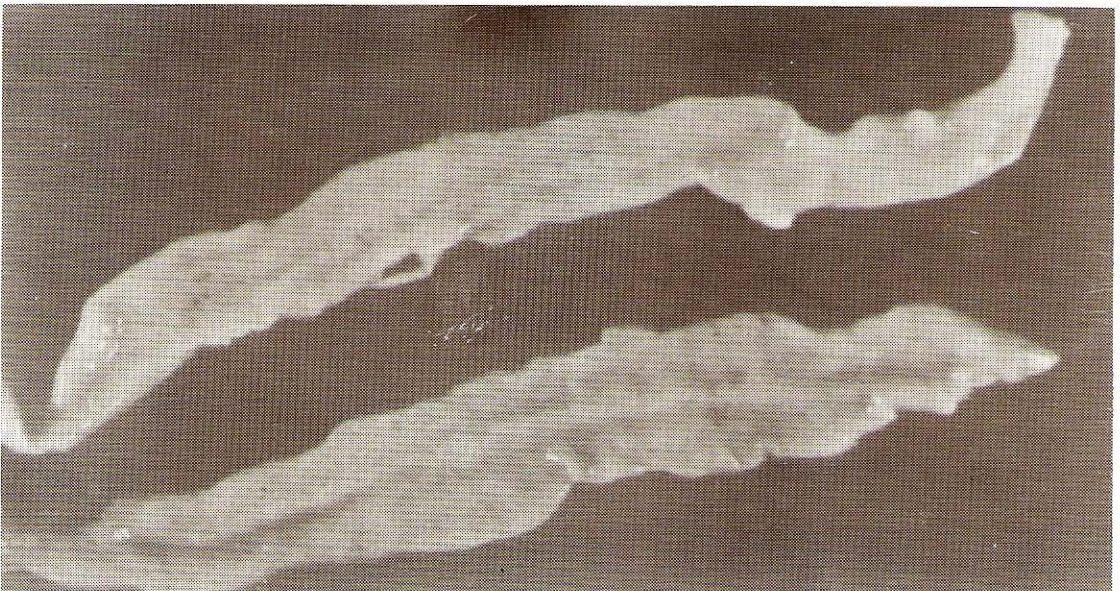


FIGURA 3. ASPECTO MACROSCÓPICO DE LA MUCOSA DEL INTESTINO DELGADO, DEBIDO A LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL; HAY EXUDADO SEROSO ANARANJADO Y PUNTOS HEMORRÁGICOS EN TODA LA SUPERFICIE INTESTINAL.

No se observó mortalidad entre los pollos infectados experimentalmente, pero si hubo pérdida de peso y retardo en el crecimiento evidentes.

Las lesiones producidas experimentalmente no revistieron la gravedad demostrada en las infecciones naturales.

CICLO ENDÓGENO

Esquizogonia.- El estudio microscópico del intestino del pollo a las 72 horas después de la inoculación Fig. 4, reveló la presencia de esquizontes de primera generación, midiendo 9,6 x 7,6, conteniendo pequeño número de merozoitos 2-10 Fig.4a. Los esquizontes de segunda generación midieron 13.15 x 15.18, estas formas asexuales fueron localizadas en la porción superior de las vellosidades intestinales del duodeno y yeyuno. No se localizaron esquizontes en la porción inferior del ileon. La posición de estas fases evolutivas fue anterior con respecto al núcleo.

Gametogonia.- Las formas sexuales de *E. maxima* fueron localizadas fácilmente. En secciones del intestino correspondiente al segundo día del período patente de la infección se observaron macrogametocitos inmaduros de pequeño tamaño, 5.5 x 12.6, Fig 4b; otros de mayor tamaño alcanzaron un tamaño promedio de 23.7 x 17.7 μ .

El microgametocito maduro (34 x 25,3) fue más grande que el macrogametocito, con una pared delgada y conteniendo material de tipo granular, Fig. 4c. Los gametocitos se localizaron en las células de las vellosidades y en la porción glandular de la vellosidad, nunca en la submucosa. También se observaron cigotos con un tamaño promedio de 20.2 x 25.8. Fig. 4d.

DIAGNÓSTICO

Posición sistemática: *Eimeria maxima*. Tyzzer [29], Coccidia, Eimeriidae, Eimeriinae.

Descripción: ooquistes tetraesporoquísticos dizoicos, de forma ovoide, Fig. 5, tamaño 32.8 x 22.3. Sin micropilo. Los esporocistos midiendo 8.4 micras de diámetro. Cuerpo de Stieda con un tamaño de 0.8 x 2.5.

Tiempo de esporulación: 48 horas

Esquizogonia: en las vellosidades de la mucosa del duodeno y yeyuno.

Habitat: células epiteliales de la mucosa del duodeno y yeyuno.

Eimeria acervulina Tyzzer [29]

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS LESIONES INFECCIÓN NATURAL

Ciento treinta y tres necropsias (32.92%) evidenciaron lesiones localizadas en el duodeno y yeyuno, o sea los segmentos 4,5,6 y 7, Fig. 6, caracterizadas por la presencia de un exudado catarral y de un rayado transversal de la mucosa

intestinal de manchas blanquecinas opacas, visibles a través de la serosa. Fig. 7.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL

El período prepatente de la infección fué de 5 días. Los animales sacrificados a las 24 horas no presentaron lesiones macroscópicas aparentes. En la necropsia a las 72 horas después de la inoculación se observó la mucosa del duodeno congestionada lo cual pudo apreciarse a través de la serosa. El pollito necropsiado a los 2 días del período patente presentaba placas blanquecinas fibrosas en forma de franjas transversales, lesiones similares a las que se dan en las infecciones naturales, ubicadas en la mucosa del duodeno y porción superior del yeyuno, niveles 4,5 y 6 del diagrama de Edgard y Seibold [4]. Fig 6.

De los 12 pollos inoculados con una dosis de 15000 ooquistes, TABLA II, murió uno al quinto día del período patente de la infección, o sea que la mortalidad fue del 8.3%, TABLA II.

En esta oportunidad los animales inoculados experimentalmente, mostraron evidente pérdida de peso y el consiguiente retardo en el crecimiento, así mismo se verificó extrema palidez de las mucosas, pero no se determinó el hematocrito ni hubo control de peso de las aves. Se observó enteritis y la infección resultante fué moderada.

CICLO ENDÓGENO

Esquizogonia.- A las 72 horas después de la inoculación ya se localizaron esquizontes de primera generación ubicados en las células epiteliales superficiales de las vellosidades del duodeno, Fig. 8, el tamaño promedio de estas formas evolutivas fué de 7.6 x 9.6. Se observaron escasos esquizontes maduros conteniendo más de 10 merozoitos, el tamaño alcanzado por los esquizontes fue de 11.5 x 15.3. Figs. 8a, 8b. (esquizontes rotos, con merozoitos libres).

Gametogonia.- Los gametocitos se detectaron en la parte anterior del intestino delgado. El tamaño de los macrogametocitos inmaduros fue de 9.62 x 13.81. Fig. 8c.

Los microgametocitos aparecieron al lado de los macrogametocitos, alcanzando el siguiente tamaño: 9.2 x 12.2. Fig 8d.

Los gametocitos tanto masculinos como femeninos se desarrollaron en las células epiteliales de las vellosidades intestinales del duodeno.

El cigoto, alcanzó un tamaño promedio de 11.7 x 13.9. Fig 8e.

DIAGNÓSTICO

Posición sistemática: *Eimeria acervulina* Tyzzer, [29], Coccidia, Eimeriidae, Eimeriinae.

Descripción: Ooquistes tetraesporoquísticos dizoicos, de forma ovoide, Fig. 9. Midiendo 13.3 x 18.8. Algunos ooquistes

