



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**TESIS DOCTORAL**

**Actividad anti-Eimeria de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus***

Para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias

**PRESENTA**

**M. en C. Juan Noguez Estrada**

Directora

Dra. Nallely Rivero Pérez

Tulancingo de Bravo, Hidalgo. México, febrero de 2026



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

## DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

### TESIS DOCTORAL

**Actividad anti-Eimeria de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus***

Para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias

### PRESENTA

**M. en C. Juan Noguez Estrada**

Directora

Dra. Nallely Rivero Pérez

Codirector

Dr. Adrián Zaragoza Bastida

Asesores

Dr. Agustín Olmedo Juárez

Dr. José Esteban Aparicio Burgos

Dr. Benjamín Valladares Carranza

Tulancingo de Bravo, Hidalgo. México, febrero de 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Institute of Agricultural Sciences

Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Academic Area of Veterinary Medicine and Zootechnics

**Asunto:** Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**

**Directora de Administración Escolar**

**Presente.**

El comité tutorial de la tesis del programa educativo de posgrado titulado “**Actividad anti-Eimeria de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus***”, realizado por el sustentante **M. en C. Juan Noguez Estrada** con número de cuenta **472617** perteneciente al programa de **Doctorado en Ciencias Agropecuarias (Tradicional)**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

#### AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir con los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

**Atentamente**


**“Amor, Orden y Progreso”**

**Tulancingo, Hidalgo a 26 de enero del 2026**

El Comité Tutorial

  
Dra. Nallely Rivero Perez  
**Directora**

  
Dr. Adrián Zaragoza Bastida  
**Asesor**

  
Dr. Agustín Omedo Juárez  
**Asesor**

  
Dr. José E. Aparicio Burgos  
**Asesor**

  
Dr. Benjamín Valladares Carranza  
**Asesor**

Avenida Universidad #133, Col. San Miguel Huatengo,  
Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo,  
México. C.P. 43775.  
Teléfono: 7717172001 Ext. 42105  
mvzjefatura@uaeh.edu.mx

“Amor, Orden y Progreso”



2025



uaeh.edu.mx

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), por el financiamiento otorgado para cumplir y estudiar el Doctorado en Ciencias Agropecuarias.

Al Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en el Instituto de Ciencias Agropecuarias, por brindarme la oportunidad de cursar el posgrado.

A la Dra. Nallely Rivero Pérez, gracias por su dirección, enseñanzas y todo el apoyo recibido desde el ingreso, hasta la culminación del doctorado.

Al Dr. Adrián Zaragoza Bastida, gracias por sus comentarios y sugerencias para hacer mejor este trabajo.

Al Dr. Agustín Olmedo Juárez, por su profesionalismo, disposición y apoyo para realizar y terminar el presente proyecto.

Al Dr. José Esteban Aparicio Burgos le agradezco su apoyo en la identificación molecular, así como por sus consejos oportunos para realizar la presente tesis.

Al Dr. Benjamín Valladares Carranza, por ser parte del comité de asesores y por sus acertadas y oportunas observaciones.

## **DEDICATORIA**

A mis hijas Arisai y Frida Valeria, por ser mi mayor inspiración, mi motivación, mi fuerza en momentos difíciles y la razón más importante para no rendirme.

A mi esposa Lupita, gracias por todo el apoyo, admiro tu coraje por la vida, agradecido con DIOS por esta gran oportunidad y por ver que día a día alcanzas tus metas.

Especialmente a quienes me dieron la vida, me cuidaron y apoyaron siempre, a mi Padre Porfirio Noguez Martínez y a mi madre Inocencia Estrada López, un abrazo a donde quiere que estén. Los extraño y los quiero mucho.

Al equipo Umisumi (Misael, Xochilt, Liz, Yesica, Mayreli, Angélica y Jorge), y al de Ciencias Veterinarias 2022-2025, excelentes compañeros y profesionistas.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad anti-*Eimeria* de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus*, mediante estudios *in vitro* e *in vivo*, para proponerlos como tratamientos alternativos, en unidades de producción cunícola (UPC) del Valle del Mezquital, Hidalgo. Se colectaron heces en 10 UPC de 320 conejos (edad 30 a 60 d). La identificación de especies de *Eimeria*, se realizó por medición y comparación morfológica y por biología molecular. Los oquistes por gramo de heces (OPG) se cuantificaron por McMaster. El extracto hidroalcohólico de *Bougainvillea glabra* (EHBg), fue obtenido por maceración hidroalcohólica y dos aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* (AESa) y *Lippia graveolens* (AELg) por arrastre de vapor. *In vitro*, se evaluó la inhibición de la esporulación de ooquistes del EHBg a concentraciones de 200 a 1.56 mg/mL, mientras que los AESa y AELg del 50 al 0.39%. Se realizaron pruebas *in vitro* de citotoxicidad indirecta y con *Artemia salina* del extracto y ambos aceites. Para la prueba *in vivo* se utilizaron 60 conejos (NZB X CAL) manejados de acuerdo con lo establecido en la NOM-062-ZOO-1999, con agua y alimento a libre acceso, los cuales se asignaron al azar a cinco tratamientos de 12 conejos, T1 (agua), T2 (sulfas 100 mg/kg de PV), T3, 4 y 5 con AESa (1.56, 3.12 y 6.25 del AESa, respectivamente, los cuales fueron muestreados los días 0,7,14 y 28 para determinar la cantidad de OPG, ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (CA). En las 10 UPC se identificaron morfométricamente 10 especies de *Eimeria*, siendo la más frecuente *E. stiedae* (8 UPC). Por reacción en cadena de la polimerasa se identificaron ocho especies: *E. stiedae* fue la más común al identificarse en 16 muestras. Los OPG fueron superiores a la media en las UPC 9 ( $241450 \pm 33$ ) y 8 ( $56817 \pm 39$ ), solo en la UPC 10 los OPG ( $25433 \pm 27$ ), se encontraron dentro de los límites de decisión. En condiciones *in vitro*, desde 50 a 12.5% el AESa mostró el 100% de inhibición de la esporulación a las 72 y 96 h (50 y 25%). Respecto a la lisis de ooquistes, el AESa mostró mejores efectos a las 96 horas desde el 50 al 0.39%, con porcentajes de lisis del 96 al 72%. El EHBg y los dos porcentajes más bajos del AESa

y AELg (12.5 y 6.25%) no presentaron citotoxicidad en los dos modelos utilizados. En el ensayo *in vivo*, el AESa (6.25%) permitió la reducción de los OPG de *Eimeria* spp. en un 92.6, 98.9 y 99.5% a los 7, 14 y 28 días, presentando mejor efecto que las sulfas los días 14 y 28. Referente a los parámetros productivos, solo la CA, se vio mejorada con los tratamientos T2, T3, T4 y T5 (3.01, 3.14, 3.07 y 3.06, respectivamente). Considerando los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que el AESa es una alternativa natural para el control de la coccidiosis en conejos, ya que inhibe la esporulación, provoca la lisis de ooquistes *in vitro* y reduce la cantidad de OPG *in vivo*, mejorando la CA.

**Palabras clave:** Conejos, *Eimeria* spp., *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the anti-*Eimeria* activity of *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum*, and *Lippia graveolens* in *Oryctolagus cuniculus*, through *in vitro* and *in vivo* studies, to propose them as alternative treatments in rabbit production units (UPC) in the Mezquital Valley, Hidalgo. Feces were collected from 10 UPCs of 320 rabbits (age 30 to 60 days). *Eimeria* species identification was performed by morphological measurement and comparison and by molecular biology. Oocysts per gram of feces (OPG) were quantified by McMaster. The hydroalcoholic extract of *Bougainvillea glabra* (EHBg) was obtained by hydroalcoholic maceration and two essential oils of *Syzygium aromaticum* (AESa) and *Lippia graveolens* (AELg) by steam distillation. *In vitro*, the exhibition of oocyst sporulation of EHBg was evaluated at concentrations of 200 to 1.56 mg/mL, while AESa and AELg were evaluated at concentrations of 50 to 0.39%. *In vitro* indirect cytotoxicity tests and with *Artemia salina* were performed for extract and both oils. For *in vivo* test, 60 rabbits (NZB X CAL) were used, managed according to NOM-062-ZOO-1999, with free access to water and food. They were randomly assigned to five treatments of 12 rabbits each: T1 (water), T2 (Sulfas 100 mg/kg of PV), T3, T4 and T5 with AESa (1.56, 3.12 and 6.25 of AESa respectively). They were sampled on days 0, 7, 14 and 28 to determine the amount of OPG, Daily Weight Gain (DWG) and Feed Conversion Ratio (FCR). In the 10 UPCs, 10 species of *Eimeria* were morphometrically identified, *E. stiedae* was the most frequent (8 UPCs). Eight species were identified by Polymerase Chain Reaction: *E. stiedae* was the most common, identified in 16 samples. The OPGs were above the average in UPC 9 ( $241450 \pm 33$ ) and 8 ( $56817 \pm 39$ ), only in UPC 10 the OPGs ( $25433 \pm 27$ ) were within the decision limits. Under *in vitro* conditions, from 50 to 12.5% AESa showed 100% inhibition of sporulation at 72 and 96 h (50 and 25%). Regarding oocyst lysis, AESa showed better effects at 96 hours from 50 to 0.39%, with 96 to 72% of lysis percentages. EHBg and the two lowest percentages of AESa and AELg (12.5 and 6.25%) did not show cytotoxicity in the two models used. In the *in vivo* trial, AESa (6.25%) allowed the reduction of *Eimeria* spp. OPG by 92.6, 98.9 and 99.5% at 7, 14



and 28 days, with a better effect than sulfa drugs on days 14 and 28. Regarding the productive parameters, only FCR was improved with treatments T2, T3, T4 and T5 (3.01, 3.14, 3.07 and 3.06, respectively). Considering the results obtained in the present experiment, concluded that AESa is a natural alternative for the control of coccidiosis in rabbits, since it inhibits sporulation, causes lysis of oocysts *in vitro* and reduces the amount of OPG *in vivo*, improving FCR.

**Keywords:** Rabbits, *Eimeria* spp., *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* and *Lippia graveolens*.

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT .....	VI
ÍNDICE .....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
ÍNDICE DE CUADROS.....	XII
GLOSARIO.....	XIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Producción cunícola en el mundo, México e Hidalgo. ....	3
2.2 Importancia de la coccidiosis en la producción cunícola.....	3
2.3. Ciclo biológico de <i>Eimeria</i> spp. ....	4
2.4. Especies de <i>Eimeria</i> en conejos reportadas en México.....	4
2.5. Fisiopatología de la infección por especies del género <i>Eimeria</i> . ....	6
2.6. Alteraciones por coccidias a nivel hepático.....	7
2.7. Estrategias de prevención y tratamiento contra especies del género <i>Eimeria</i> . ....	8
2.8. Efectos adversos del uso de productos químicos para prevenir y/o tratar las infecciones por coccidios. ....	11
2.9. Resistencia de <i>Eimeria</i> a productos químicos. ....	12
2.10. El impacto de los tratamientos convencionales en la salud humana y en el ecosistema. ....	14
2.11. Las alternativas de tratamiento. ....	15
2.12. Alternativas naturales para el control y/o tratamiento de la coccidiosis del conejo. 15	
2.13. <i>Bougainvillea glabra</i> .....	20
2.14. Propiedades de los aceites esenciales. ....	22
2.15. Orégano silvestre ( <i>Lippia graveolens</i> ). ....	23
2.16. Clavo de olor ( <i>Syzygium aromaticum</i> ). ....	26
2.16.1. Actividad antioxidante del aceite esencial de clavo. ....	26
2.16.2. Caracterización físicoquímica del aceite esencial de <i>S. aromaticum</i> . ....	26
2.16.3. Eugenol.....	27
2.16.4. Acetato de eugenilo. ....	28

2.16.5.	<i>β</i> -Cariofileno.....	28
2.16.6.	Toxicidad del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	28
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
4.	JUSTIFICACION.....	31
5.	HIPÓTESIS .....	32
6.	OBJETIVOS .....	33
5.1.	Objetivo general .....	33
5.2.	Objetivos específicos.....	33
7.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
7.1	Localización .....	34
7.2	Recolección y transporte de muestras.....	34
7.3.	Identificación morfológica de especies de <i>Eimeria</i> .....	35
7.4.	Cuantificación de ooquistes por gramo de heces (OPG).....	35
7.5.	Identificación de especies de <i>Eimeria</i> de conejos con la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) – punto final.....	36
7.5.1.	Extracción de ADN de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. ....	36
7.5.2.	Optimización de las concentraciones de los reactivos para la técnica de PCR para identificar las especies del género <i>Eimeria</i> .....	36
7.6.	Material vegetal <i>Bougainvillea glabra</i> .....	38
7.7.	Extracción de aceite esencial de <i>Lippia graveolens</i> .....	39
7.8.	Extracción de aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	39
7.9.	Prueba de inhibición de la esporulación de ooquistes de <i>Eimeria</i> .....	39
7.9.1.	Obtención y concentración de ooquistes no esporulados.....	40
7.9.2.	Pruebas de inhibición de la esporulación de ooquistes de <i>Eimeria</i> in vitro.....	40
7.9.3.	Ensayo de lisis de ooquistes de <i>Eimeria</i> con aceite de esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> in vitro.....	41
7.10.	Prueba citotoxicidad indirecta de los productos obtenidos a partir de <i>Bougainvillea glabra</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> .....	42
7.11.	Prueba de citotoxicidad con el modelo de <i>Artemia salina</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> .....	43
7.11.1.	Eclosión de <i>Artemia salina</i> .....	43
7.11.2.	Prueba de citotoxicidad con <i>Artemia salina</i> .....	43
7.12.	Evaluación in vivo del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre eliminación de ooquistes por gramo de heces y parámetros productivos.....	43
7.12.1.	Animales.....	43