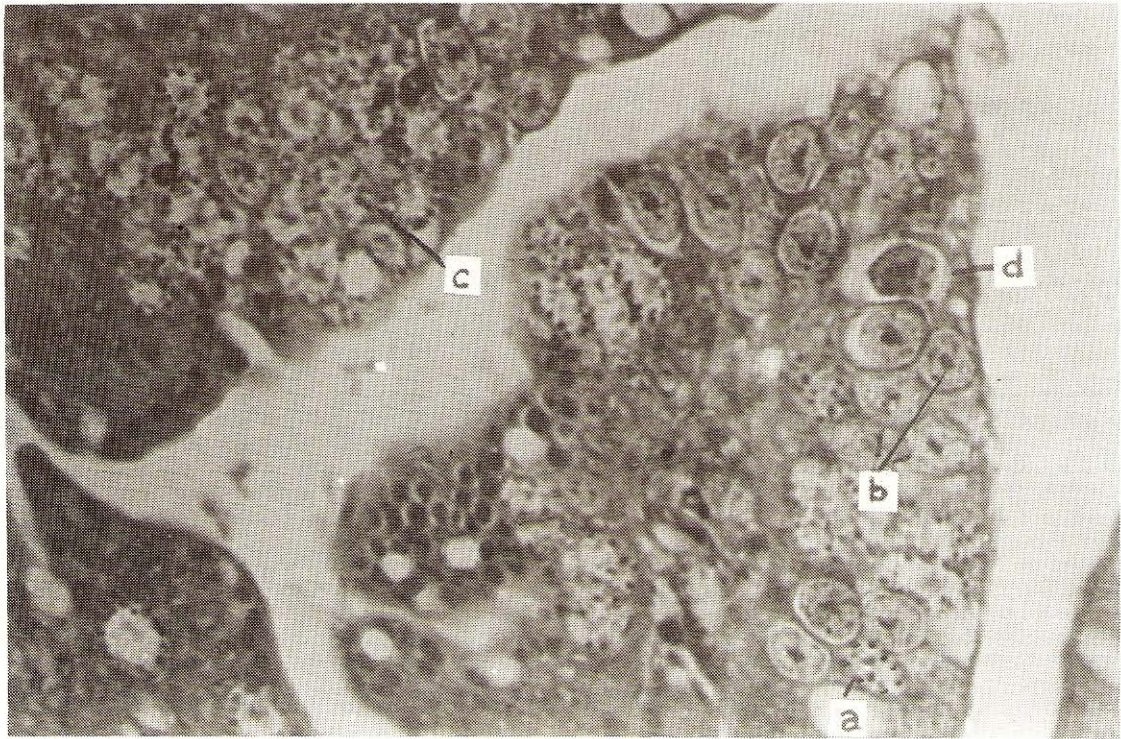


FIGURA 4. CORTE DE INTESTINO EN EL QUE SE OBSERVAN: A. ESQUIZONTES MADUROS, B. MACROGAMETOCITOS INMADUROS. C. MICROGAMETOCITOS MADUROS. D. ZIGOTO. UBICADOS EN LAS VELLOSIDADES DEL INTESTINO MEDIO DEL POLLO. x 625.

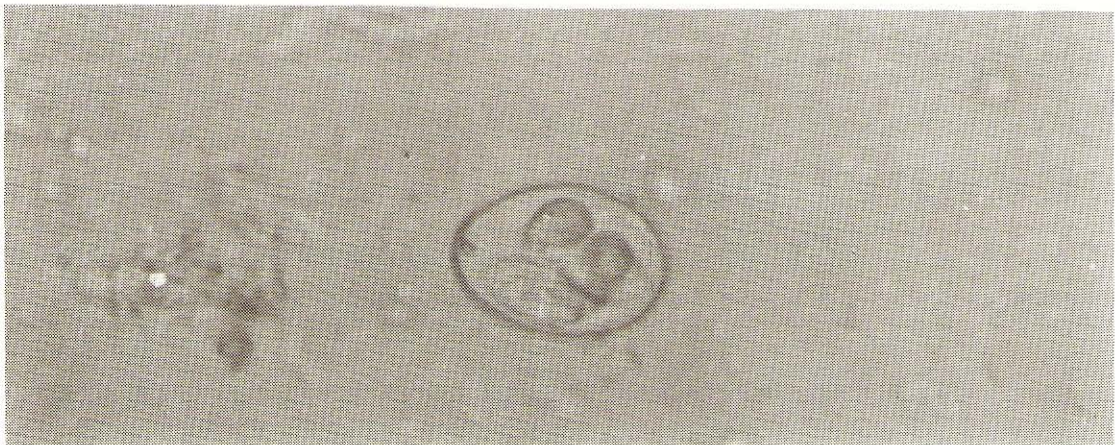
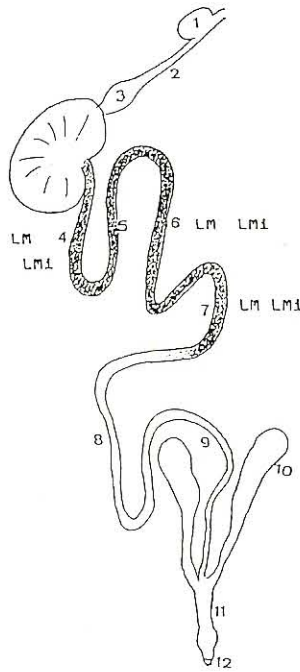


FIGURA 5. OOQUISTE ESPORULADO DE *EIMERIA MAXIMA*. x 625.



LM = LESION MACROSCOPICA
Lmi = LESION MICROSCOPICA
1-12 = NIVELES DEL TRACTO DIGESTIVO EXAMINADOS MACROSCOPICA Y MICROSCOPICAMENTE.

FIGURA 6. OOQUISTE ESPORULADO DE *EIMERIA MAXIMA*. X 875.

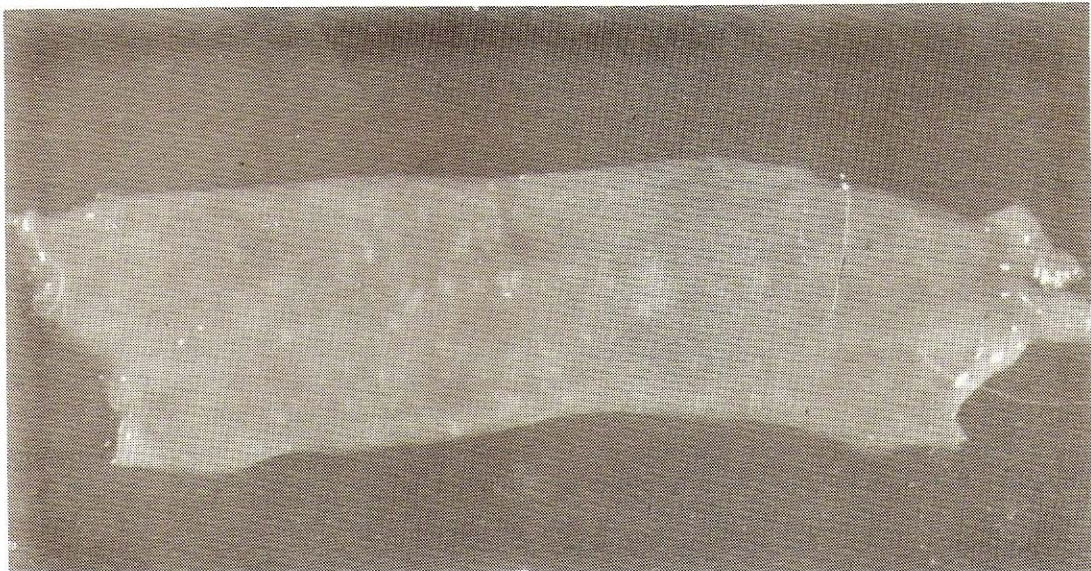


FIGURA 7. ASPECTO MACROSCÓPICO DER LAS LESIONES POR INFECCIÓN NATURAL; SE OBSERVA UN EXUDADO SEROSO DE COLOR ANARANJADO Y PUNTOS DE SANGRE COAGULADA DISTRIBUIDOS SOBRE LA SUPERFICIE DE LA MUCOSA ENFERMA.



FIGURA 8. ASPECTO MACROSCÓPICO DE LA MUCOSA DEL INTESTINO DELGADO, DEBIDO A LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL; HAY EXUDADO SEROSO ANARANJADO Y PUNTOS HEMORRÁGICOS EN TODA LA SUPERFICIE INTESTINAL.



FIGURA 9. CORTE DE INTESTINO EN EL QUE SE OBSERVAN: A. ESQUIZONTES INMADUROS. B. OOQUISTES. C. MACROGAMETOCITOS INMADUROS. D. MACRO GAMETOCITOS MADUROS. E. ESQUIZONTE MADURO. UBICADOS EN LAS VELLOSIDADES DEL INTESTINO MEDIO DEL POLLO. X 625.

presentaron micropilo. Los esporocistos de tamaño promedio: 13.21 x 5.9 con un cuerpo de Stieda de 1.2 x 1.2 micras. Tiempo de esporulación: 24 horas a la temperatura de 28°C.

Esquizogonia: en las células epiteliales de las vellosidades intestinales del duodeno y yeyuno.

Habitat: Mucosa del duodeno y yeyuno del pollo.

Eimeria brunetti Levine [12]

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS LESIONES INFECCIÓN NATURAL

Ochenta y una necropsias (20.05%) mostraron lesiones intestinales o enteritis catarral, localizadas en la porción inferior del íleon, en el ciego, recto y cloaca, o sea en los segmentos 9,10,11 y 12 del diagrama. Fig 10. Dichas lesiones se caracterizaron por la presencia de áreas hemorrágicas bien manifiestas, en la región que va del intestino grueso hacia los ciegos en la base de los mismos, también en el recto y cloaca. Figs. 11 y 12.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL

En los doce pollos inoculados con 10000 ooquistes cada uno, el período prepatente de la infección fué de 6 días. A las 72 horas después de la inoculación se efectuó la necropsia de uno de los pollos, a la observación macroscópica no había lesiones aparentes. A los dos días del período patente la necropsia reveló la presencia de un depósito blanco y duro en el ciego y en el raspado de la mucosa se encontraron numerosos ooquistes, y lesiones en el recto y cloaca. A los 4 días del período patente las heces contenían abundante mucosidad, de aspecto pastoso y color blanco, la observación microscópica evidenció abundantes ooquistes. Transcurridos 8 días del período patente las lesiones hemorrágicas se asemejaban a las provenientes de infecciones naturales preferentemente en parte del ciego, recto y cloaca. Fig 12.

Dos de los pollos inoculados murieron a causa de la infección, uno murió al cuarto día después de la inoculación y el segundo al séptimo día de la inoculación.

CICLO ENDÓGENO

Esquizogonia.- En material del tracto digestivo de 72 horas después de la inoculación se observaron esquizontes en la parte inferior del íleon, ciego, recto y cloaca en escaso número. Fig. 13.

Los esquizontes de primera generación fueron localizados en la parte inferior del íleon y en el ciego, 72 horas después de la inoculación.

Los esquizontes maduros localizados fueron de pequeño tamaño con 10 a 12 merozoitos midiendo 9.2 x 8.6µ. Algunas veces se les encontró invadiendo las glándulas, Fig. 13a; los esquizontes de mayor tamaño medían 16.4 x 20.6. Fig. 13b.

Gametogonia.- En la necropsia del octavo día del período patente de la infección se localizaron macrogametocitos

inmaduros en la mucosa del ciego y del recto, alcanzando un tamaño promedio de 10.2 x 13.9. Los macrogametocitos maduros midieron: 17.2 x 20.5, Fig. 13c, aparecieron en las células epiteliales de las vellosidades y en las glándulas del ciego y del recto.

Los microgametocitos fueron ubicados al lado de los macrogametocitos en la mucosa del ciego y del recto, alcanzando un tamaño promedio de 12.65 x 15.7. Fig. 13d.

Zigoto: Mide 12.6 x 17.7. Fig. 13e.

DIAGNÓSTICO

Posición sistemática: *Eimeria brunetti* Levine, [12], Coccidia, Eimeriidae, Eimeriinae.

Descripción: Ooquiste tetrasporoquístico, dizoico de forma oval mide 20.3 x 26.7 micras, Fig. 14. Sin micropilo. El esporocisto de 5.8 de diámetro. El cuerpo de Stieda midiendo 1.6 x 2.5 .

Tiempo de esporulación 48 a 72 horas a 28°C.

Esquizogonia: en las vellosidades y glándulas de la mucosa de la porción inferior del íleon, ciego, recto y cloaca.

Habitat: en el epitelio y mucosa de ciego, recto y cloaca. Especie identificada por primera vez en Venezuela.

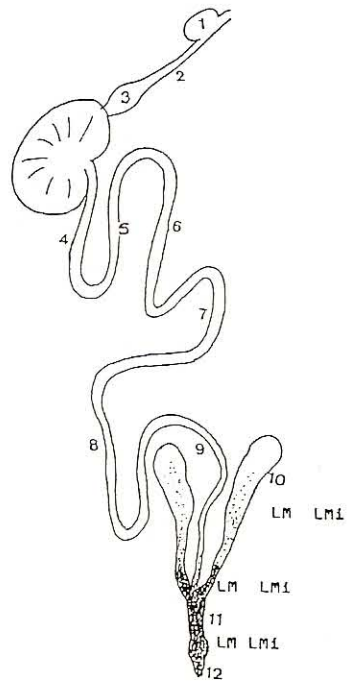
Eimeria tenella (Railliet and Lucet, 1891) [25], Fantham, 1909

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS LESIONES INFECCIÓN NATURAL

Setenta y ocho necropsias (19.31%) revelaron lesiones cecales, Fig. 15, caracterizadas por la presencia de áreas hemorrágicas las cuales eran visibles a través de la serosa. Al abrir los ciegos la sangre llenaba las cavidades, así mismo las heces endurecidas y negruzcas que al ser examinadas microscópicamente contenían elevado número de ooquistes. Las lesiones comprometían toda la mucosa del ciego, además se observó gran distensión de estos órganos, Figs. 16 y 17.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL

En la infección experimental con *Eimeria tenella* el período prepatente fué de 7 días. Los pollitos sacrificados a las 48 horas no mostraron lesiones aparentes en el ciego. A las 72 horas se apreció a través de la serosa áreas de congestión. Al abrir la mucosa se apreciaron lesiones de tipo hemorrágico en la mucosa. Posteriormente a las 96 horas de la inoculación se produjo la muerte de 2 pollos debido a la infección, la mucosa de los ciegos lucía hemorrágica. La necropsia a los 6 días del período patente reveló lesiones características de los ciegos semejantes a las infecciones naturales con hemorragia y contenido cecal endurecido y sanguinolento. Fig. 18. El estudio histopatológico determinó la presencia de lesiones acentuadas en la mucosa del ciego y que se extendían hasta la submucosa. Fig 19.



LM = LESION MACROSCOPICA
Lmi = LESION MICROSCOPICA
1-12 = NIVELES DEL TRACTO DIGESTIVO EXAMINADOS MACROSCOPICA Y MICROSCOPICAMENTE.

FIGURA. 10. OOQUISTE ESPORULADO. X525.

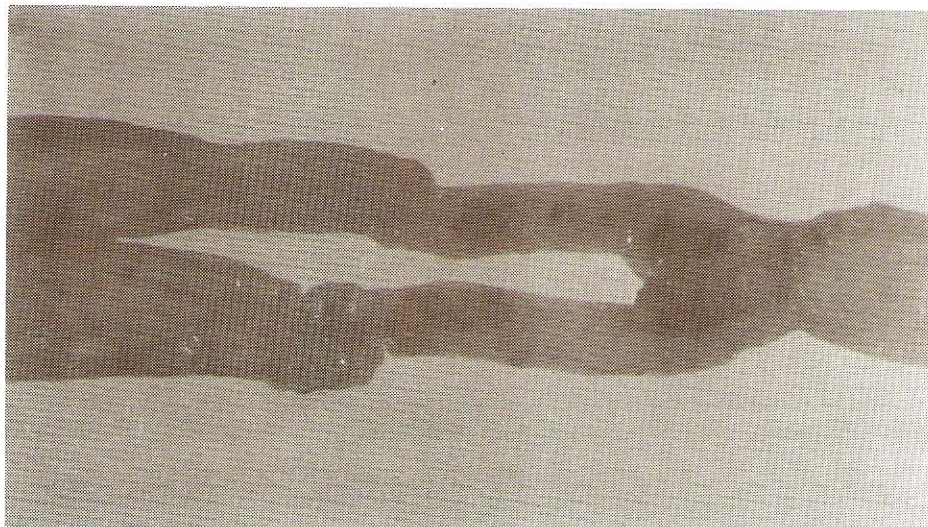


FIGURA. 11. PORCIÓN DE DUODENO EN LA QUE SE OBSERVAN MANCHAS BLANCAS O GRISES PRESENTANDO EL ASPECTO DE UNA RAYAS TRANSVERSALES SOBRE LA SUPERFICIE DE LA MUCOSA INTESTINAL; DEBIDO A INFECCIÓN NATURAL.

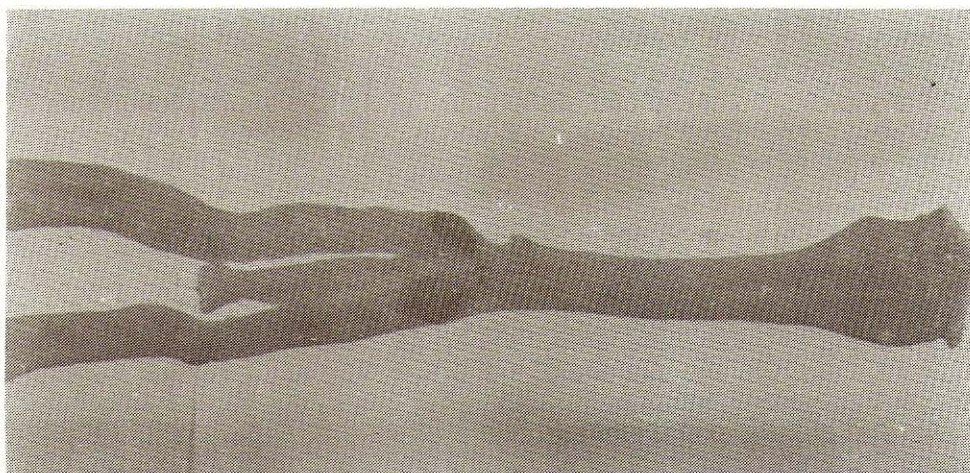


FIGURA 12. ASPECTO PARCIAL DE UNA VELLOSIDAD INTESTINAL EN LA QUE SE APRECIA LISIS CELULAR POR EL PARÁSITO (A. MACROGAMETOCITO MADURO. B. ESQUIZONTES ROTOS. C. CIGOTOS Y D. OOQUISTES) X625.