7.12.2. Grupos experimentales.....	44
7.12.3. Cuantificación de ooquistes por gramo de heces (OPG).....	44
7.12.4. Alimentación de los conejos.....	44
7.12.5. Variables evaluadas durante el experimento in vivo.....	44
7.13. Análisis de datos. ....	45
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
8.1. Identificación de especies de <i>Eimeria</i> por granja de conejos en el Valle del Mezquital, Hidalgo. ....	46
8.1.1. Identificación morfológica.....	46
8.1.2. Identificación por PCR. ....	48
8.2. Recuento de ooquistes por gramo de heces de conejo en las UPC del Valle del Mezquital.....	51
8.3. Prueba de inhibición de la esporulación de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp.....	53
8.4. Lisis de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. con aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> . ....	55
8.5. Citotoxicidad indirecta de los productos obtenidos a partir de <i>Bougainvillea glabra</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> . ....	57
8.6. Citotoxicidad con el modelo de <i>Artemia salina</i> del aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> ....	59
8.7. Conteo de OPG en la prueba in vivo con una dosis alta, media y baja de aceite esencial de clavo. ....	61
9. CONCLUSIONES.....	68
10. PERSPECTIVAS .....	69
11. REFERENCIAS .....	70
12. ANEXOS .....	88
Anexo 1. Procedimiento para extraer ADN de muestras fecales, de suelo y microbianas con el Kit de minipreparación Quick-DNA™. ....	88
Anexo 2. Artículo publicado en Abanico Veterinario.....	90
Anexo 3. Publicación en memoria de III Congreso en Ciencias Veterinarias.....	91
Anexo 4. Publicación en memoria de Congreso .....	92
Anexo 5. Participación Ponente en Congreso .....	93

## ÍNDICE DE FIGURAS

Nombre de la figura	Página
Figura 1. Planta de <i>Bougainvillea glabra</i> variedad morada.	38
Figura 2. Secado de las flores de <i>Bougainvillea glabra</i> .	38
Figura 3. Obtención de aceite esencial de <i>Lippia graveolens</i> por arrastre de vapor.	39
Figura 4. Ooquistes de las diez especies de <i>Eimeria</i> recolectados de conejos domésticos en UPC del Valle del Mezquital, Hidalgo: A.) <i>E. stiedae</i> , B) <i>E. flavescens</i> , C) <i>E. intestinalis</i> , D) <i>E. magna</i> , E) <i>E. media</i> , F) <i>E. irresidua</i> , G) <i>E. piriformis</i> , H) <i>E. perforans</i> , I) <i>E. coecicola</i> , y J) <i>E. exigua</i> .	46
Figura 5. OPG de <i>Eimeria</i> spp. en 10 UPC ubicadas en el Valle del Mezquital, Hidalgo.	52
Figura 6. Prueba de citotoxicidad (DL 50 y DL 90) del AESa en <i>Artemia salina</i> .	59
Figura 7. Prueba de citotoxicidad (DL 50 y DL 90) del AELg en <i>Artemia salina</i> .	59

## ÍNDICE DE CUADROS

Nombre del cuadro	Página
Cuadro 1. Composición de la reacción para PCR para cada una de las especies de <i>Eimeria</i> .	37
Cuadro 2. Condiciones de amplificación de especies de <i>Eimeria</i> en PCR-punto final.	37
Cuadro 3. Concentraciones y porcentajes de uso de los tres tratamientos utilizados para la prueba de inhibición de la esporulación.	40
Cuadro 4. Porcentajes de aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> evaluados sobre la lisis de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp., <i>in vitro</i> .	41
Cuadro 5. Concentración y porcentaje de <i>Bougainvillea glabra</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> utilizados para la prueba de citotoxicidad indirecta.	42
Cuadro 6. Porcentaje de especies del género <i>Eimeria</i> en UPC del Valle del Mezquital, Hidalgo.	47
Cuadro 7. Identificación molecular de especies del género <i>Eimeria</i> en UPC del Valle del Mezquital, Hidalgo.	50
Cuadro 8. Porcentaje de inhibición de la esporulación de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. con <i>Bougainvillea glabra</i> , <i>Lippia graveolens</i> y <i>Syzygium aromaticum</i> .	54
Cuadro 9. Porcentaje de lisis de ooquistes de <i>Eimeria</i> con los diferentes tratamientos, en cuatro tiempos.	56
Cuadro 10. Actividad hemolítica indirecta de <i>Bougainvillea glabra</i> , <i>Syzygium aromaticum</i> y <i>Lippia graveolens</i> .	58
Cuadro 11. Conteo y porcentaje de reducción de ooquiste por gramo de heces de <i>Eimeria</i> spp. (OPG) con el uso aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> en conejos naturalmente infectados.	64
Cuadro 12. Consumo de agua, consumo de alimento, GDPJ y conversión alimenticia de conejos que recibieron dosis baja, media y alta de AESa.	66

## GLOSARIO

**Protozoario:** es un organismo unicelular eucariota; es decir, posee núcleo definido y orgánulos como mitocondrias. Estos organismos carecen de pared celular, son heterótrofos (incapaces de realizar fotosíntesis) y tienen capacidad de fagocitar; es decir, engullir partículas del medio. Muchos protozoarios son móviles, desplazándose mediante cilios, flagelos o pseudópodos.

**Ooquiste:** quiste que forma el cigoto de un esporozoo.

**Coccidio:** parásito microscópico, protozoo del orden Coccidea que provoca enfermedades intestinales en aves y mamíferos.

**Hospedero:** organismo que alberga a otro en su interior o lo porta sobre sí, ya sea un parásito, un comensal o un mutualista.

**Patógeno:** que origina y provoca una enfermedad.

**Aceites esenciales:** son mezclas de sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal (almizcle, civeta, ámbar gris). Son intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles (se evaporan rápidamente) y livianos (poco densos).

**Compuesto bioactivo:** sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud. Incluyen el licopeno, el resveratrol, los lignanos, los taninos y los indoles.

**Fitoquímico:** son sustancias químicas que están presentes de manera natural en los alimentos de origen vegetal. Se encuentran principalmente en frutas y verduras y están asociados con beneficios para la salud, como la reducción del riesgo de enfermedades crónicas.

**Extractos vegetales:** son sustancias obtenidas de las plantas por medio de varios métodos de extracción. Son la esencia concentrada de una planta, rica en compuestos

bioactivos, que pueden incluir antioxidantes, vitaminas, minerales y otros nutrientes esenciales.

**Extractos hidroalcohólicos:** son soluciones líquidas que se obtienen al macerar partes de plantas (como raíces, hojas, flores o frutos) en una mezcla de agua y alcohol. Este proceso permite extraer los principios activos de las plantas, que pueden tener propiedades medicinales y terapéuticas.

**Anticoccidial:** es un compuesto que previene la enfermedad de la coccidiosis al inhibir o matar al parásito protozoario *Eimeria* durante su ciclo de vida. Se clasifican en dos tipos: coccidiostáticos, que detienen el desarrollo de los parásitos, y coccidicidas, que los destruyen irreversiblemente.

**Antihelmíntico:** es el término médico utilizado para designar a los fármacos cuya función es eliminar o inhibir el crecimiento y la reproducción de helmintos; es decir, gusanos parásitos que infectan el organismo.

**Esporoblasto:** toda célula que da lugar a un esporozoíto o espora durante la fase de reproducción sexual del ciclo vital de un esporozoario; en resumen, las células resultantes de la fisión múltiple del cigoto enquistado del parásito del paludismo, o *Plasmodium*, a partir de las cuales se desarrollan los esporozoítos.

**Esporoquiste:** un tipo de quiste que contiene esporozoítos, que son parásitos que viven dentro de las células de sus hospederos. Estos parásitos, como los esporozoos, pueden ser obligados y presentan un ciclo de vida complejo que incluye fases asexuales y sexuales. Los esporozoítos se encierran en un esporoquiste para facilitar su dispersión y movilidad entre hospederos.

**Merozoito:** es una etapa del ciclo de vida de un parásito protozoario, resultado de la reproducción asexual por división múltiple (merogonia o esquizogonia). Durante la merogonia, el núcleo se divide varias veces y cada fragmento, al romperse la célula, adquiere una porción del citoplasma. La célula madre se denomina meronte (o esquizonte) y las células hijas, merozoítos. Es característica de muchos apicomplejos.

**Fisión simple:** se producen dos individuos.



**Binaria:** resultan dos células de tamaño parecido.

**Gemación:** una de las células es considerablemente mayor que la otra.

**Fisión múltiple (pluripartición):** se producen varios individuos.

**Esquizogonia:** división múltiple común.

**Gametogonia:** fisión múltiple relacionada con la formación de gametos.

**Esporogonia:** fisión múltiple relacionada con la formación de esporas. Precedida por la unión de gametos.

**Apicomplexa:** con complejo apical; sin cilios ni flagelos (excepto algunos microgametos); forman quistes y son endoparásitos.

**Merontes:** un meronte es la célula madre de un parásito protozario, mientras que los merozoítos son las células hijas que se desarrollan a partir de la célula madre. Este proceso de reproducción asexual se conoce como merogonia, donde el núcleo se divide varias veces y cada fragmento se convierte en un merozoíto.

**Multirresistencia:** en el contexto de protozoarios se refiere a la capacidad de un microorganismo para resistir a múltiples fármacos. Se considera que un microorganismo es multirresistente (MDR) si presenta resistencia adquirida *in vitro* a más de un fármaco.

**Termociclador:** es un aparato utilizado en biología molecular que permite realizar ciclos de temperatura necesarios para la amplificación de ADN mediante la técnica de la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). Este equipo es esencial en laboratorios para obtener múltiples copias de segmentos específicos de ADN, facilitando así diversas aplicaciones en investigación y diagnóstico.

**Nanodrop:** espectrofotómetro diseñado para medir la concentración y la pureza de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas en volúmenes de muestra muy pequeños.

**Electroforesis:** técnica de laboratorio que se usa para separar moléculas de ADN, ARN o proteínas en función de su tamaño y carga eléctrica. Se usa una corriente eléctrica para mover las moléculas a través de un gel o de otra matriz. Los poros del

gel o la matriz actúan como un tamiz, lo cual permite que las moléculas más pequeñas se muevan más rápido que las moléculas más grandes. Para determinar el tamaño de las moléculas de una muestra, se usan estándares de tamaños conocidos que se separan en el mismo gel y luego se comparan con la muestra.

**Amplificación:** la amplificación en PCR se refiere al proceso mediante el cual se duplican millones de copias idénticas de un fragmento específico de ADN. Utiliza secuencias cortas de ADN llamadas cebadores para seleccionar y amplificar la parte del genoma deseada. La amplificación es fundamental en diversas aplicaciones, incluyendo el diagnóstico de enfermedades y la investigación genética.

**pb:** los pares de bases son las unidades más pequeñas que conforman el ADN y el ARN. Estos pares están compuestos por dos bases nitrogenadas que se unen a través de enlaces débiles: la Adenina (A) se une a la Timina (T) en el ADN y a la Uracilo (U) en el ARN, mientras que la Citosina (C) se une a la Guanina (G).

**Citotoxicidad:** es la capacidad de una sustancia, célula o mecanismo inmunológico para dañar o destruir células vivas. Efecto perjudicial de agentes químicos, biológicos o físicos sobre células humanas o animales, ya sea en el contexto de enfermedades, tratamientos farmacológicos o estudios experimentales.

**Ganancia diaria de peso:** indica la ganancia de peso de un animal al día. Se obtiene dividiendo lo que ha crecido un animal entre el tiempo que ha tardado.

**Conversión alimenticia:** en animales se refiere a la transformación del alimento consumido en masa muscular o productos de valor comercial como carne, leche o huevos. Se expresa comúnmente como la relación entre la cantidad de alimento consumido y la ganancia de peso vivo lograda durante un período de prueba.

**Eficiencia alimenticia:** se define como la capacidad de un animal para convertir el alimento consumido en producto (carne o leche). Se expresa como la relación entre la cantidad de alimento consumido y la cantidad de producto obtenido.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los conejos son miembros de la familia *Leporidae*, y se encuentran en condición silvestre en la mayor parte del mundo, son criados en sistemas de producción comercial, a pequeña y gran escala. Se comercializa entero o en canales, aunque ha aumentado el interés por los cortes y la carne picada. La carne tiene un alto valor nutritivo; sin embargo, en los países desarrollados se considera para uso rural o para grupos étnicos, a pesar de sus destacadas propiedades nutricionales (Dalle, 2014).

Los conejos son susceptibles a enfermedades que pueden reducir su productividad, ocasionando graves pérdidas económicas, tal es el caso de la coccidiosis; enfermedad provocada por protozoarios del género *Eimeria* spp., que afecta a los animales especialmente después del destete (Abd El-Ghany, 2020). A pesar de su alta prevalencia y efectos sobre el bienestar, salud de los gazapos y las pérdidas económicas que ocasiona, se sabe poco sobre su biología (Burrell *et al.*, 2020).

Los ooquistes se propagan a través de animales enfermos, parasitando los conductos hepato biliares o en el epitelio intestinal (Cui *et al.*, 2017), se alojan en las células durante largo tiempo (Shkromada *et al.*, 2019), afectando el equilibrio microbiano y bioquímico intestinal (Yuan *et al.*, 2022). La presencia y tipo de lesiones depende de la especie de *Eimeria* que genera la infección (López *et al.*, 2020).