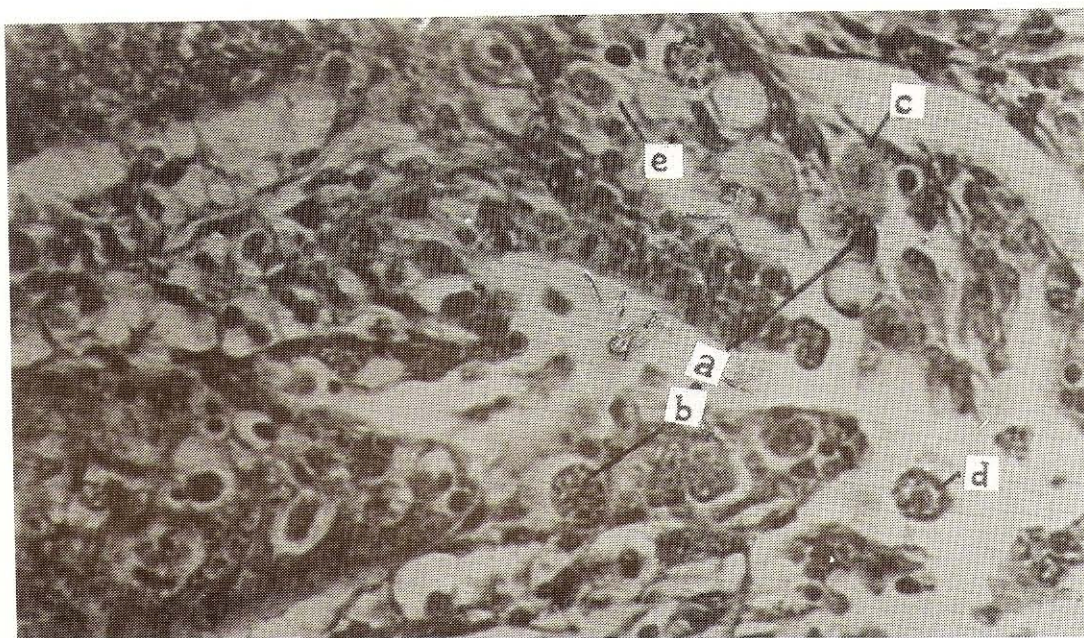
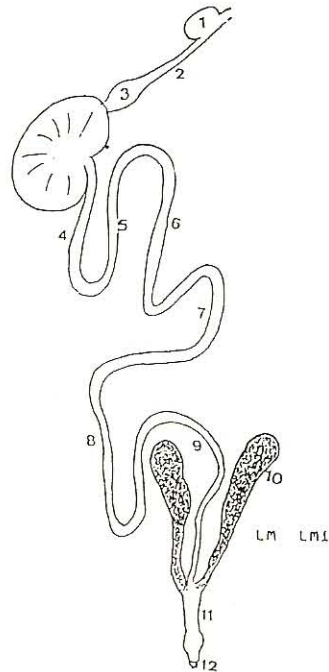


FIGURA 13. OOQUISTES ESPORULADOS DE *EIMERIA BRUNETTI*. X625.



FIGURA 14. LESIONES DE TIPO HEMORRÁGICO, DISTRIBUIDAS ENTRE EL INTESTINO GRUESO Y LOS CIEGOS; DEBIDAS A INFECCIÓN NATURAL.



LM = LESION MACROSCOPICA
Lmi = LESION MICROSCOPICA
1-12 = NIVELES DEL TRACTO DIGESTIVO EXAMINADOS MACROSCOPICA Y MICROSCOPICAMENTE.

FIGURA 15. LESIONES PRODUCIDAS EXPERIMENTALMENTE. SE EXTIENDEN DESDE LA CLOACA, RECTO Y COMPROMETEN AMBOS CIEGOS. X625.

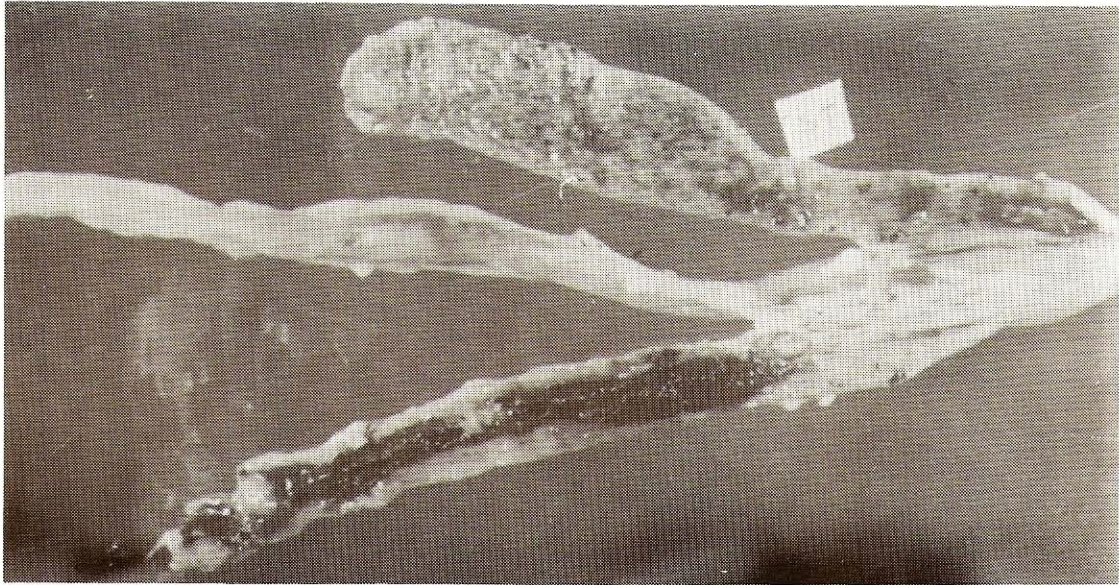


FIGURA 16. INVASIÓN Y LISIS DE UNA VELLOSIDAD INTESTINAL (RECTO) PROVOCADA POR DIVERSOS ESTADÍOS DE DESARROLLO DE *EIMERIA BRUNETTI* (A. TROFOZOITOS, B. ESQUIZONTES, C. GAMETOCITOS Y D. ZIGOTOS. X625.

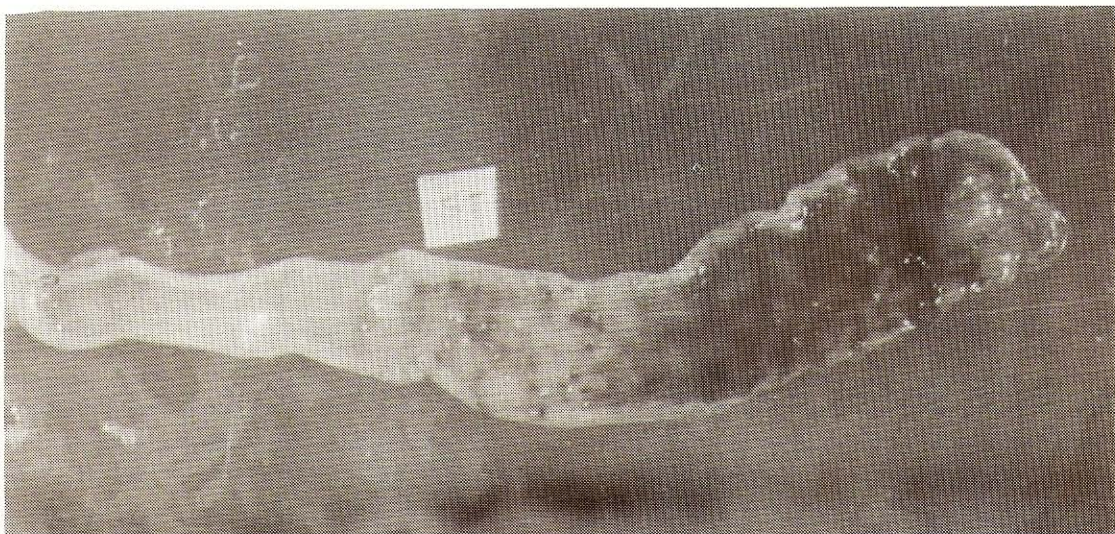


FIGURA 17. OOQUISTES ESPORULADOS DE *EIMERIA TENELLA*. X625.

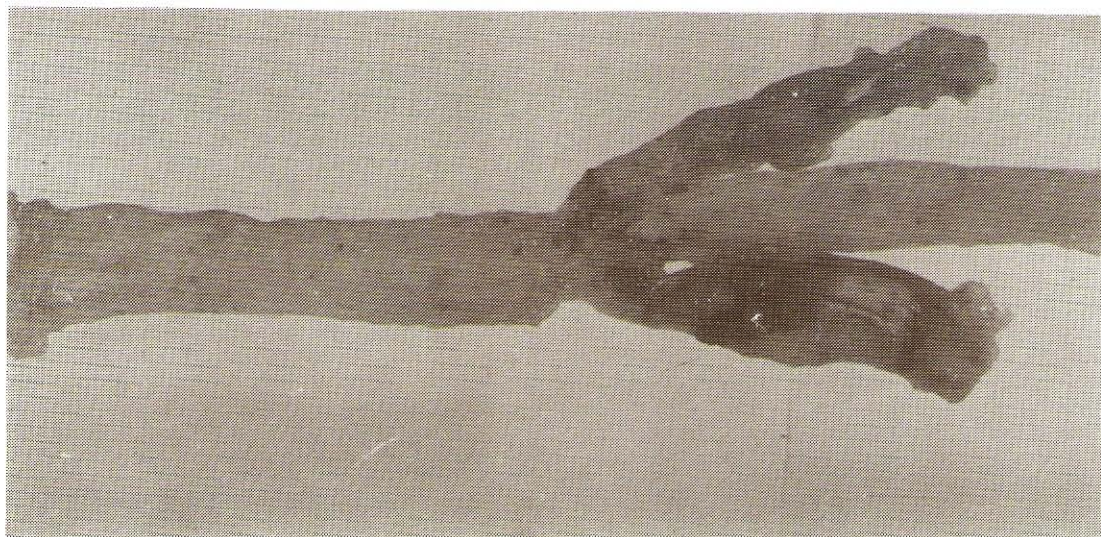


FIGURA 18. AL ABRIR LOS CIEGOS ESTE ES EL ASPECTO QUE PRESENTARON COMO CONSECUENCIA DE LA INFECCIÓN: HEMORRAGIA EN AMBOS Y EL CONTENIDO CECAL DE CONSISTENCIA DURA.