La asociación de *Eimeria* spp. con otros microorganismos patógenos y factores de manejo en la etapa post destete, desencadenan procesos diarreicos severos que pueden causar mortalidades superiores al 85% (El-Ashram *et al.*, 2020). El daño en el aparato digestivo es severo y similar al observado en la enteropatía mucoide (Tzika *et al.*, 2017). Los conejos reproductores son portadores asintomáticos de coccidios y pueden excretar ooquistes en cualquier tiempo durante su ciclo reproductivo, con una excreción mayor durante la gestación y en el pico de producción de leche, siendo una fuente potencial de infección para los gazapos (Scialfa *et al.*, 2021).

Los animales infectados presentan anorexia, diarrea marrón, emaciación, pelo hirsuto, abdomen pendulante y distendido, debilidad y muerte. En la necropsia se observa aumento en el tamaño y peso del hígado debido a la proliferación excesiva del epitelio

del conducto biliar, lo que resulta en hepatomegalia (abdomen pendulante y distendido), característica de esta enfermedad (Naimi *et al.*, 2012), dicho patógeno también afecta el consumo de alimento, la ganancia de peso, eficiencia alimenticia y la velocidad de crecimiento (Scialfa *et al.*, 2021).

La coccidiosis de forma tradicional se controla y trata con fármacos de origen sintético con potencial actividad coccidicida y coccidiostática; sin embargo, existen limitaciones respecto a su uso en animales en engorda por los residuos en la carne (El-Ashram *et al.*, 2019).

El daño de la coccidiosis en la mucosa intestinal dificulta la absorción de nutrientes y aumenta la mortalidad, afectando el desarrollo del animal. A pesar de la eficacia de los medicamentos anticoccidiales tradicionales, se ha impulsado la investigación en medicina herbal como una alternativa más segura para ofrecer al consumidor productos orgánicos, que no promuevan la resistencia a los medicamentos y sin consecuencias ambientales (Sweidan *et al.*, 2025).

Es por ello, que los productos de origen vegetal obtenidos de diversas plantas pueden ser posibles alternativas de control y/o tratamiento a las infecciones por *Eimeria* en conejos (Valdez *et al.*, 2023), con menor posibilidad de promover la resistencia antimicrobiana (Shah *et al.*, 2024).

El potencial efecto anti-*Eimeria*, se asocia a componentes bioactivos como el ácido gálico, flavonoides, eugenol y acetato de eugenol presentes en el aceite esencial de clavo, cuya actividad antiparasitaria ha sido documentada (Kumar *et al.*, 2022). Por otra parte, el carvacrol, el timol y el  $\beta$ -cariofileno contenidos en el aceite esencial de *Lippia graveolens* han presentado propiedades anti-protozo en ensayos *in vitro* (Quintanilla *et al.*, 2020; Bautista *et al.*, 2021). De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar la actividad anti-*Eimeria* de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus*, para proponerlos como tratamientos alternativos, en unidades de producción cunícola del Valle del Mezquital, Hidalgo.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Producción cunícola en el mundo, México e Hidalgo.**

A nivel mundial, en el 2023, China fue el mayor productor de carne de conejo, seguido por Corea del Norte, Egipto, Francia, Rusia, Benín, Ucrania, Argelia, Sierra Leona y México. China registró el 44.28% del total de la producción de carne de conejo, alcanzando 262.24 mil toneladas, México ocupa el lugar 10 a nivel mundial con 4047 toneladas (Tridge, 2025).

La carne de conejo es el principal producto del sector cunícola, de este cárnico de alta demanda y calidad se obtiene el jamón, salchicha, salami, chorizo, entre otros alimentos. En México, se estima que su producción nacional es superior a las 15 mil toneladas. Las principales entidades productoras son: Puebla, Tlaxcala, Morelos, Ciudad de México, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Jalisco y el Estado de México (SADER, 2025).

### **2.2 Importancia de la coccidiosis en la producción cunícola.**

Una de las enfermedades que más afecta a la producción es la coccidiosis causada por el parásito protozario *Eimeria* spp. (Hamid *et al.*, 2019). La coccidiosis es la enfermedad parasitaria más común en conejos y puede ser responsable de pérdidas económicas severas en granjas de engorde, así, por ejemplo, se calculó una prevalencia de *Eimeria* spp. en la región sureste del Estado de México de 48.3%, con más conejos infectados en el invierno (88%) y de un 5% durante la primavera (Ladrón de Guevara *et al.*, 2019). Los conejos son muy susceptibles a la coccidiosis, especialmente después del destete (Abd El-Ghany, 2021).

Es importante establecer programas de educación para la salud encaminados hacia los productores, quienes en su gran mayoría tienen granjas de tipo de subsistencia conocidas como de traspatio, las cuales presentan pobres condiciones de higiene, lo que favorece la presentación de esta enfermedad, esto adicionado a que cuentan con pocas medidas de prevención, permitiría corregir las deficiencias sanitarias e

incrementar sus ganancias (Ladrón de Guevara *et al.*, 2015). La perspectiva de que la producción de conejo se industrialice parece ser prometedora debido a que el conejo es altamente productivo y tiene un ciclo de reproducción e intervalo generacional corto (Hamid *et al.*, 2019).

### **2.3. Ciclo biológico de *Eimeria* spp.**

El ciclo de vida de *Eimeria* es monoxenóneo, lo que conduce al desarrollo de sucesivas etapas de protozoos dentro de las células epiteliales del intestino o de los conductos biliares del hospedero, hasta su ruptura (Lopes y Simões, 2024). Ocurre tanto en el ambiente externo como dentro del hospedero. Los ooquistes son liberados en forma no esporulada y sufre esporogonia por división meiótica en cuatro esporoblastos, cada uno de los cuales se desarrolla aún más en un esporoquiste.

Los ooquistes esporulados son consumidos por los conejos y los esporozoitos liberados penetran las células epiteliales del intestino delgado, invaden las células epiteliales del hígado y de los conductos biliares y experimentan merogonía. Los merozoítos fusiformes se liberan en las células epiteliales, con crecimiento similar a su progenitor. En pocos días se producen fisiones, formados por gametocitos masculinos y femeninos. Los gametocitos abandonan la célula huésped y se unen (fertilización). La reproducción (gametogonía) da lugar a ooquistes no esporulados, y son liberados por las heces, el ciclo completo dura aproximadamente 7 días (Xie *et al.*, 2021).

En la reproducción tanto las divisiones celulares mitóticas (asexuales) como meióticas (sexuales) producen nuevas células individuales. La fertilización de un macrogameto por un microgameto da como resultado la formación de un cigoto que sufre meiosis, formando así una nueva generación de etapas asexuales. Al abandonar al hospedero, los ooquistes se transmiten a un nuevo hospedero (Cruz *et al.*, 2021).

### **2.4. Especies de *Eimeria* en conejos reportadas en México.**

El género *Eimeria* pertenece al filo Apicomplexa causante de coccidiosis intestinal y hepática en conejos (Lopes y Simões, 2024). Se han reportado 11 especies que se

alojan en diferentes partes del intestino de los conejos (duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon y recto) y en el hígado (Rabie *et al.*, 2022). La infección puede ser con una o varias especies de *Eimeria* (Ping *et al.*, 2017). Al respecto, Balicka *et al.* (2020), registraron la infección por coccidios de nueve especies intestinales y una hepática en diferentes granjas de conejo.

De las especies de coccidias que afectan a los conejos, *Eimeria stiedae* es el principal agente causal de la coccidiosis hepática. Enfermedad contagiosa y letal, los conejos afectados muestran una disminución en la tasa de crecimiento, anorexia, debilidad, diarrea y un pelaje áspero. En la necropsia, se observa hepatomegalia con la presencia de nódulos discretos de color blanco amarillento en la superficie del hígado (Sivajothi *et al.*, 2016). Además, ejerce efectos patológicos sobre la integridad de los hepatocitos y la función hepática, parasita los conductos biliares (Xiao *et al.*, 2022). Es común observar fibrosis y edema alrededor de los conductos biliares e hiperplasia de las células epiteliales (Katsui *et al.*, 2022).

Los coccidios del conejo parasitan distintas partes del intestino y en diferentes profundidades de la mucosa. Cada especie habita en diferentes “nichos” (Pakandl, 2009). La patogenicidad está relacionada, al menos parcialmente, con la localización de los coccidios. Los coccidios de conejo más patógenos *E. intestinalis* y *E. flavescens*, parasitan las criptas de la parte inferior del intestino delgado o del ciego, respectivamente (Norton *et al.*, 1979).

***E. intestinalis*:** causa pérdida de peso, diarrea e incluso la muerte (He *et al.*, 2023). La infección induce inflamación y afecta la homeostasis intestinal en los sitios parasitados, lo que provoca cambios significativos en la microbiota y en los metabolitos. En conejos inoculados con ooquistes de *E. intestinalis*, todo el yeyuno fue parasitado en diferentes etapas del ciclo de vida, causando pérdida extensa de células caliciformes (Yuan *et al.*, 2022).

***E. flavescens*:** en la fase patógena infectan las células madre de las criptas cecales. En infecciones graves, provoca que las criptas no puedan mantener la integridad del epitelio superficial, dañando la mucosa cecal. La destrucción de las células de las criptas es crucial en la gravedad de las lesiones (Gregory, 1986).

Rabie *et al.* (2022), examinaron morfológica y morfométricamente las 11 especies de *Eimeria* provenientes de diferentes partes del intestino de los conejos (duodeno, íleon, ciego, colon y recto): reportan la presencia de *Eimeria coecicola* (8%), *E. exigua* (65%), *E. flavescens* (30%), *E. irresidua* (35%), *E. magna* (10%), *E. media* (25%), *E. perforans* (63%), *E. intestinalis* (50%), *E. stiedae* (2%), *E. vej dovskyi* (5%) y *E. piriformis* (3%).

En estudios realizados por Ladrón de Guevara *et al.* (2019), mencionan la presencia de 11 especies de *Eimeria* en granjas de conejos del Estado de México, los clasifican por patogenicidad alta (*E. intestinalis* y *E. flavescens*), media alta (*E. stiedae*), media (*E. media*, *E. magna*, *E. irresidua* y *E. piriformis*), leve (*E. vej dovskyi*, *E. perforans* y *E. exigua*) y *E. coecicola* que según los autores es la que menos daño causa.

## **2.5. Fisiopatología de la infección por especies del género *Eimeria*.**

La transmisión de coccidios aumenta cuando los conejos se agrupan en grandes cantidades debido al ciclo de vida rápido de las especies de *Eimeria*. En estas circunstancias, los coccidios causan enfermedad hepática y/o intestinal. En la coccidiosis hepática, el hígado está agrandado debido a la hiperplasia papilar del epitelio de los conductos biliares (y ocasionalmente de la vesícula biliar), con diferentes etapas de desarrollo de coccidios dentro de los conductos biliares. En casos agudos pueden mostrar numerosos abscesos hepáticos miliares. Los casos crónicos desarrollan una respuesta fibrótica alrededor de los conductos afectados (Mayer y Donnelly, 2013).

La coccidiosis intestinal afecta las células epiteliales intestinales del hospedero, hasta su ruptura, causando lesiones en el tracto gastrointestinal. Estos protozoos se caracterizan por diferentes grados de patogenicidad y virulencia, así como por su afinidad por partes específicas del intestino del conejo. Es más importante en entornos densamente poblados, granjas comerciales/industriales, pequeñas granjas tradicionales, instalaciones de investigación y también conejos de compañía. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad incluyen diarrea, anorexia, pérdida de peso y muerte (Lopes *et al.*, 2024).



Además, en la coccidiosis intestinal, se observa una respuesta de células inflamatorias mixtas en la mucosa intestinal, con áreas multifocales de necrosis intestinal, ulceración, edema y hemorragia. Dependiendo de la especie de *Eimeria*, los esporozoítos pueden encontrarse en los ganglios linfáticos mesentéricos y el bazo (Mayer y Donnelly, 2013).

La alteración del entorno intestinal debido a la infección por *Eimeria* spp. provoca un desequilibrio en la homeostasis, lo que impulsa el aumento de patógenos como las especies de *Clostridium*. La infección por coccidiosis afecta la composición y la integridad de la microbiota, provocando una elevada susceptibilidad a enfermedades que amenazan la salud y la producción (Madlala *et al.*, 2021). Además, ocasiona daño mecánico (deterioro de las uniones estrechas y apoptosis de las células epiteliales intestinales), químico (aumento de la producción de moco y disminución de los péptidos antimicrobianos), y alteraciones del sistema inmune, lo que genera condiciones adecuadas para la proliferación de bacterias patógenas (Lu *et al.*, 2021).

La microbiota del tracto gastrointestinal juega un papel central en la salud y el metabolismo del hospedero, mejoran el sistema inmunológico y la absorción de nutrientes. Durante el ciclo biológico de los coccidios intestinales, se llevan a cabo procesos de adhesión, invasión y replicación que desencadenan el cuadro clínico en los hospederos (García y Rivera, 2017).

Las lesiones en el tracto gastrointestinal del hospedero generan mala absorción de nutrientes, baja ganancia de peso y con frecuencia la muerte (Lee *et al.*, 2022). La infección por coccidiosis representan una grave amenaza para la salud y la productividad (Madlala *et al.*, 2021). La infección proporciona una ventaja de crecimiento para *Clostridium perfringens*, lo que con frecuencia conduce a enteritis necrótica (Pietruska *et al.*, 2023).

## **2.6. Alteraciones por coccidias a nivel hepático.**

La coccidiosis hepática afecta principalmente al hígado, el ciclo de vida de *E. stiedae* incluye la ingestión de ooquistes de ambientes contaminados, la invasión de la mucosa intestinal y la migración al hígado a través del torrente sanguíneo. En el hígado, los

parásitos colonizan los conductos biliares, causando inflamación, colangitis e hiperplasia biliar. Los signos clínicos de la coccidiosis hepática incluyen hiporexia o anorexia, pérdida de peso, diarrea, distensión abdominal e ictericia. El hígado puede agrandarse con nódulos blancos distintivos en la necropsia (Lopes *et al.*, 2024).

La coccidiosis en poco tiempo se torna crónica y provoca la muerte del animal (en promedio a los 10 días), antecedida por diarrea severa con moco y sangre, así como de estreñimiento. A la necropsia de animales infectados con historia clínica de diarrea y muerte súbita se observa el intestino delgado distendido, el colon con alimento no digerido, hígado con múltiples nódulos de 1 a 3 mm de diámetro de color blanco amarillento, ligeramente expuestos en la superficie hepática y el parénquima presenta congestión severa y edema (Pérez y Betancourt, 2011).

## **2.7. Estrategias de prevención y tratamiento contra especies del género *Eimeria*.**

La coccidiosis representa una amenaza significativa, siendo los antibióticos y desinfectantes sintéticos las principales opciones para su control (Ristanti *et al.*, 2024). Puede controlarse mediante el empleo de compuestos químicos anticoccidiales. El ácido acético, la solución de cresol y la mezcla de benceno+xileno suprimen la esporulación de ooquistes de *E. tenella* (You, 2014).

En el trabajo realizado por El-Sherry *et al.* (2021), al evaluar el efecto de cuatro desinfectantes (compuestos de amonio cuaternario, clorocresol, glutaraldehído y kilcox) contra *E. tenella*, observaron que los desinfectantes más eficaces contra los ooquistes no esporulados y esporulados fueron kilcox, seguido de clorocresol, mientras que los compuestos de amonio cuaternario y el glutaraldehído fueron menos efectivos. La inhibición de la esporulación por kilcox alcanzó el 100 % en ooquistes no esporulados, y reportaron un efecto destructivo del 99 % en ooquistes esporulados.

Según Noack, *et al.* (2019), los fármacos actualmente disponibles para el control de la coccidiosis son antibióticos polietierionóforos que se derivan de productos de fermentación o compuestos sintéticos, producidos mediante síntesis química, se clasifican en:

1. Antibióticos polietér o ionóforos, se producen en la fermentación de *Streptomyces* spp. o *Actinomadura* spp. son productos naturales complejos que se conocen por transportar diversos cationes que alteran los gradientes iónicos de las membranas biológicas, como las de las bacterias y parásitos (*Eimeria* spp.). Los ionóforos se agrupan por funciones similares, a pesar de que difieren en su estructura, productos como monensina, narasina, salinomicina, maduramicina, semduramicina y lasalocida se encuentran en esta clasificación (Wollesen *et al.*, 2023).

2. Compuestos sintéticos producidos por síntesis química, con un modo de acción específico: inhibición de la respiración mitocondrial del parásito (decoquinato, clopidol), inhibición de la vía del ácido fólico (sulfonamidas), inhibición competitiva de la captación de tiamina (amprolio) y con modo de acción desconocido, por ejemplo, diclazuril, halofuginona, nicarbazina y robenidina (Noack *et al.*, 2019).

Los anticoccidiales más utilizados en el tratamiento de la coccidiosis en conejos son sulfacloropiridazina sódica-trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol, amprolio y diclazurilo (diclosol 1%), como el medicamento estándar en infecciones de coccidias. El diclazuril y la sulfacloro pirazina son eficientes en el tratamiento de la coccidiosis clínica en conejos a las dosis recomendadas. Se logran mejores resultados con un tratamiento al inicio de la enfermedad. Estos medicamentos deben usarse de manera responsable, en combinación con estrictas medidas de bioseguridad para prevenir el desarrollo de resistencia a los medicamentos (Ogolla *et al.*, 2019).

La química del grupo funcional sulfonamida (o sulfonamida) (SN) forma la base de varios grupos de fármacos. La sulfametazina (SMZ) es un fármaco sulfonamida comúnmente usado en Medicina Veterinaria que actúa como un compuesto antibacteriano para tratar enfermedades del ganado, como infecciones del tracto gastrointestinal y respiratorio. El fármaco actúa inhibiendo la síntesis de ADN bacteriano (Ovung y Bhattacharyya, 2021).

Las sulfonamidas son antagonistas y análogos estructurales del ácido p-aminobenzoico (PABA) en la síntesis del ácido fólico, esencial para la producción posterior de ADN en las bacterias (Zessel *et al.*, 2014). Sin embargo, el uso rutinario de antibióticos tiene efectos residuales nocivos para la salud humana, y su uso

extensivo, promueven la resistencia a los medicamentos anticoccidiales en las especies de *Eimeria* han suscitado preocupación (Ahmad *et al.*, 2024).

Los probióticos son suplementos alimenticios con microorganismos vivos que promueven el equilibrio de la microbioma intestinal del animal (El-Saadony *et al.*, 2022), Además, inhibe la expansión de colonias de patógenos en pollos (Gadde *et al.*, 2017). Mejorando así la resistencia del hospedador a los patógenos intestinales (Talebi *et al.*, 2008).

Los probióticos mantienen un equilibrio saludable de bacterias mediante exclusión competitiva y antagonismo, promueven la maduración e integridad intestinal, modulan la inmunidad y previenen la inflamación, alteran el metabolismo aumentando la actividad de las enzimas digestivas, disminuyendo la actividad de las enzimas bacterianas y la producción de amoníaco, mejoran la ingesta y digestión de alimentos, neutralizan las enterotoxinas y estimulan el sistema inmunológico (Sugiharto, 2016).

Los anticoccidiales suelen mezclarse en pellets de alimentación, las sulfonamidas o el toltrazuril se aplican en el agua de bebida, y puede ser práctico para pequeñas granjas de conejos. Algunos de los medicamentos como el diclazuril y toltrazuril se utilizan para la prevención, mientras que las sulfonamidas se utilizan principalmente para el tratamiento de brotes de coccidiosis. Sin embargo, el tratamiento generalmente no es muy exitoso cuando ya aparecen los signos clínicos de coccidiosis (Pakandl, 2009). Además, el uso inadecuado de estos fármacos, están asociados con resistencia a los fármacos y residuos. El control inmunológico podría ser una alternativa potencial (He *et al.*, 2023).

Algunos extractos de plantas tienen efectos benéficos sobre el crecimiento y como estimulantes fisiológicos que mejoran el rendimiento y la salud. La mayoría de ellos mejoran la digestibilidad y absorción de nutrientes (Abdelsalam y Fathi, 2023). Los fito-compuestos pueden inhibir la multiplicación de *Eimeria*, promover el crecimiento de bacterias beneficiosas y/o fortalecer la inmunidad en el intestino de las aves de corral (Muthamilselvan *et al.*, 2016).

Para prevenir la aparición de infecciones por coccidios se recomienda utilizar instalaciones grandes, secas, bien iluminadas y con acceso al sol (Pilarczyk *et al.*,

2020). Se puede mejorar el control mediante una mejor educación y manejo de los posibles factores de riesgo, por ejemplo: temperatura, humedad, acumulación de ooquistes esporulados en la cama y uso rotativo de quimio profilácticos para reducir la resistencia (Attree *et al.*, 2021).

Se deben seguir las medidas adecuadas de manejo, así como del uso adecuado de fármacos anticoccidiales tanto para la profilaxis como para el tratamiento (Noack *et al.*, 2019). Los anticoccidiales son indispensables para controlar las infecciones parasitarias en los animales interfiriendo con las diferentes etapas del ciclo de vida del parásito (Felici *et al.*, 2024). Sin embargo, los residuos de coccidiostatos en la carne u otros tejidos, utilizados para el tratamiento, son potencialmente peligrosos para la salud humana (Rybicki, 2021). Además, se asocian con resistencia a fármacos (He *et al.*, 2023).

En tanto que los procedimientos de manejo que involucren la rotación de combinaciones de medicamentos con vacunas, es deseable por la restauración de la sensibilidad a los medicamentos, donde está presente la resistencia a los medicamentos y podría contribuir al control sostenible de la coccidiosis (Chapman y Rathinam, 2022). El uso de vacunas recombinantes y varios aditivos alimentarios inmunomoduladores en la dieta, pueden mejorar la defensa del hospedero contra el parasitismo intracelular, y reducir el daño intestinal debido a las respuestas inflamatorias inducidas por los parásitos (Lee *et al.*, 2022).

## **2.8. Efectos adversos del uso de productos químicos para prevenir y/o tratar las infecciones por coccidios.**

Desde finales de la década de 1990, se han notificado residuos de coccidiostáticos en la carne en varios países, esto ha impulsado la investigación y la vigilancia de estos residuos en los alimentos (Clarke *et al.*, 2014). Los medicamentos anticoccidiales han demostrado su eficacia para frenar la coccidiosis, pero presentan inconvenientes como el desarrollo de resistencia y los residuos de medicamentos en la carne (Madlala *et al.*, 2021; Xiao *et al.*, 2022).

El uso de coccidiostatos ha aumentado sin ningún requisito de prescripción Veterinaria, por lo que la presencia de residuos de productos veterinarios y contaminantes químicos en la industria alimentaria implica un riesgo para la salud pública (Martins *et al.*, 2022). Los coccidiostatos se añaden al alimento en diferentes niveles: 100-125 mg/kg (monensina), 75-125 mg/kg (lasalocid), 60-70 mg/kg (salinomycin), 5-6 mg/kg (maduramicina), 40-50 mg/kg (narasina), 40-50 mg/kg (nicarbazina), 30-40 mg/kg (robenidina), 1 mg/kg (diclazuril). En pollos de engorda el período de retirada de coccidiostatos es de 3 a 5 días antes del sacrificio (Official Gazette RS No. 4/2010, 113/2012, 27/2014, 54/2017).

En muestras analizadas en Italia para identificar residuos de 11 coccidiostatos en carne y huevo, las muestras dieron positivas en 34.7% en tejidos animales, mientras que el 16% de los huevos fueron positivos, reportándose una concentración de 2.4 µg/kg a 1002 µg/kg (Roila *et al.*, 2019).

## **2.9. Resistencia de *Eimeria* a productos químicos.**

Las coccidias que han desarrollado resistencia contra la mayoría de los anticoccidiales comúnmente utilizados, debido al uso masivo de fármacos químicos, ha motivado a diversos grupos de investigación a buscar alternativas de prevención y tratamiento. Por ejemplo, los tratamientos basados en la inmunización, uso de aditivos alimentarios inmunomoduladores y las vacunas recombinantes, pueden ayudar al hospedero a reducir las reacciones inflamatorias y protegerse de los parásitos (El-Saadony *et al.*, 2025).

Los productos actualmente disponibles para el control de la coccidiosis son antibióticos, ionóforos de polieter, derivados de productos de fermentación, o compuestos sintéticos producidos mediante síntesis química (Noack *et al.*, 2019). Los coccidiostatos son un grupo de fármacos veterinarios, cuyos residuos en la carne u otros tejidos comestibles, son potencialmente peligrosos para la salud humana (Rybicki, 2021).

Los coccidiostatos ionóforos son muy efectivos en el control de la coccidiosis; es más estable y completo que el control ofrecido por una combinación de vacuna y el uso de

coccidiostatos químicos. Esto se debe a la actividad intraluminal de los ionóforos contra los esporozoítos coccidiales y a que su modo de acción físico hace que la tolerancia a los ionóforos por parte del parásito coccidial se desarrolle muy lentamente (Simjee y Tice, 2023).

Arabkhazaeli *et al.* (2013), investigaron la resistencia de los anticoccidiales diclazuril, amprolio+etopabato y salinomicina, frente a tres aislamientos mixtos de *Eimeria* de pollos. Según sus resultados, ninguno de los aislamientos de campo fue completamente sensible a los anticoccidiales seleccionados. Todos los aislamientos mostraron sensibilidad reducida/resistencia parcial a la salinomicina.

Simjee y Tice, (2023), evidenciaron resistencia a amprolio+etopabato y registraron resistencia parcial a completa para diclazuril. El mecanismo de resistencia se ha fundamentado en el descubrimiento de genes, ahora llamados NarAB, que parecen producir CIM (concentraciones inhibitorias mínimas) elevadas de los ionóforos narasina, salinomicina y maduramicina, y que estos están relacionados con genes responsables de la resistencia a antibióticos.

Además, se ha documentado resistencia a todos los medicamentos actualmente utilizados, y por lo tanto, es indispensable descubrir nuevos fármacos con modos de acción únicos si la quimioterapia va a seguir siendo el principal medio para controlar esta enfermedad. Además, se requieren nuevas estrategias para el descubrimiento de fármacos, incluyendo cribado de alto rendimiento, biología estructural y la elucidación del modo de acción de los compuestos activos (Noack *et al.*, 2019).

Combinar enfoques basados en objetivos con pruebas *in vitro* e *in vivo* en parásitos y química medicinal genera una visión integral de la correlación genotipo-fenotipo-compuesto, lo que podría permitir el diseño de nuevos candidatos a fármacos. Desafortunadamente, la resistencia se desarrolla rápidamente tras la introducción de fármacos en el campo. Para minimizar la incidencia de resistencia, el enfoque rotacional del coccidiostato puede ser una alternativa para que los productores controlen la coccidiosis y fomenten una producción sostenible (Rahman *et al.*, 2025).