CICLO ENDÓGENO

Esquizogonia.- Los esquizontes de la primera generación generalmente se encontraron en las criptas de las glándulas cecales, a las 48 horas del periodo patente. Los esquizontes maduros de la primera generación midieron 16.4 x 25.3 micras, conteniendo abundantes merozoitos, Fig. 19. Los esquizontes maduros de la segunda generación alcanzaron muy variadas dimensiones, entre los que hubo de gran tamaño 50.2 - 73.3 micras x 45.4 - 52.7 micras, con abundantes merozoitos, Figs. 20 y 21. El tamaño promedio de los esquizontes maduros de la segunda generación fué: 40.6 x 45.3 micras, conteniendo numerosos merozoitos los cuales posteriormente se abren para dejar salir los merozoitos, Fig 21. Los diferentes estadios de desarrollo de *E. tenella* pudieron ser diferenciados con facilidad.

Gametogonia: Los macrogametocitos se desarrollaron en el epitelio cecal midiendo 19.2 x 22.6 micras.

Los microgametocitos más pequeños que los macrogametocitos, midiendo: 12.65 x 15.18 micras.

Zigoto: midió 20.24 x 23.6 micras.

DIAGNÓSTICO

Posición sistemática: *Eimeria tenella* (Railliet and Lucet, 1891) [25] Fantham, 1909. Coccidia, Eimeriidae, Eimeriinae.

Descripción: Ooquiste tetraesporoquístico dizoico de forma ovoide. Fig. 22 midiendo 24 x 19.6 micras. Sin micropilo. El esporocisto midió 5.7 micras de diámetro. Cuerpo de Stieda con un tamaño de 2.5 x 1.6 micras.

Tiempo de esporulación: 48 horas a 28°C.

Esquizogonia: en las vellosidades y en las criptas de las glándulas del ciego.

Habitat: Epitelio y tejido de las paredes del ciego.

Eimeria necatrix Johnson [7].

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS LESIONES INFECCIÓN NATURAL

Veintitres necropsias (7.77%) mostraron lesiones caracterizadas por petequias y manchas hemorrágicas en el intestino delgado, también se observaron opacidades blanquecinas visibles en la superficie serosa del intestino delgado. Fig. 23, que eran colonias de esquizontes. Las lesiones se observaron en yeyuno e íleon anterior. Figs 23 y 24.

INFECCIÓN EXPERIMENTAL

El período prepatente de la infección con *Eimeria necatrix*, en los pollos inoculados experimentalmente fué de 7 días. Se realizó la necropsia de 2 pollos a las 24 horas después de la inoculación, al examinar el intestino delgado no se observaron lesiones aparentes. A las 48 y 72 horas se necropsiaron

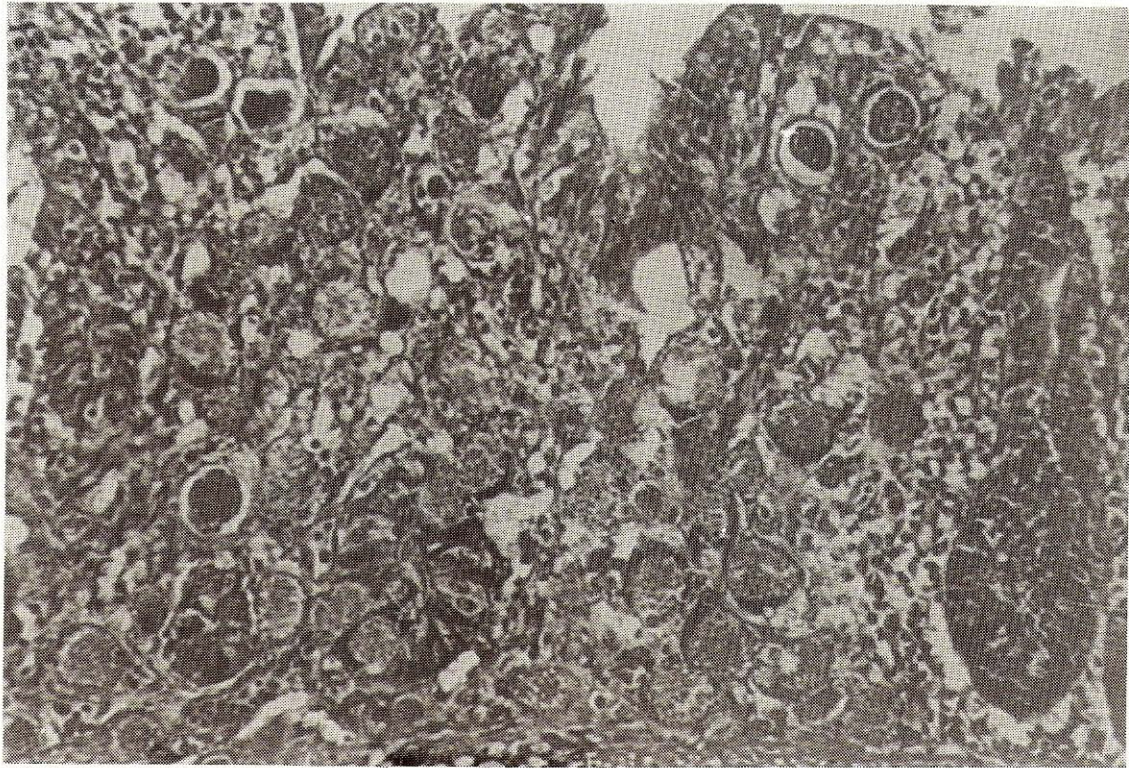


FIGURA 19. OTRO CASO DE INFECCIÓN NATURAL POR *EIMERIA TENELLA* LAS LESIONES COMPROMETEN MAYORMENTE LA PORCIÓN DISTAL DEL CIEGO.

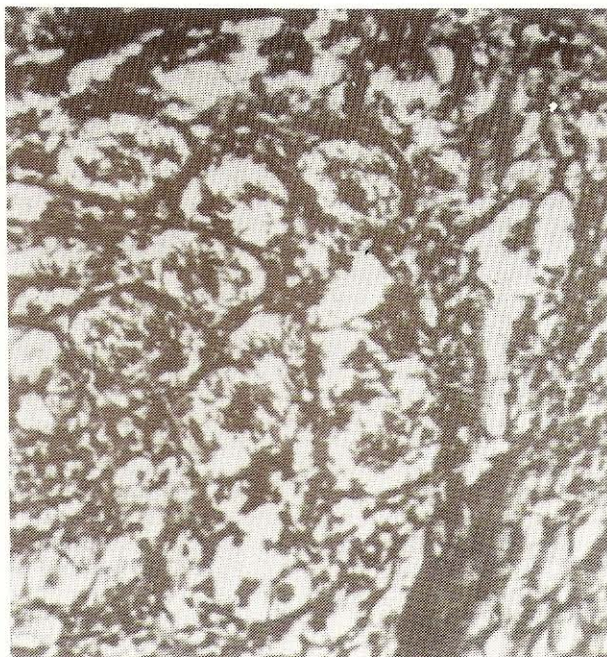


FIGURA 20. LESIONES DEL CIEGO POR INFECCIÓN EXPERIMENTAL, HEMORRAGIA EN LA MUCOSA Y LAS HECEES ENDURECIDAS.



FIGURA 21. CORTE HISTOLÓGICO DE CIEGO CON INFECCIÓN EXPERIMENTAL, EN EL QUE SE PUEDE APRECIAR A MENOR AUMENTO EL PARASITISMO PROVOCADO POR DIFERENTES ESTADÍOS EVOLUTIVOS DE *EIMERIA TENELLA* QUE INVADEN LA MUCOSA Y SUBMUCOSA INCLUSIVE, OCACIONANDO LISIS CELULAR. X250.