También se han probado anticoccidiales naturales, como probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y aceites esenciales para contrarrestar la resistencia (El-Saadony *et*

*al.*, 2025). El uso de prebióticos como tratamiento profiláctico disminuye los efectos adversos causados por *Eimeria* spp. al disminuir el conteo de ooquistes en las heces, además de mantener el peso corporal y reducir las lesiones ocasionadas por los parásitos en los tejidos intestinales (El-Ashram *et al.*, 2019).

La multirresistencia de estos parásitos a los fármacos y los efectos secundarios han impulsado la investigación sobre medicinas alternativas para el tratamiento de la coccidiosis (Murshed *et al.*, 2022; Ranasinghe *et al.*, 2023).

## **2.10. El impacto de los tratamientos convencionales en la salud humana y en el ecosistema.**

Las causas más comunes de residuos de fármacos en alimentos de origen animal son la violación de los períodos de retirada, la sobredosis y el uso de vías de administración incorrectas. Las concentraciones generalmente son más altas en tejidos de almacenamiento como la grasa corporal o en órganos que los metabolizan y excretan activamente. La presencia de estos fármacos o sus metabolitos en los alimentos puede causar reacciones alérgicas en las personas y resistencia a microorganismos patógenos. Los efectos adversos potenciales de los residuos en los productos de origen animal son: cancerígenos, alérgicos, tóxicos, trastornos neurológicos y efectos microbiológicos (Herago y Agonafir, 2021).

La excreción de residuos de anticoccidiales con el estiércol y su posterior esparcimiento en tierras proporciona una vía de contaminación potencial hacia las aguas subterráneas. La información sobre el destino y la ocurrencia de estos compuestos en las aguas subterráneas es escasa, por lo tanto, estas sustancias son contaminantes orgánicos emergentes potenciales de preocupación (Mooney *et al.*, 2020).

Estos agentes farmacológicos permeabilizan diversos nichos ambientales, abarcando agua subterránea, aguas superficiales, suelos y plantas de tratamiento de aguas residuales, exhibiendo concentraciones que varían de nanogramos a gramos por litro. Al mismo tiempo, la aplicación indiscriminada y excesiva de fármacos en todo el mundo



ha generado crecientes preocupaciones relacionadas con la resistencia antimicrobiana (Eapen *et al.*, 2024).

### **2.11. Las alternativas de tratamiento.**

Las coccidias que han desarrollado resistencia contra la mayoría de los anticoccidiales comúnmente utilizados, debido al uso masivo de fármacos químicos, ha motivado a diversos grupos de investigación a buscar alternativas de prevención y tratamiento. Por ejemplo, los tratamientos basados en la inmunización, uso de aditivos alimentarios inmunomoduladores y las vacunas recombinantes, pueden ayudar al hospedero a reducir las reacciones inflamatorias y protegerse de los parásitos (El-Saadony *et al.*, 2025).

El uso de prebióticos como tratamiento profiláctico disminuye los efectos adversos causados por *Eimeria* spp. al disminuir el conteo de ooquistes en las heces, además de mantener el peso corporal y reducir las lesiones ocasionadas por los parásitos en el tejido intestinal (El-Ashram *et al.*, 2019). También se han probado anticoccidiales naturales, como probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y aceites esenciales para contrarrestar la resistencia (El-Saadony *et al.*, 2025).

### **2.12. Alternativas naturales para el control y/o tratamiento de la coccidiosis del conejo.**

Aún con los avances de investigación de la Medicina Veterinaria moderna, las infecciones parasitarias siguen siendo un problema importante para la salud a nivel mundial, sobre todo en los países en desarrollo. Las plantas producen una gran diversidad de metabolitos secundarios con potenciales actividades biológicas, (citotóxicas, antiparasitarias, antifúngicas, antibacterianas y antiprotozo) (Ranasinghe *et al.*, 2023).

El uso de la medicina herbal es cada vez más común para tratar la coccidiosis, los suplementos de ajo pueden reducir los signos clínicos y lesiones de coccidiosis sin tener consecuencias negativas (Sweidan *et al.*, 2025).

Las plantas y compuestos anticoccidiales interfieren con el ciclo de vida de *Eimeria*, la regulación de la inmunidad del hospedero, la regulación del crecimiento de las bacterias intestinales y/o múltiples mecanismos (Muthamilselvan *et al.*, 2016).

Al respecto, los productos herbales, disminuyen la producción de ooquistes a través de la inhibición de la invasión, replicación y desarrollo de las especies de *Eimeria* en el tejido intestinal, lo cual disminuye también los recuentos de ooquistes por gramo de heces, debido a la presencia de compuestos fenólicos que reaccionan con las membranas citoplasmáticas causando la muerte de las células coccidiales. Adicionalmente dichos compuestos mejoran el grado de peroxidación lipídica intestinal; reparan lesiones epiteliales y aumentan la permeabilidad intestinal a través de la regulación positiva del recambio epitelial (Nahed *et al.*, 2022).

Actualmente, están disponibles en el mercado productos comerciales que contienen aceites esenciales, extractos y otros compuestos cuyo uso se relaciona con la estimulación de los mecanismos de respuesta inmune, aumento del peso corporal y destrucción de ooquistes, entre otros beneficios (Quiroz, 2018).

Un factor importante que beneficia al desarrollo de resistencia es el potencial reproductivo de los coccidios, así como la variación genética en cada generación, ejerciendo presión de selección sobre cepas resistentes. También, el tiempo de exposición a los anticoccidiales incrementa la selección de cepas mutantes resistentes. El desarrollo de resistencia a los fármacos y las limitaciones en su uso han alentado la exploración de soluciones alternativas, incluidos los compuestos botánicos (Felici *et al.*, 2024). El fenómeno de la multirresistencia es un problema por resolver hoy en día, por lo que es importante disponer de moléculas capaces de contrarrestar las infecciones por especies del género *Eimeria* (Maggini *et al.*, 2024).

En este sentido, el uso de alternativas naturales como los fitoquímicos, es la estrategia más viable para combatir la coccidiosis, sin que el efecto de las resistencias a fármacos amenace la bioseguridad. Así, por ejemplo, la manipulación de la microbiota intestinal mediante el uso de aditivos naturales en una etapa temprana de desarrollo puede estimular el sistema inmunológico de los animales contra las infecciones por *Eimeria*. Dado que estos aditivos son sustancias químicas y cepas fermentadas por bacterias,

pueden persistir como un microbioma intestinal benéfico durante mucho tiempo, sin presentar efectos adversos (Madlala *et al.*, 2021).

Estos fitoquímicos contienen ingredientes activos que modulan eficazmente la respuesta inmunitaria y mejoran la morfología intestinal y el rendimiento general del crecimiento, incluso en condiciones de estrés e infección. La mayoría de los efectos benéficos se pueden atribuir a sus funciones antiinflamatorias, promotores del crecimiento y como antimicrobianos (Valdez *et al.*, 2023).

Los productos naturales previenen y controlan el desarrollo y la progresión de la coccidiosis en aves de corral principalmente al obstaculizar directamente el ciclo de vida de *Eimeria* spp. o indirectamente al mejorar la inmunidad del hospedero, reparar la morfología intestinal, la homeostasis microbiana y el estado oxidativo/antioxidante (Chen *et al.*, 2025).

La coccidiosis puede no ser controlada o tratada con el uso de un solo compuesto, por el contrario, requiere de la combinación de inmunoestimuladores que induzcan una buena respuesta con el uso de extractos y hierbas, aceites esenciales y otros compuestos naturales que pueden destruir ooquistes de *Eimeria* spp. o interferir con el ciclo de vida (Quiroz, 2018).

Los extractos de tallo de banano, ajo y semillas de papaya tienen sustancias activas que potencialmente pueden controlar la coccidiosis en conejos, su administración disminuye significativamente la excreción de ooquistes. Por ejemplo, se demostró que 100 mg de extracto (40 mg de tallo de banano, 20 mg de semillas de papaya y 40 mg de ajo) resultó ser eficaz para controlar la coccidiosis en conejos (Indrasanti *et al.*, 2019).

El jengibre reduce la gravedad de la coccidiosis al mejorar la salud intestinal, reducir el crecimiento de parásitos y fortalecer el sistema inmunológico. También reduce el daño oxidativo y las lesiones intestinales causadas por infecciones de *Eimeria*. La curcumina, tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que reducen las lesiones intestinales, detienen el crecimiento de *Eimeria*, mejoran la salud intestinal, estimulan el metabolismo nutricional y el aumento de peso en aves (Sweidan *et al.*, 2025).

Al evaluar el efecto del extracto de hoja de *Calotropis procera* sobre la esporulación de ooquistes y esporozoítos de *Eimeria* que afectan el yeyuno de los mamíferos y para obtener la mejor concentración para la inhibición de la esporulación y la prevención de infecciones, Murshed *et al.* (2022), probaron extractos *in vitro* para prevenir la esporulación de ooquistes, la deformidad de la pared y la actividad anti-esporozoíto de *Eimeria papillata*, usando como grupos de control una solución de dicromato de potasio al 2.5% y toltrazuril a 25 mg/mL. A 200 mg/mL de extracto de hoja de *C. procera* registraron el mayor porcentaje de inhibición (91%) de los ooquistes.

El extracto hidroalcohólico de *Salix babylonica* contiene fitoquímicos con propiedades anticoccidiales como cumarinas, triterpenos, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, saponinas, terpeno, linalol, timol y carvacrol (Rivero *et al.*, 2019).

Por otra parte, el orégano tiene efectos positivos en el alivio del estrés oxidativo y en la microbiota intestinal, estimulando la producción de anticuerpos. El aceite esencial de orégano aumenta el contenido de inmunoglobulina A secretora y la expresión relativa de Claudin 1, Mucin 2 y Avain beta-defensina 1 en el íleon. Además, contiene propiedades antioxidantes, disminuye los niveles de ARNm de la proteína de choque térmico 70 y aumenta los niveles de ARNm de catalasa en los riñones y el hígado. También aumenta los niveles de ARNm de superóxido dismutasa; glutatión peroxidasa y la capacidad antioxidante total en plasma, al mismo tiempo que disminuye la concentración plasmática de malondialdehído, lo que se asocia con una mejor protección oxidativa en aves de corral (Ivanov y Bozakova, 2022).

En el estudio para evaluar la actividad del orégano, por Lombrea *et al.* (2020), reportaron el efecto contra bacterias, parásitos, hongos y sus potenciales actividades antiinflamatoria, antioxidante, antitumoral, antihiper glucémica y anti-Alzheimer, y ser menos tóxico y sin residuos en comparación con otros productos sintéticos. La diversidad de sus beneficios se debe a sus compuestos bioactivos (Alagawany *et al.*, 2018). El carvacrol, timol,  $\beta$ -cariofileno y el p-cimeno son compuestos terpénicos contenidos en el aceite esencial de orégano (AEO); La quercetina, el O-hexósido, la pinocembrina y la galangina son flavonoides que se encuentran en el orégano (Bautista *et al.*, 2021).

Al evaluar la actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana tanto antibacteriana (*S. aureus*, *E. coli* y *Lactobacillus fermentum*) como anticoccidial (*Eimeria tenella*) *in vitro* de aceites esenciales de orégano, tomillo y la salvia, la esporulación fue inhibida por la adición de aceite esencial de orégano a la concentración de 100 µg/mL en un 83% o 93% después de 2 o 24 h, respectivamente, y es mayor en comparación con la adición de tomillo y salvia (Sidiropoulou *et al.*, 2022).

La suplementación combinada de aceites esenciales de orégano y ajo presentó un potente efecto anticoccidial *in vitro* y un efecto promotor del crecimiento en pollos de engorde sin el uso de fármacos anticoccidiales (Sidiropoulou *et al.*, 2020). Además, en un estudio de Gordillo *et al.*, (2021), la combinación de aceite de orégano en combinación con cítricos no afectó el crecimiento y no produjo lesiones duodenales específicas de *Eimeria* spp.; sin embargo, redujo los ooquistes presentes en los materiales de la cama y alteró los ácidos grasos de cadena ramificada en la digesta cecal.

Rubio *et al.* (2023), monitorearon el efecto del aceite de *L. graveolens* por microscopía electrónica de transmisión y reportaron distintas alteraciones en la ultraestructura celular, incluyendo la contracción de la membrana y la redistribución del contenido citoplasmático. El mecanismo de los aceites esenciales en los esporozoítos podría estar relacionado con la rápida difusión a través de la membrana del parásito; a esto le sigue la pérdida de permeabilidad y la fuga de iones, lo que conduce a la muerte celular (Felici *et al.*, 2021).

A una dosis diaria de 100 mg/kg de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum* spp.) y clavo (*Syzygium aromaticum*) administrada por vía oral a conejos, se observó una ligera protección contra la coccidiosis hepática (Sorour *et al.*, 2018). Boyko *et al.* (2021), al evaluar el proceso de esporulación de *Eimeria magna*, observaron una mortalidad del 54% de los ooquistes parcialmente esporulados durante la administración de una emulsión de aceite esencial de *S. aromaticum* y no registraron ooquistes esporulados.

El uso de alternativas naturales como probióticos y fitoquímicos es la estrategia más favorecida para combatir la coccidiosis, sin que el efecto de las resistencias a los medicamentos amenace la seguridad e inocuidad alimentaria (Madlala *et al.*, 2021).

### **2.13. *Bougainvillea glabra*.**

*Bougainvillea glabra* es ampliamente usada en la medicina ancestral para tratar enfermedades respiratorias como la tos, el asma y la bronquitis, enfermedades gastrointestinales, así como por su capacidad bactericida e insecticida. El potencial antimicrobiano se debe a su contenido fitoquímico de metabolitos secundarios tales como alcanos, fenoles, terpenos y betalainas (Ornelas y Guerrero, 2023).