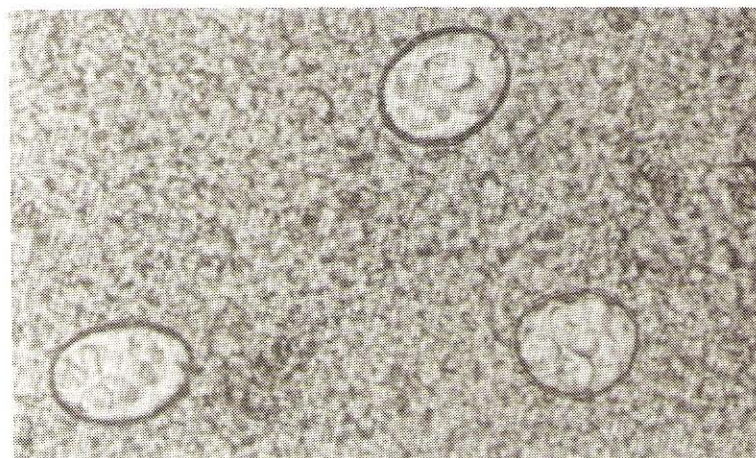


FIGURA 22. UNA "COLONIA DE ESQUIZONTES" MADUROS DE SEGUNDA GENERACIÓN VISTOS A MENOR AUMENTO. X250.

pollos sin observar lesiones macroscópicas en el intestino en el primer caso pero a las 72 se observó en la zona media del intestino delgado, opacidades blanquecinas en la superficie de la serosa pero no en la mucosa. Las necropsias a las 96 y 120 horas mostraron en la serosa hemorragias petequiales, Fig. 25, y la mucosa enrojecida se extendieron al intestino grueso y ciego.

CICLO ENDÓGENO

Esquizogonia.- Los cortes del intestino delgado después de 24 horas de la inoculación revelaron la presencia de esquizontes de primera generación en las células epiteliales de las glándulas intestinales, las cuales midieron 51.65 x 38.03 micras. Así mismo 72 horas después de la inoculación se localizaron en ciego e intestino grueso esquizontes de segunda generación, 64 x 48.5 micras son más grandes que los de *E. tenella* y más vacuolados, Fig. 26. En el ciego se observaron esquizontes de 3a generación más pequeños que los de 2a generación, correspondieron a necropsias de 120 horas después de la inoculación.

Gametogonia: Los macrogametocitos se desarrollaron en las células epiteliales del ciego y del intestino grueso midiendo 22.3 x 19.1 micras.

Los microgametocitos un poco más pequeños que los macrogametocitos, midiendo: 15.6 x 12.5 micras. El cigoto de 23.5 x 20.1 micras.

DIAGNÓSTICO

Posición sistemática: *Eimeria necatrix* (Johnson, 1930) Tyzzer, Theiler y Jones 1932. Coccidia, Eimeriidae, Eimeriinae.

Descripción: Ooquiste tetraesporoquístico dizoico de forma ovoide, lisos sin micropilo, Fig. 27, midiendo 19 x 16.2 micras. El esporocisto midió 11.3 x 4.5 micras. Presentaron cuerpo de Stieda cuyo tamaño fué de 1.75 x 0.8 micras. Con un gránulo polar. Sin cuerpo residual. Tiempo de esporulación: 48 horas.

Esquizogonia: Células epiteliales del intestino delgado

Habitat: Intestino delgado y ciego.

DISCUSIÓN

Eimeria maxima

En las lesiones por *E. maxima* se destacó el engrosamiento notable de la pared del intestino y la presencia de abundante exudado sanguinolento, hipertrofia y petequias, debido en parte a la inflamación de los tejidos y a la presencia de gran número de organismos grandes [27], Long [12], sostiene que los gametocitos grandes especialmente cuando están presentes en número considerable causan dicho engrosamiento por el alargamiento de la vellosidad con infiltración de leucocitos y eritrocitos; las formas asexuales se situaron superficiales en las células epiteliales, la rotura de algunas células y la libe-

ración de merozoitos, puede estar asociada a la presencia de abundante exudado sanguinolento [12].

En cuanto a la ubicación de los esquizontes, solo se situaron en la porción superior de las vellosidades del duodeno y yeyuno, la posición de estas fases evolutivas fue anterior con respecto al núcleo como lo señalan; Tyzzer, Johnson y Edgard, [3, 7, 29]. Pellerdy [23], sostiene que, a diferencia de los estadios sexuales, los esquizontes se encontraron mayormente posteriores al núcleo. [2].

Esta especie se distinguió por el gran tamaño de sus ooquistes: 32.8 x 22.3 μ , también son grandes los microgametocitos (34 x 25.3 micras), los esquizontes de primera generación son pequeños de 9.6 x 7.6 micras. Los de segunda generación midieron 15.15 x 13.15 micras, observación que igualmente señala Pellerdy [23]. Se observaron 2 generaciones de esquizontes; Tyzzer y Long [13,29] indicaron una sola.

Las formas sexuales de *E. maxima* fueron localizadas fácilmente, Long [13] y Tyzzer [29] hicieron este mismo señalamiento. (Fig. 9c).

Los pollos infectados experimentalmente, desarrollaron lesiones macroscópicas discretas en el duodeno y yeyuno. Sin embargo, se produjo la muerte de 2 de los pollos infectados. El estudio histopatológico mostró numerosas formas evolutivas del parásito en el intestino delgado. El período prepatente de la infección ocurrió a los 6 días. Long [13] y Edgard [3] reportan 123-136 horas de duración de este período.

Eimeria acervulina

Aún cuando la infección experimental por *E. acervulina* fue moderada, hubo evidente atraso en el desarrollo de las aves y pérdida de peso. El retardo en el crecimiento de los pollos inoculados con *E. acervulina* coincide con la gametogonia a bajos niveles de la infección y la esquizogonia llega a ser significativa con el aumento de dosis de los ooquistes y la edad de los pollos. La patogenicidad es mayor en pollos más jóvenes. la anorexia ocasionada por la enfermedad no es solamente el factor responsable por la pérdida de peso, entre otros factores está la severa depresión en la absorción de nutrientes en la parte superior del intestino delgado de los pollos, que tiene lugar durante la fase aguda de la enfermedad. [22,26]. Vergani y Toro [30] inocularon pollos con esta especie, afirmando que la predilección de las distintas especies por un determinado segmento del tracto intestinal y las lesiones macroscópicas tienen valor sobre el diagnóstico clínico de campo.

Vergani y Cols [3] estudiaron el índice de conversión alimenticia de pollos infectados experimentalmente; las pérdidas fueron de Bs. 4000 por cada 10000 pollos.

De los 12 pollos inoculados con *Eimeria acervulina* con una dosis simple de 12000 ooquistes uno murió a consecuencia de la infección o sea el 8.3% de mortalidad. Por lo general no se relacionaba la infección causada por *E. acervulina* con mortalidad, Morehouse y Mc Guire [18] obtuvieron 6-10 % de

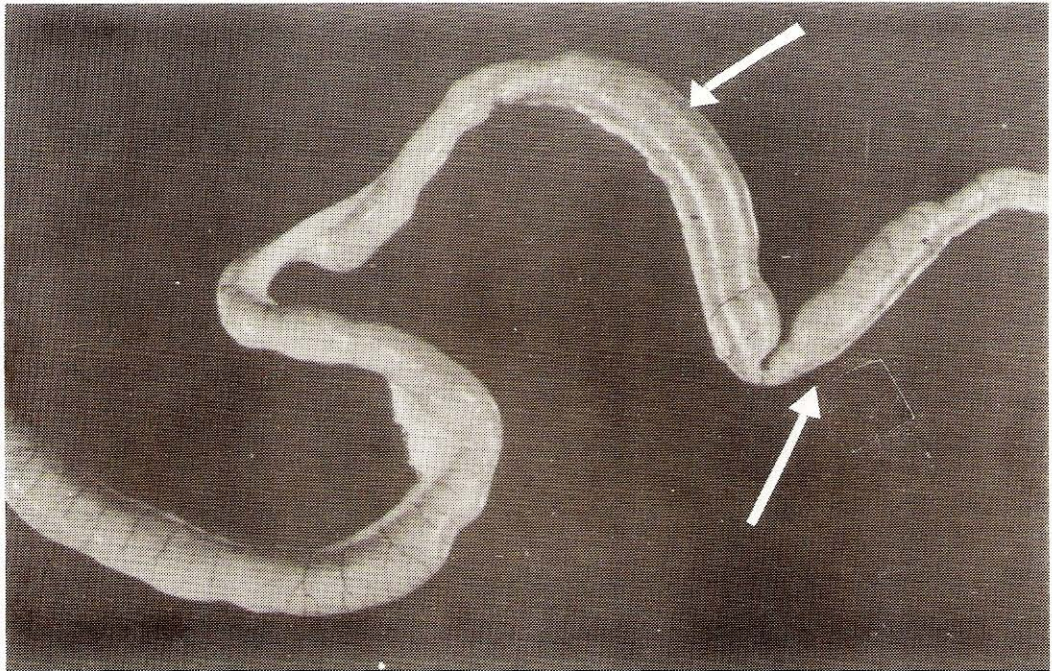
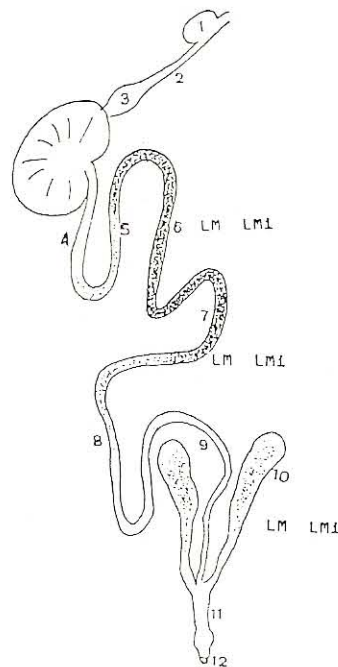


FIGURA 23. A MAYOR AUMENTO LA "COLONIA" DE ESQUIZONTES MADUROS DE SEGUNDA GENERACIÓN, ALGUNOS PARECEN ROTOS DEJANDO EN LIBERTAD LOS MEROZOITOS. X625.