Se ha utilizado tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades como la diarrea, la hipotensión, los trastornos intestinales, el dolor de estómago, las náuseas, las enfermedades relacionadas con la inflamación y en el manejo del dolor (Hammad *et al.*, 2021).

Numerosas investigaciones fitoquímicas del género *Bougainvillea* confirman la presencia de hidrocarburos alifáticos, ácidos grasos, alcoholes grasos, compuestos volátiles, compuestos fenólicos, peltoginoides, flavonoides, fitoesteroles, terpenos, carbohidratos y betalainas, cuyos principios activos tienen múltiples actividades farmacológicas (Abarca y Petricevich, 2018).

En la composición fitoquímica de *B. glabra* se incluyen hidrocarburos alifáticos, ácidos grasos, alcoholes grasos, compuestos volátiles, compuestos fenólicos, peltogonios, flavonoides, fitosteroles, terpenos, carbohidratos y betalainas (Abarca y Petricevich, 2018).

Ravikumar y Pratheep, (2024) identificaron 36 compuestos bioactivos en *B. glabra*, buscando posibles propiedades similares a las de los medicamentos. Mencionan que la N-(1-deoxi-1-fructosil) fenilalanina se acopló virtualmente con una proteína bacteriana, la triptófanil-tRNA sintetasa. También examinaron la afinidad de unión y las interacciones en estos modelos para estimar su potencial antibacteriano. En el estudio *in silico* encontraron evidencia sólida de actividades antimicrobianas específicas de

fitoquímicos. Reportando que la quercetina tuvo una afinidad de unión de -7,83 y fue crucial para inhibir el proceso de traducción de la síntesis de proteínas.

Priyanka *et al.* (2025), reportan contenido de ácido gálico, ácido ferúlico, ácido siríngico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido protocatecuico, ácido sinápico, ácido 2-propenoico, 3-(2-hidroxifenil)-(E), ácido cafeico y ácido clorogénico en hojas de *B. glabra*. Además de peltoginoides y flavonoides en flores (rutina, isovitexina, apigenina, kaempferol, miricetina y quercetina), en tallo corteza (quercitrina), y en hojas (ácido cumárico y ácido vainílico), fitosterol, terpenos y carbohidratos (estigmestrol, escualeno). Además, identificaron fenoles, esteroides, carbohidratos, alcaloides, quininas, taninos, flavonoides, glucósidos, saponinas y triterpenoides en flores, en hojas ácido coumárico y ácido vainílico con extracto acuoso y metanólico.

*Bougainvillea glabra* contiene una variedad de compuestos, principalmente betalainas y fenoles, compuestos de importancia para estudiar su potencial como agentes antimicrobianos y antibiofilm. Actualmente no existen estudios que indiquen los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima bactericida (CMB), y concentración inhibitoria media (IC50), información necesaria para validar la actividad antibacteriana con concentraciones adecuadas que garanticen la seguridad de su uso en el sector salud (Ornelas *et al.*, 2023).

*B. glabra* se ha utilizado tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades como la diarrea, la hipotensión, los trastornos intestinales, el dolor de estómago, las náuseas, las enfermedades relacionadas con la inflamación y en el manejo del dolor (Hammad *et al.*, 2021).

Soni *et al.* (2019), realizaron un estudio con ratas albinas sobre la actividad antidiarreica y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *B. glabra* variedad "Snow White" a dosis de 200 mg kg<sup>-1</sup> y 400 mg kg<sup>-1</sup>, los extractos mostraron actividad antidiarreica y una reducción del poder antioxidante ( $P < 0.05$ ), en comparación con el control (3 mg kg<sup>-1</sup> de loperamida). Concluyen que el extracto hidroalcohólico de *B. glabra* "Snow White" es capaz de reducir radicales libres y es efectiva en el desequilibrio intestinal.

Escobar *et al.* (2010), evaluaron la actividad antibacteriana y antidiarreica de los extractos de *B. glabra* según sus resultados, el extracto etanólico de las hojas de buganvilla presentaron actividad antibacteriana y antidiarreica a una concentración de 0.763 gr/kg peso contra *Escherichia coli*, mencionan que los compuestos responsables de la actividad antibacteriana y antidiarreica son principalmente taninos y flavonoides, presentes en la *Bougainvillea*.

El potencial antimicrobiano de esta planta no ha sido totalmente estudiado, a pesar de que investigaciones muestran una alta presencia fitoquímica de metabolitos secundarios como alcanos, fenoles, terpenos y betalaínas (Ornelas *et al.*, 2023). Por lo tanto, el efecto antihelmíntico del extracto etanólico de flores silvestres de *Bougainvillea spectabilis* puede deberse a la presencia de flavonoides y fenoles que contribuyen a dañar la capa de mucopolisacáridos, provocando parálisis y la muerte del parásito (Yadav *et al.*, 2021).

#### **2.14. Propiedades de los aceites esenciales.**

También los aceites esenciales tienen propiedades terapéuticas con aplicaciones en la medicina, microbiología, agricultura, ganadería y en la industria cosmética y alimentaria. Sus compuestos fitoquímicos contienen ingredientes activos que modulan eficazmente la respuesta inmunitaria, mejoran la morfología intestinal y promueven el crecimiento, incluso en condiciones de estrés e infección (Pezantes *et al.*, 2024).

Pérez *et al.* (2012), reportan actividad contra protozoarios del aceite esencial de 42 especies de plantas, 16 especies corresponden a la familia *Lamiaceae*, siete a *Verbenaceae*, *Asteraceae* con cuatro, *Piperaceae* con tres y *Annonaceae* con dos; además de otras nueve familias con una especie. El timol fue el componente principal encontrado en ocho especies, seguido por el eugenol y el terpineno-4-ol, que se encontraron en cuatro especies, además del carvacrol y el alcanfor, que se identificaron en tres y dos especies, respectivamente.

Han *et al.* (2022), evaluaron el efecto anticoccidial de concentraciones no tóxicas de extractos de *Punica granatum* L. (0.005 mg/mL), *Plantago asiatica* L. (0.780 mg/mL), *Bidens pilosa* L. (0.390 mg/mL), *Acalypha australis* L. (0.390 mg/mL), *Pteris multifida*



Poir (0.050 mg/mL) y *Portulaca oleracea* L. sp. Pl. (0.050 mg/mL); así como los aceites esenciales de *Artemisia argyi* Levl. et Vant. (0.010 µL/mL) y *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze (0.050 µL/mL); y su mezcla (0.500 mL/mL) sobre *Eimeria tenella* utilizando ensayos de viabilidad celular, citometría de flujo y estudios *in vivo*, concluyendo que los ocho extractos de plantas y aceites esenciales, así como su mezcla, inhibieron a los esporozoítos de *Eimeria tenella* evitando invadir células de fibroblastos de embrión de pollo *in vitro*.

## **2.15. Orégano silvestre (*Lippia graveolens*).**

El orégano mexicano (*Lippia graveolens*) es una fuente importante de compuestos bioactivos, como los flavonoides. Se han reportado diferentes propiedades terapéuticas de estos compuestos, por ejemplo, como antioxidantes y antiinflamatorias. Es importante considerar que su funcionalidad está relacionada con la cantidad y el tipo de compuestos, y estas características dependen del método de extracción utilizado, siendo la maceración con metanol y la extracción asistida por ultrasonidos- disolventes eutécticos profundos las que muestran mejores resultados (Bernal *et al.*, 2023).

Los aceites esenciales se han utilizado con éxito en el tratamiento de enfermedades causadas por protozoos (Pérez *et al.*, 2012). Calvo *et al.* (2014), reportan un rendimiento medio de aceite esencial de *L. graveolens* de 1%, con una alta concentración de carvacrol o timol en 14 poblaciones silvestres de orégano silvestre analizados.

Los principales compuestos del aceite esencial de *L. graveolens* son timol y carvacrol, responsables de la actividad antimicrobiana, con amplia acción contra bacterias Gram negativas, además de su efecto fungistático (Galván *et al.*, 2023). Además de carvacrol y timol, Bautista *et al.*, (2021), informan del contenido de β-caryofileno y el p-cimeno como compuestos terpenos, así como de flavonoides como el O-hexósido de quercetina, la pinocembrina y la galangina. Mencionan que los compuestos bioactivos aislados podrían ser útiles como aditivos en la industria de alimentos funcionales, nutraceuticos, cosméticos y farmacéuticos.

Por análisis fitoquímicos se identificaron, además, triterpenos, saponinas, quinonas y taninos, por medio de ensayos cromatográficos, se identificaron 62 compuestos, siendo principalmente: taxifolina, apigenina 7-O-glucósido, floririzina, eriodictiol, quercetina, naringenina, hispidulina, pinocembrina, galangina y genkwanina (Cortés, 2021).

Según Salgueiro *et al.* (2003), el aceite esencial de *L. graveolens* se caracteriza por su alto contenido de monoterpenos (87,2%), carvacrol (44,8%), el timol (7,4%) y el p-cimeno (21,8%). Valdez *et al.* (2025), reportan que el aceite esencial de *L. graveolens* se destaca por su contenido de monoterpenos fenólicos, como el timol y el carvacrol y su concentración combinada representa la mayor parte de la composición química. Según sus estudios las concentraciones de timol y carvacrol fueron de  $70,4 \pm 5,3 \%$  y  $6,9 \pm 0,5 \%$ , respectivamente.

A su vez, Bautista *et al.* (2021), mencionan que el carvacrol, timol,  $\beta$ -cariofileno y p-cimeno son compuestos terpenoides presentes en el aceite esencial de *L. graveolens*; mientras que flavonoides como quercetina O-hexósido, pinocembrina y galangina se encuentran en los extractos de orégano silvestre. Carvacrol, timol,  $\beta$ -cariofileno y p-cimeno son compuestos terpenoides presentes en el aceite esencial de orégano (OEO); flavonoides como quercetina O-hexósido, pinocembrina y galangina son flavonoides que se encuentran en los extractos de orégano.

La composición química y la cantidad de metabolitos secundarios del aceite esencial de *L. graveolens* dependen de la variabilidad genética entre plantas, época de cosecha, pH del suelo y clima (humedad, calor, frío) (Pereira *et al.*, 2016). El aceite de *L. graveolens* y su componente principal, el carvacrol, son capaces de inhibir diferentes virus humanos y animales *in vitro*. Específicamente, los efectos antivirales del aceite de orégano mexicano sobre ACVR-HHV-1 y HRSV y del carvacrol sobre RV (Pilau *et al.*, 2011).

Rubio *et al.* (2021), trabajaron con aceite esencial de *L. graveolens* y reportan una acción bactericida contra *S. typhimurium* en unos minutos. Después del tratamiento, observaron un poco de material intracelular y fuga de proteínas totales. Este aceite esencial despolariza la membrana celular, perturba los procesos metabólicos y cambia

la estructura de la membrana citoplasmática. Además, aumento de la permeabilidad de la membrana y despolarización de la membrana interna, inhibición de ATPasa o perturbación de la fuerza motriz de protones que finalmente provoca la muerte de las células.

Según los estudios realizados por Rubio *et al.*, (2023), las concentraciones mínima inhibitoria y máxima bactericida del aceite esencial de *L. graveolens* fueron de 0.4 y 0.8 mg/mL, respectivamente. Además, el aceite mostró efectos bactericidas notables en las células tratadas dentro de los 15 minutos sin lisis ni fuga de material celular. La microscopía electrónica de transmisión mostró alteraciones distintivas en la ultraestructura celular, incluyendo retracción de la membrana y redistribución del contenido citoplasmático. También observaron la alteración del potencial de membrana junto con la reducción de las concentraciones de ATP intracelular y extracelular.

Debido a la resistencia que exhiben los protozoos patógenos frente a los fármacos antiprotozoarios comerciales, se ha puesto un énfasis creciente en las plantas utilizadas en la medicina tradicional para descubrir nuevos antiparasitarios. Tal es el caso de la actividad antiamebiana *in vitro* de un extracto metanólico de *L. graveolens* Kunth (orégano mexicano). Extractos metanólicos obtenidos por aislamiento bioguiado mediante varias técnicas cromatográficas produjo los flavonoides pinocembrina, sakuranetin, cirsimaritin y naringenina. La elucidación estructural de los compuestos aislados se logró mediante análisis espectroscópicos/espectrométricos y comparando datos de la literatura. Estos compuestos revelaron una actividad anti-protozoaria significativa contra los trofozoítos de *E. histolytica* mediante ensayos *in vitro*, mostrando una concentración inhibitoria del 50% (IC50) que osciló entre 28 y 154 µg/mL (Quintanilla *et al.*, 2020).

En estudios con células renales bovinas, evaluando la fase inicial de esquizogonia, el timol y el carvacrol mostraron una leve inhibición de la replicación intracelular del parásito, pero redujeron significativamente el número de esquizontes, al interrumpir el desarrollo intracelular del parásito, lo que implica una posible reducción de la patogenicidad (Felici *et al.*, 2024).

## **2.16. Clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).**

El clavo es un producto rico en compuestos fitoquímicos como: sesquiterpenos, monoterpenos, hidrocarburos y compuestos fenólicos; se ha utilizado para la conservación de alimentos y posee diversas actividades farmacológicas (El-Saber *et al.*, 2020). Es una planta aromática cultivada en países tropicales y subtropicales, rica en compuestos volátiles y antioxidantes como eugenol (27.1 %), cariofileno (24.5 %), óxido de cariofileno (18.3 %), ácido 2-propenoico (12.2 %),  $\alpha$ -humuleno (10.8 %),  $\gamma$ -cadineno (5.01 %) y óxido de humuleno (4.84 %) (Plata *et al.*, 2018; Haro *et al.*, 2021). El acetato de eugenilo, el eugenol y el  $\beta$ -cariofileno son los fitoquímicos más abundantes en el aceite (El-Saber *et al.*, 2020).