LM = LESION MACROSCOPICA
Lmi = LESION MICROSCOPICA
1-12 = NIVELES DEL TRACTO DIGESTIVO EXAMINADOS MACROSCOPICA Y MICROSCOPICAMENTE.

FIGURA 24. OOQUISTES ESPORULADOS DE EIMERIA NECATRIX. X625.

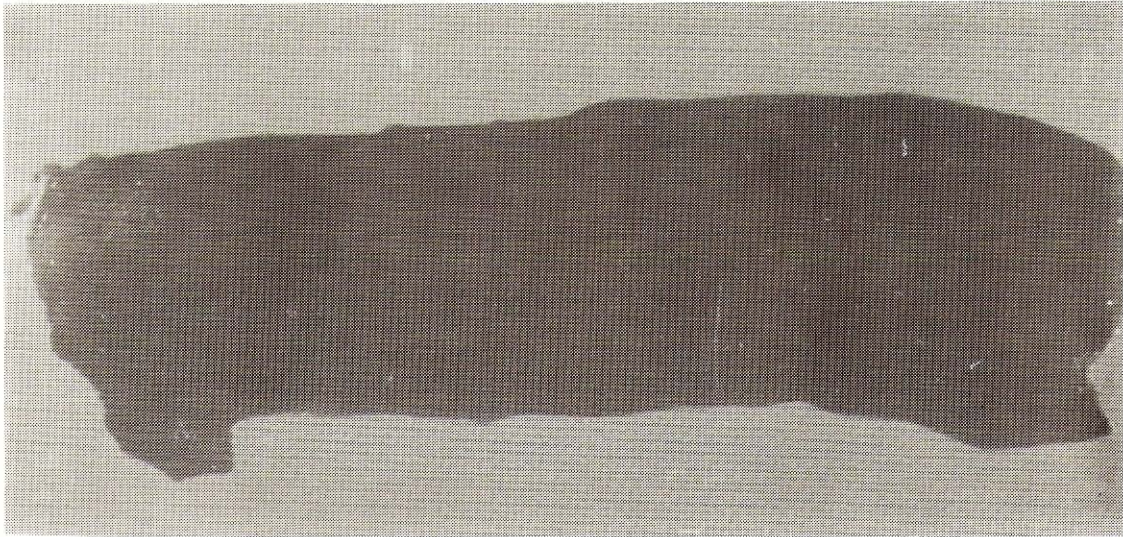


FIGURA 25. PORCIÓN DEL INTESTINO DELGADO MOSTRANDO LESIONES DEBIDAS A INFECCIÓN NATURAL; EN LA MUCOSA SE OBSERVAN LESIONES HEMORRÁGICAS PETEQUIALES, QUE SON VISIBLES A TRAVÉS DE LA SUPERFICIE DE LA SEROSA.

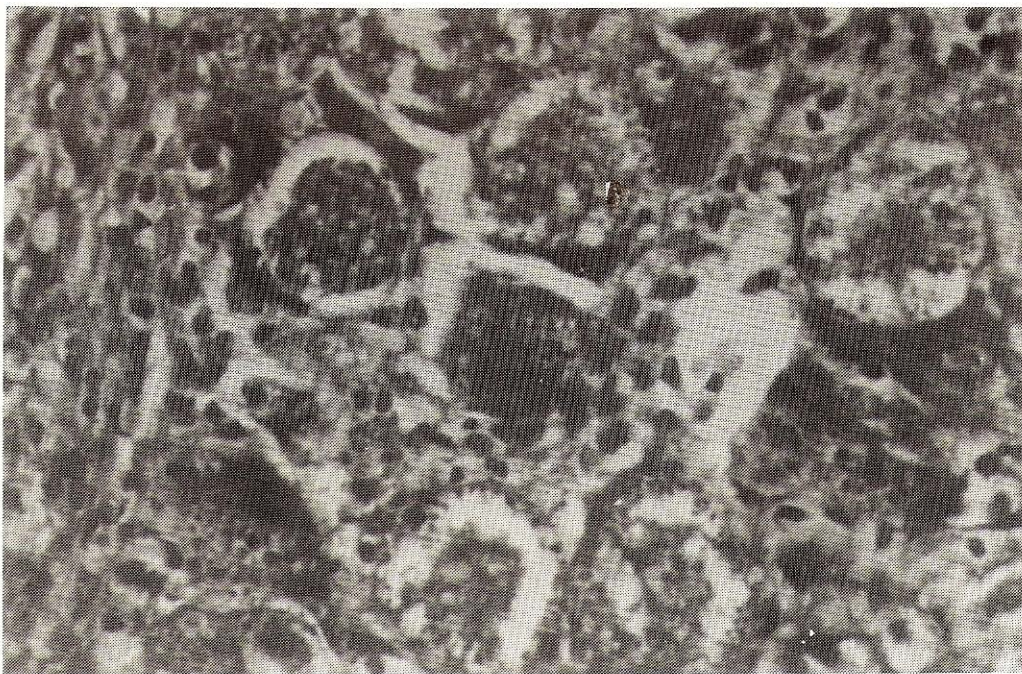


FIGURA 26. SEGMENTO DE INTESTINO DELGADO INFECTADO CON *EIMERIA NECATRIX*, LA FLECHA SUPERIOR SEÑALA LAS PETEQUIAS QUE SE EXTIENDEN A TRAVÉS DE LA SEROSA, LA FLECHA INFERIOR SEÑALA UNAS MANCHAS BLANCAS PEQUEÑAS.



FIGURA 27. CORTE DE INTESTINO DELGADO EN EL QUE SE APRECIAN NUMEROSOS ESQUIZONTES DE SEGUNDA GENERACIÓN, DE GRAN TAMAÑO. X625.

mortalidad al inocular un millón de ooquistes; Michael y Hodges [17], determinaron el 20% de muertes en los pollos inoculados con una dosis de 5 millones de ooquistes y afirman textualmente: "La evidencia experimental obtenida aquí, especialmente las infecciones producidas por múltiples dosis de ooquistes indican que *E. acervulina* es sin duda una de las especies de *Coccidia* de pollos más patógenas". Turk y Stephens [28] observaron mortalidad en los pollos inoculados con *Eimeria acervulina* al emplear una dosis y varias dosis altas del parásito, los resultados se explicarían por la variación de los factores: edad del huésped y de la cepa o por el nivel de la dosis del parásito. [17]

Eimeria brunetti

En las infecciones naturales y experimentales, macroscópicamente se observó inflamación hemorrágica en recto y cloaca [23]. Las infecciones naturales severas estuvieron caracterizadas por una intensa enteritis, lesiones semejantes a las descritas por Levine y por Boles y Becker [1].

Dos pollos murieron en el transcurso de la infección, al cuarto y séptimo día de la inoculación. Pellerdy [23], al referirse a la patogenicidad de *Eimeria brunetti* sostiene que es definitivamente patógena para las aves domésticas y literalmente afirma: "La infección experimental podría matar más de la mitad de un grupo susceptible". Al respecto Pellerdy [23] afirma que las principales lesiones patológicas son ocasionadas por el desarrollo de esquizontes en las capas más profundas de la mucosa. Existen dos clases de esquizontes, los más grandes (30 x 20 micras) producto del primer proceso esquizogónico,

mientras que los más pequeños representan la segunda generación (Boles y Becker [1], Davies [2]).

Eimeria tenella

El período prepatente de la infección experimental fue de 7 días, en esto coinciden otros autores [5,27,29,32].

El estudio microscópico de las lesiones determinó la severidad de la infección, observando que los parásitos también invadieron la submucosa.