El aceite esencial de clavo tiene una actividad antimicrobiana, antioxidante e insecticida. El eugenol es el compuesto principal, representando al menos el 50%. El 10-40% restante consiste en acetato de eugenilo,  $\beta$ -cariofileno y  $\alpha$ -humuleno. Con actividad antiinflamatoria, analgésica, anestésica, antinociceptiva y anticancerígena (Haro *et al.*, 2021).

Farmacológicamente, el aceite esencial de clavo ha sido probado contra una variedad de parásitos y microorganismos patógenos, demostrando propiedades antibacterianas, antifúngicas (Liñán *et al.*, 2024) y antiprotozoarias (Mbaveng y Kuete, 2017). En la actualidad su uso ha aumentado para tratar infecciones sin estimular resistencia o multirresistencia (Maggini *et al.*, 2024).

### **2.16.1. Actividad antioxidante del aceite esencial de clavo.**

Kiki (2023), utilizando cinco concentraciones de 50-800  $\mu\text{g/mL}$ , determino en un intervalo de 30 a 120 minutos que el aceite de clavo elimina radicales DPPH de manera eficiente. La concentración requerida para eliminar el 50% de los radicales libres fue de 50  $\mu\text{g/mL}$  en los ensayos de eliminación de radicales libres DPPH, mientras que el valor de IC<sub>50</sub> para el ácido ascórbico fue de 10  $\mu\text{g/mL}$ .

### **2.16.2. Caracterización físicoquímica del aceite esencial de *S. aromaticum*.**

Según Hicham (2018), reporto que el rendimiento promedio del aceite esencial extraído de la planta es del 0.8 %, además, los principales constituyentes del aceite

esencial de *S. aromaticum* fueron eugenol (80.00 %), seguido de acetato de eugenilo (5.01 %), y  $\beta$ -cariofileno (2.9 %). Hernández y Mendoza (2023), mencionan que se pierde el 70 % del peso fresco a seco de los botones florales de clavo por el proceso de deshidratación, y que la extracción del aceite esencial realizado con un equipo soxhlet utilizando el solvente hexano, mostró alta efectividad recuperando un promedio del 13% de aceite esencial.

En otros estudios se ha reportado en el aceite esencial de *S. aromaticum* la presencia de eugenol (76.78%),  $\beta$ -cariofileno (21.24%),  $\alpha$ -copeno (1.16%), óxido de  $\beta$ -cariofileno (0.45%) y 0.28% de  $\alpha$ -cubebeno (Haro *et al.*, 2021; Kiki, 2023).

Mientras que Selles *et al.* (2020), identificaron y cuantificaron alrededor de 65 componentes, reportaron que el eugenol fue el compuesto principal del aceite esencial (78.72%), seguido del  $\beta$ -cariofileno (8.82%) y el acetato de eugenilo (8.74%). Por su parte Doukkali *et al.* (2021), reportan un contenido de eugenol (58.64%),  $\beta$ -cariofileno (32.91%) y humuleno (3.25%).

### **2.16.3. Eugenol.**

El eugenol (EUG) es una molécula natural versátil como monoterpenoide fenólico y se encuentra con frecuencia en aceites esenciales en una amplia gama de especies de plantas (Muhammad *et al.*, 2021). Además, la suplementación con eugenol en la dieta de pollos, mejora significativamente la salud intestinal y el bienestar general (Aljuwayd *et al.*, 2023).

En estudios realizados con ratones Balb-c machos, El-kady *et al.* (2019), mencionan que el tratamiento con eugenol mostró una reducción significativa en la carga total de *Schistosoma mansoni* en un 19.2%; sin embargo, el patrón de oograma no mostró diferencias marcadas en comparación con el del grupo control (praziquantel); sin embargo, el eugenol redujo significativamente los niveles séricos de enzimas hepáticas (aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa).

La actividad más efectiva se reporta para el carvacrol, la carvona, el isopulegol, además del timol y el eugenol. El tratamiento de los ooquistes de *Eimeria* con estos componentes condujo a su lisis de forma dependiente de la dosis y el tiempo (Adnane *et al.*, 2013).

#### **2.16.4. Acetato de eugenilo.**

El acetato de eugenilo es un compuesto con propiedades aromatizantes, antioxidantes y antimicrobianas (Santolin *et al.*, 2021). La mayor actividad antimicrobiana del acetato de eugenil se observó frente a *Acinetobacter* sp. (48.66 mm) a una concentración de 20 µL (Chiaradia *et al.*, 2012).

En estudios con diferentes combinaciones de aceite de eucalipto + apigenina + aceite esencial de eugenol, para evaluar su efecto contra *Eimeria tenella* en pollos, Geng *et al.*, (2024) reportan que con 0.20 g de cada uno de los aceites por kg de alimento, se logra un mejor efecto anticoccidial que las formulaciones que contenían dos productos naturales de origen vegetal o uno solo.

#### **2.16.5. β-Cariofileno.**

El β-cariofileno es un sesquiterpeno bicíclico ampliamente distribuido en el reino vegetal, donde aporta un aroma único a los aceites esenciales y tiene un papel fundamental en la supervivencia y evolución de las plantas superiores (Scandiffio *et al.*, 2020). Se reporta al β-cariofileno como posible responsable de la acción antiinflamatoria y antioxidante del aceite esencial de clavo (Ames *et al.*, 2018). Es potencialmente útil en infecciones por estreptococos, osteoporosis, esteatohepatitis y ejerce efectos anticonvulsivos, analgésicos, miorelajantes, sedantes y antidepresivos (Francomano *et al.*, 2019).

#### **2.16.6. Toxicidad del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.**

Los compuestos bioactivos suelen ser tóxicos en dosis altas. Al evaluar la toxicidad frente a *Artemia salina* del aceite esencial de clavo y su derivado acetato de eugenilo obtenido por esterificación enzimática, los resultados demostraron que tanto el aceite (CL<sub>50</sub>= 0.5993 µg/mL) como el éster (CL<sub>50</sub>= 0.1178 µg/mL) presentaron un alto potencial tóxico, siendo el acetato de eugenilo cercano a 5 veces más tóxico que el aceite esencial de clavo (Cansian *et al.*, 2017).

Los valores de IC<sub>50</sub> de estos compuestos oscilan entre 28.86 y 154.26 µg/mL contra agentes antiamebianos (Quintanilla *et al.*, 2020). De los compuestos terpenoides tóxicos, el eugenol tiene una mayor toxicidad por contacto en *S. granarius* que el óxido

de cariofileno, seguido de  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -humuleno y  $\alpha$ -felandreno. En insectos se reduce la frecuencia respiratoria después de estar expuestos a terpenoides de aceites esenciales (Plata *et al.*, 2018).

Las altas concentraciones de eugenol pueden ser tóxicas en humanos, a una dosis de 2.5 mg/kg de peso vivo se considera segura (Ulanowska *et al.*, 2021). Con una dosis de 0.3 g/mL de acetato de eugenol la mortalidad fue de 100% contra *Artemia salina*.

El acetato de eugenilo también es tóxico para larvas de insectos que propagan enfermedades. El potencial larvicida del acetato de eugenilo contra *Aedes aegypti* se demostró mediante su valor de CL<sub>50</sub> de 0.01 mg/ml (Pandey *et al.*, 2024).

El aceite esencial de clavo posee un efecto lítico *in vitro* sobre los ooquistes de *Eimeria* (de pollos) en concentraciones muy bajas. La eficacia a bajas concentraciones podría tener beneficios significativos al usarse en el tratamiento del ganado contra la coccidiosis, además de su buena palatabilidad, bajo costo, menor toxicidad y menos residuos (Remmal *et al.*, 2011).

Fahmy *et al.* (2021), probaron el efecto antihelmíntico *in vitro* del aceite de clavo (*S. aromaticum*) contra las larvas adultas de *Trichinella spiralis*. A 50  $\mu$ g/mL, observaron una tasa de mortalidad del 100% en 24 horas. Mientras que a concentraciones de 100 y 500  $\mu$ g/mL, registraron un efecto letal a las 16 y 8 horas, respectivamente. El aceite de clavo acabó a todas las larvas a las concentraciones de 100 y 500  $\mu$ g/mL en 24 y 16 horas de incubación, respectivamente.

Al evaluar las propiedades antibacterianas de los extractos acuosos y etanólicos de *S. aromaticum* contra dos bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp.) y tres bacterias gram negativas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*), Rafique *et al.* (2021), reportaron que el extracto etanólico de clavo tenía un mayor potencial antimicrobiano, seguido por el extracto acuoso de clavo. La mayor zona de inhibición fue producida por el extracto etanólico de clavo ( $26 \pm 0.5$  mm) contra *K. pneumoniae*, seguido por las zonas de inhibición producidas por el extracto etanólico de clavo contra MRSA ( $20 \pm 1$  mm) a una concentración de 1.0  $\mu$ g/mL. El extracto etanólico y acuoso mostraron una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 64-128  $\mu$ g/mL contra todos los patógenos.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción de conejos en México es una actividad creciente. Las mayores entidades productoras son: Puebla, Tlaxcala, Morelos, Ciudad de México, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Jalisco y Estado de México. De acuerdo con datos del Sistema Producto Cunicola del Estado de México, la entidad es líder a nivel nacional en la producción de carne de conejo, al contar con un inventario de 65 mil vientres y una producción aproximada de 54 mil 600 toneladas de carne.

La coccidiosis, es una enfermedad parasitaria producida por distintas especies del género *Eimeria*, este protozoo se localiza principalmente en el intestino y en el hígado en donde causa daños con diferente grado de severidad, deterioro en el bienestar y estado de salud de los animales infectados, lo cual afecta su rendimiento productivo y puede causar su muerte, sobretodo en conejos recién destetados y en los primeros días de engorda.

La coccidiosis causa pérdidas económicas importantes debido al retraso de crecimiento y baja conversión alimenticia, asociados a la mala absorción de nutrientes, generada por los daños que provoca el parásito a nivel hepático e intestinal. Los coccidiostatos y/o coccidicidas se han utilizado para la prevención, control y tratamiento de estas infecciones; sin embargo, se ha observado el fenómeno de resistencia y su acumulación en la carne, lo cual, afecta su calidad e inocuidad.

Las plantas y sus metabolitos secundarios, con potencial antimicrobiano (antiviral, antibacteriano, antihelmíntico y anti-protozoaria), se ha planteado como una alternativa prometedora para mejorar el bienestar, salud y la producción animal.



#### 4. JUSTIFICACION

Uno de los retos más importantes hoy en día es alimentar a una población creciente, con productos que cubran sus requerimientos nutricionales, con un menor impacto negativo en la salud del consumidor. El conejo, por sus características productivas y la composición nutricional su carne, es una alternativa para satisfacer la demanda de carne blanca de los consumidores ya que, una coneja puede tener hasta 8 partos al año, con camadas de 9 crías promedio.

En México, se puede impulsar la producción de conejo para reducir problemas de alimentación y de ingresos económicos, siempre y cuando se consideren las condiciones ambientales, factores sociales, disponibilidad de inversión y de acceso a la tecnología, así como del objetivo del sistema de producción, con un esquema de manejo que favorezca la productividad y reduzca la mortalidad ocasionada principalmente por microorganismos patógenos, por ejemplo, *Eimeria* spp.

La coccidiosis es una enfermedad parasitaria, causada por protozoarios del género *Eimeria*. Los ooquistes esporulados ingresan al sistema digestivo dañando la mucosa intestinal. Se asocian con bacterias y en conjunto, afectan el metabolismo y absorción de nutrientes. El daño se observa principalmente después del destete y en los primeros días de engorda, ocasionando grandes pérdidas económicas a los productores.

El uso de tratamientos con productos de origen químicos (coccidiostatos y/o coccidicidas), han dejado de ser una opción viable, ya que generan resistencia y afectan la calidad de la carne, por lo que se buscan alternativas naturales para controlar o disminuir el impacto de *Eimeria* en las unidades de producción cunícola reduciendo los costos de producción sin afectar la calidad de la carne.

Existen reportes científicos que describen las propiedades antibacterianas, antihelmínticas, antivirales y antiprototzoos del extracto de *Bougainvillea glabra* y de los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*, los cuales han presentado actividad inhibiendo la esporulación o causando lisis de los ooquistes de *Eimeria* spp., por lo que podrían ser una alternativa de tratamiento en unidades de producción de *Oryctolagus cuniculus*.

## 5. HIPÓTESIS

Los productos obtenidos a partir de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* presentarán efecto inhibiendo la esporulación, causando lisis de ooquistes de *Eimeria* spp. y reduciendo la cantidad de ooquistes por gramo de heces en *Oryctolagus cuniculus*.

## 6. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Determinar la actividad anti-*Eimeria* de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en *Oryctolagus cuniculus*, por medio de análisis *in vitro* e *in vivo* para proponerlos como alternativas de tratamiento en unidades de producción cunícola del Valle del Mezquital, Hidalgo.