Los pollos de 12 días de edad, inoculados con una dosis de 10000 ooquistes, presentaron el 16.6 % de mortalidad, a las 96 horas después de la inoculación murieron dos de los pollos debido a la infección. Los cambios fisiológicos que se dan en el hospedador los cuales acompañan la evolución de esta especie, la pérdida de sangre, la cual ocurre durante el desarrollo de la segunda generación de esquizontes, constituyeron las principales causas de muerte. [20,21,22,23]. Joyner y Davies [9], investigaron las condiciones bajo las cuales las infecciones subletales causadas por *E. tenella* podrían ser detectadas regularmente mediante la medida de la anemia. Las infecciones severas de *E. tenella* producen una reducción del hematocrito, seroproteínas totales y varias funciones de proteínas (albúmina alfa, beta y gamaglobulinas) todo lo cual depende del número de ooquistes usados en la inoculación [11]. Walex [33] reportó hiperglicemia durante la infección. Además el considerable daño parece ser causado por la segunda generación de esquizontes y probablemente como resultado de su gran tamaño, numerosísimos y su posición en las profundas

capas de la mucosa. [11,19]. En las figs. 19, 20 y 21, se pueden apreciar tamaño, número y posición de los esquizontes de segunda generación, algunos alcanzaron grandes medidas: 73.3 x 50.2 micras. Los estadíos de la esquizogonia como se ha dicho antes ocasionan daño al hospedador pero también le confieren protección.

En cuanto a la terapia, la medicamentación debe ser tal que permita proseguir la esquizogonia. [10].

Eimeria necatrix

Los ooquistes de esta especie son parecidos con los de *E. tenella* pero existen diferencias en cuanto al tamaño promedio de 16.7 x 14.2 micras, pero sus formas más grandes coinciden con las más pequeñas de los ooquistes de *E. tenella* [23]. Davies [27], sostiene que hay semejanza entre ambos por el tamaño, según este autor los ooquistes de *E. necatrix* midieron 20.5 x 16.8 micras.

El estudio histopatológico del ciego e intestino grueso revelaron la presencia de esquizontes de segunda generación de tamaño más grande que los reportados para *Eimeria tenella*, esto coincide con Pellerdy [23] quien hace igual señalamiento.

CONCLUSIONES

- 1.- El estudio macroscópico e histopatológico de las lesiones de pollos de engorde infectados naturalmente por Coccidias; en el Municipio Maracaibo-Estado Zulia confirman la existencia en esta región de las siguientes especies: *Eimeria acervulina*, *Eimeria maxima*, *Eimeria tenella*, *Eimeria brunetti* y *Eimeria necatrix*
- 2.- El estudio macroscópico e histopatológico de las lesiones experimentales en pollos de engorde sanos determinaron la existencia de las especies de Coccidia ya mencionadas.

RECOMENDACIONES.

- 1.- Continuar con el estudio de las especies de Coccidia en el país, para determinar si existen otras especies, de 8 que existen en el mundo parasitando los pollos de engorde.
- 2.- Para el control y tratamiento de la Coccidiosis es importante el conocimiento de las especies. Las vacunas son el mejor medio de control de esta enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) por el aporte económico y apoyo recibido.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Boleas, J.I. and Becker, E.R. The development of *Eimeria brunetti* Levine, 1942 in the digestive tract of chickens. Iowa State Cell. J. Sci., 29: 1-26. 1954
- [2] Davies, S.F.M. Intestinal Coccidiosis in chickens caused by *Eimeria necatrix*. Vet. Rec. 68,853.856. 1956
- [3] Edgard, S.A. Sporulation of oocysts at specific temperatures and notes on the prepatent period of several species of avian Coccidia. J. Parasit. 41: 214-216. 1955
- [4] Edgard, S.A and Seibold, C.T. A new Coccidium of chickens, *Eimeria mivati* (Protozoa: Eimeriidae) with details of its life history. J. parasit. 50 (2): 193-204. 1964
- [5] Gardiner, J.L. The severity of cecal Coccidiosis in infection in chickens as related to age of the host and the number of oocysts ingested. Paul. Sci. 34: 415-420. 1955
- [6] Horton-Smith, C. and Long; P.L. The development of *Eimeria necatrix* Johnson, 1930 and *Eimeria brunetti* Levine, 1942 in the caeca of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). Parasitology, 55; 401-405. 1965
- [7] Johnson, W.T. Coccidiosis of the chicken with special reference to species. Sta. Bull Ore. Agric. Exp. Sta. N° 358. 1938
- [8] Joyner, L.P. Experimental *Eimeria mitis* infections in chickens. Parasitology, 48: 101-112. 1958
- [9] Joyner, L.P. and Davies, S.F.M. Detection and Assesment of sublethal infections of *Eimeria tenella* and *Eimeria necatrix*. Experimental Parasitology 48: 101-112. 1958
- [10] Kendall, O.B and Mc Cullough, F.S. Relationship between sulphamezathine and the acquisition of immunity to *Eimeria tenella*. J. Comp. Pathol. 62: 116-124. 1952
- [11] Levine, P.P *Eimeria hagani* (Protozoa: Eimeriidae) a new coccidium of the chicken. Cornell Vet. 28: 263-266. 1938
- [12] Levine, P.P. A new Coccidium Pathogenic for chickens, *Eimeria brunetti* (Protozoa: Eimeriidae). Cornell Vet. 32: 430-439. 1942
- [13] Long, P,L. A study of *Eimeria maxima* Tyzzer, 1929 a Coccidium of the fowl (*Gallus gallus*). Amer. Trop. Med. Parasit. 53:325-333. 1959
- [14] Martínez, de Ch. N.I y Bohorquez, R.N. Prevalencia y factores asociados a la coccidiosis en pollos de engorde.

- Prevalence and associate factors to coccidiosis in broilers. Rev Científica. FCU. LUZ. Vol IV, N°1, 25-36. 1994
- [15] Mayaudon, T.H y Ayala Lopez, O.R. Contribución al conocimiento de los Coccidios de los animales domésticos de Venezuela. Rev. Med. Vet y Paras. 18 (1-8): 35-40. 1959-60.
- [16] Mc Dougald, L. Coccidiosis: Problemas de Actualidad. Una prueba de sensibilidad a las drogas anticoccidianas en Suramérica. VI Seminario Internacional de Patología Aviar. Memorias. Julio 14-18. Athens, Georgia. 1986
- [17] Michael, E. and Hodges, R.D. The pathogenic effects of *Eimeria acervulina*: a comparisson of single and repeated infections. The Vet. Rec. 89:329-333. 1971
- [18] Morehouse, N.F. and Mc Guire, N.C. The pathogenicity of *Eimeria acervulina*. Poultry Sci. 37: 665-672. 1958
- [19] Mukkur, T.K.S, and Bradley, R.E. *Eimeria tenella*: Packed blood cell volume, hemoglobin, and serum proteins of chickens correlated with the inmune state. Experimental parasit. 26: 1-16. 1969
- [20] Natt, M.P, and Heric, C.A. The effect of cecal coccidiosis on the blood cells of the domestic fowl.. A comparisson of he changes in the erythrocyte count resulting from hemorrhage in infected and mechanically bled birds. The use of the hematocrit value as an index of the severity of the hemorrhage resulting from the infection. Poultry, Sci. 34: 1100-1106. 1955
- [21] Natt, M.P, and Heric, C.A. The effect of cecal coccidiosis on the blood cells of the domestic fowl. II.- The changes in the blood volume during the course of the infection. Poultry Sci. 35: 311-316. 1956
- [22] Natt, M.P. The effect of cecal coccidiosis on the blood cells of the domestic fowl. III. The changes in the leucocyte picture during the course of the infection. Exptl. Parasitol. 8: 182-187. 1959
- [23] Pelleroy, L. Coccidia and Coccidiosis. Akadémiai Kiadó Budapest: p. 263-286. 1965.
- [24] Preston, M. and Sykes, A.H. Changes in permeability of the mucosa during intestinal Coccidiosis infection in the fowl. Experimentia 23: 972-973. 1967
- [25] Railliet, A. and Lucet, A. Note Sur quelques espèces de Coccidios encore peu studiees. Bull. Soc. Zool. France 16: 246-250. 1891
- [26] Ray, H.N. On a new Coccidium *Wenyonella gallinae* from the gut of the domestic fowl *Gallus gallus domesticus*. Linn. Curr. Sci. 14: 75. 1945
- [27] Ruiz, J.H.R. Infección experimental de pollos con *Eimeria tenella* (Railliet y Lucet, 1891) Fantham, 1909. Universidad Central de Venezuela. Fac. Cs. Vet. Maracay. Trabajo de ascenso. (Prof. Agregado). 1977
- [28] Turk, D.E and Stephens, J.F. Upper intestinal tract infection produced by *Eimeria acervulina* and absorption of labeled oleic acid. J. Nutr. 93: 161-165. 1967
- [29] Tyzzer, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. Am. J. Hyg. 10: 268-383. 1929
- [30] Vergani, S.F, y Toro, B.M.R. Observaciones sobre Coccidios de aves en Venezuela. Rev. Vet. Venez, 20: 211-216. 1966
- [31] Vergani, S.F; Toro B, M.; Gonzalez, D y Aigster, F. Índice de conversión alimenticia en pollos de engorde infectados con *Eimeria acervulina*. V. Congreso Panamericano. Med. Vet. Zool. Memorias. Vol 2, 316-323. 1966
- [32] Vergani, F, y Toro B, M. Observaciones sobre Coccidios de aves de Venezuela. Rev. Vet. Venez. (131): 330-338. 1967
- [33] Waxler, S.H. Changes occurring in the blood and tissue of chickens during coccidiosis and artificial hemorrhage. Am. J. Physio. 134: 19-26. 1941