### 5.2. Objetivos específicos

1. Identificar y cuantificar por métodos tradicionales, especies de *Eimeria* presentes en conejos naturalmente infectados, en unidades de producción cunícola del Valle del Mezquital.
2. Identificar molecularmente especies de *Eimeria* presentes en conejos naturalmente infectados en unidades de producción cunícola del Valle del Mezquital.
3. Evaluar *in vitro* el efecto anti-*Eimeria* de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* en oquistes de *Eimeria* obtenidos de *Oryctolagus cuniculus*.
4. Evaluar la citotoxicidad de los productos obtenidos a partir de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*, con el modelo de *Artemia salina*.
5. Evaluar *in vivo* el efecto anti-*Eimeria* del producto con mejor actividad en el ensayo *in vitro*.
6. Evaluar el comportamiento productivo de los conejos tratados con el mejor producto del ensayo *in vitro*

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Localización

El proyecto de investigación se desarrolló en 4 etapas: En la primera se realizó la toma de muestras para la identificación morfológica y cuantificación de *Eimeria* spp. en 10 unidades de producción cunícola (UPC), de localidades en el Valle del Mezquital. La región presenta un clima semiárido con suelos de riego y temporal, temperatura media anual de 18 °C y precipitación de 593 mm (Rosas *et al.*, 2015).

En la segunda etapa, se identificaron por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) las especies de *Eimeria* obtenidas de heces de conejo de 6 UPC en las instalaciones de la Escuela Superior de Apan, UAEH.

En la tercera etapa se realizó el análisis *in vitro* de inhibición de la esporulación y lisis de ooquistes en el Laboratorio de investigación de bacteriología del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en el municipio de Tulancingo, Hidalgo, a 20°03'48.65'' latitud Norte y 98°22'49.01'' longitud Este, a 2160 msnm.

En la cuarta etapa se realizó la evaluación *in vivo* en el módulo de cunicultura de la Universidad Politécnica de Francisco I Madero, ubicada a 20°13'26.8"N 99°05'20.4"W. En esta etapa se evaluó el producto que presentó actividad contra *Eimeria* de las pruebas *in vitro* y que además no presentaran citotoxicidad en la prueba de hemólisis indirecta.

### 7.2 Recolección y transporte de muestras.

Las muestras se recolectaron del 3 al 7 de abril de 2023 en 10 unidades de producción cunícola de localidades de: Tezontepec de Aldama (20°11'26" N, 99°16'27" O, 2006 msnm), Mixquiahuala de Juárez (20°13'49" N, 99°12'50" O, 2002 msnm), Progreso de Obregón (20°14'50" N, 99°11'24" O, 1999 msnm), Francisco I. Madero (20° 14' 43" N, 99° 5' 28" O, 1980 msnm), y Ajacuba (20° 5' 33" N, 99° 7' 10" O, 2143 msnm), Hidalgo.

Para la recolección de heces, se colocaron mallas de plástico debajo de las jaulas de conejos en etapa de engorda (5 puntos de muestreo). Para la identificación y cuantificación: se recolectaron 12 h antes de su análisis. Para la evaluación *in vitro* (inhibición de la esporulación y lisis) se colectaron frescas (2 h antes de las pruebas). Las muestras se transportaron: en bolsas de polietileno a 4°C para su análisis al laboratorio de bacteriología del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp), de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

### **7.3. Identificación morfológica de especies de *Eimeria*.**

Se realizó una identificación morfológica de las especies de *Eimeria* presentes en los conejos de las diez unidades de producción cunícola, mediante la técnica de flotación, usando una solución saturada de NaCl y observando al microscopio a 10X y 40X para su identificación cualitativa con criterios de medición y comparación morfológica (Cordero del Campillo y Rojo, 2000).

### **7.4. Cuantificación de ooquistes por gramo de heces (OPG).**

Para determinar los OPG las muestras se maceraron y disolvieron (3 g de heces) en un tubo McMaster (Cyanamid, H-L4100) con solución salina saturada de NaCl hasta completar un volumen de 45 mL (dilución 1:15), se tamizó con malla fina (gasas), dejando reposar por 4 minutos, se utilizó una pipeta de plástico para extraer la mezcla (sobrenadante) para el llenado de las dos cámaras McMaster, dejando reposar durante 5 min. Luego se procedió al conteo en microscopio a 10x, contando todos los ooquistes que estaban dentro o sobre las líneas de las rejillas. El número de OPG se calculó con la fórmula:

$$\text{OPG} = \left( \frac{\text{Ooquistes de la cámara 1} + \text{Ooquistes de la cámara 2}}{2} \right) * 100$$

## **7.5. Identificación de especies de *Eimeria* de conejos con la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) – punto final.**

Para la identificación molecular de las 11 especies de *Eimeria* se utilizó el gen de la región del espaciador transcribible interno en el ADN ribosomal (ITS-1), de acuerdo con los iniciadores descritos por Oliveira *et al.* (2011). Se utilizaron 5 muestras por UPC con 50 g de heces, se realizó una doble flotación con solución salina saturada (SSS) las cuales fueron precedidas de procesos de filtración, a partir de los cuales se obtuvieron 2 mL de una solución de ooquistes, los cuales fueron lavados con agua destilada estéril y resuspendidos en 2 mL de solución salina fisiológica, conservándose en refrigeración (4°C) hasta su uso.

### **7.5.1. Extracción de ADN de ooquistes de *Eimeria* spp.**

Se procedió a realizar la extracción por columnas de ADN a partir de 200 mg de muestra, utilizando el kit fecal Quick-DNA TM Fecal/Soil Microbe Miniprep de Zymo Research® siguiendo las instrucciones del fabricante.

La concentración y pureza del ADN fue determinada en un NanoDrop Thermo Fisher Scientific 1000 (Delaware, USA) midiendo la absorbancia de una  $\lambda$  de 260 nm (la unidad de  $A_{260}$  corresponde a una concentración de 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ADN). La pureza del ADN se midió a dos longitudes de ondas: 280 y 230 nm, y se observaron las relaciones:  $A_{260}/A_{280}$  y  $A_{260}/A_{230}$ , considerando que un ADN es suficientemente puro para usarlo en los diferentes estudios con una relación:  $A_{260}/A_{280} > 1.6 < 2.1$  y una relación de  $A_{260}/A_{230}$  de 1.8 a 2.2.

### **7.5.2. Optimización de las concentraciones de los reactivos para la técnica de PCR para identificar las especies del género *Eimeria*.**

Se realizó la identificación molecular de once especies del género *Eimeria* por PCR, para lo cual se realizaron reacciones independientes para cada género, como se observa en el Cuadro 1, es importante resaltar que, debido a la presentación de la enfermedad hemorrágica viral del conejo, en el estado de Hidalgo, cuatro unidades de producción desaparecieron y solo fue posible trabajar con seis unidades de producción.

**Cuadro 1.** Composición de la reacción para PCR para cada una de las especies de *Eimeria*.

Especie	Elementos de la mezcla (μL)								Total
	Agua	Green 1X	MgCl <sub>2</sub> 1 a 4 mM	dNTPs 0.2 mM	(Primer) F 1 μM	(Primer) R 1 μM	Taq ADN 1.25μL	ADN <0.5 μg/50μL	
<i>E. stiedae</i>	9.75	5	4	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. intestinalis</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. flavescens</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. coecicola</i>	9.75	5	4	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. exigua</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. irresidua</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. magna</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. media</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. perforans</i>	11.25	5	2.5	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. piriformis</i>	10.75	5	3	1	1	1	0.25	3	25
<i>E. vej dovskyi</i>	12.75	5	1.5	0.5	1	1	0.25	3	25

Una vez realizadas las reacciones anteriormente descritas, se procedió con realización de la PCR de punto final, en condiciones específicas para cada uno de los diez géneros de *Eimeria*, como se observa en el Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Condiciones de amplificación de especies de *Eimeria* en PCR-punto final.

Especie de <i>Eimeria</i>	Temperatura °C	MgCl <sub>2</sub> μL	Ciclos	Tamaño del amplicon pb
<i>E. coecicola</i>	50	4	35	256
<i>E. exigua</i>	55	2.5	35	280
<i>E. flavescens</i>	58	2.5	35	199
<i>E. intestinalis</i>	56	2.5	35	241
<i>E. irresidua</i>	52	2.5	35	226
<i>E. magna</i>	56	2.5	35	218
<i>E. media</i>	56	2.5	35	152
<i>E. perforans</i>	58	2.5	35	157
<i>E. piriformis</i>	57	3	35	289
<i>E. stiedae</i>	52	4	35	217
<i>E. vej dovskyi</i>	51	2	35	166

pb = pares de base

Los productos obtenidos de la amplificación se visualizaron en geles de agarosa del 1.5 al 3%, a 90V, 250 mA y fueron teñidos con bromuro de etidio (10 mg/mL) y se corrieron a 100 volts en una cámara de electroforesis Wide Mini-Sub-Cell GT (Bio-Rad®) durante 50 minutos (Sambrook, Fritsch y Maniatis, 1989). Posteriormente se observaron en un transiluminador Ultravioleta UVP y se tomaron las fotografías con una cámara Canon power shot de 5 pixeles.

#### **7.6. Material vegetal *Bougainvillea glabra*.**

Las brácteas de la planta color morado se recolectaron en el municipio de Francisco I Madero perteneciente al estado de Hidalgo, México. Se localiza geográficamente entre las coordenadas 20° 15' 20" latitud norte y 99° 00' 10" longitud oeste. La colecta se realizó del 1 al 4 de agosto de 2023, seleccionando brácteas sin alteraciones o cuerpos extraños (Figura 1 y 2.).

El secado del material vegetal se realizó en sombra a temperatura ambiente por 72 horas. Posteriormente, se trituró, pesando 250 g y macerando a temperatura ambiente por 24 h en 1.5 L de solución hidroalcohólica de etanol/agua (30:70 v/v). La muestra macerada se filtró con papel Whatman® 42. El solvente fue eliminado utilizando un Rotavapor® R-215, Buchi. El extracto hidroalcohólico solido fue almacenado a 4°C hasta su uso, siguiendo la metodología descrita por Rivero *et al.* (2019).



**Figura 1.** Planta de *Bougainvillea glabra* variedad morada



**Figura 2.** Secado de las brácteas de *Bougainvillea glabra*



### 7.7. Extracción de aceite esencial de *Lippia graveolens*.

Las hojas de *Lippia graveolens* se recolectaron en la localidad de Orizabita, municipio de Alfajayucan, Hidalgo, en el mes de agosto de 2023. El lugar se localiza geográficamente entre los paralelos 20° 18' y 20° 31' de latitud Norte y los meridianos 99° 17' y 99° 33' de longitud Oeste, a una altitud de 1 700 a 2 900 msnm.

El material vegetal fue secado por 96 h a temperatura ambiente y en sombra inmediatamente después de la colecta. Para la extracción del aceite esencial se utilizó el método de arrastre de vapor, se colocaron 250 g, se añadieron 2.5 L de agua y se generó calor para mantener vapor presurizado en un alambique (2 h). Los aceites esenciales se evaporaron y se pasaron por el tubo de condensación. El líquido condensado, que contenía el aceite esencial), se recuperó en un recipiente por separado (Figura 3).



**Figura 3.** Obtención de aceite esencial de *Lippia graveolens* por arrastre de vapor.

### 7.8. Extracción de aceite esencial de *Syzygium aromaticum*.

Los botones florales de *S. aromaticum* se adquirieron de manera comercial en el municipio de Tulancingo, Hidalgo. Se colocaron 250 g de material vegetal en el alambique. Posteriormente se añadieron 2.5 L de agua. Se generó calor para mantener vapor presurizado en el alambique (2 h). Los aceites esenciales se evaporaron y se pasaron por el tubo de condensación. El líquido condensado, que contenía el aceite esencial, se separó con un embudo decantador, recuperando el aceite en un recipiente por separado.

### 7.9. Prueba de inhibición de la esporulación de ooquistes de *Eimeria* spp., *in vitro*.

### 7.9.1. Obtención y concentración de ooquistes no esporulados.

La obtención de ooquistes no esporulados se realizó mediante flotación con Solución Salina Saturada siguiendo la metodología de Murshed *et al.* (2022). Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm, a 10°C por 5 min. Se recolectaron 2 mL de sobrenadante de cada uno de los tubos y se pasaron a tubos cónicos Falcon™ de 15 mL aforando a 12 mL con agua destilada y centrifugando a 5000 rpm, a 10°C por 5 min. Se desecharon los primeros 13 mL dejando los últimos 2 mL al fondo del tubo para volver a centrifugar con agua destilada. Este paso se repitió 2 veces. Las muestras fueron resuspendidas con Solución Salina Fisiológica. El pellet de todos los tubos se concentró en uno solo y se realizó un conteo con 10 gotas de 10 µL ajustando a 200 ooquistes en 100 µL. Observando al microscopio para determinar que los ooquistes de las muestras no habían esporulado.

### 7.9.2. Pruebas de inhibición de la esporulación de ooquistes de *Eimeria in vitro*.

Se agregaron en una la placa de 96 pozos 200 ooquistes promedio en 100 µl más 100 µl de cada tratamiento, siguiendo la metodología de Murshed *et al.* (2022). La descripción de los tratamientos se muestra en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Concentraciones y porcentajes de uso de los tres tratamientos utilizados para la prueba de inhibición de la esporulación.

<i>Bougainvillea glabra</i> (mg/mL)	<i>Syzygium aromaticum</i> (% v/v)	<i>Lippia graveolens</i> (%) v/v)
200	50	50
100	25	25
50	12.5	12.5
25	6.25	6.25
12.5	3.12	3.12
6.25	1.56	1.56
3.12	0.78	0.78
1.56	0.39	0.39

Adicionalmente a los tratamientos evaluados también se incluyeron formol al 10% y sulfas 32 mg/mL como controles positivos y SSF (0.9%) como control negativo. La placa se incubó a 29 °C y 72 rpm durante 96 h. Se evaluaron 3 repeticiones por cada uno de los tratamientos contando 10 gotas de 10 µL a las 72 y 10 gotas a las 96 h.

Se realizó el conteo de ooquistes esporulados y ooquistes no esporulados en cada pozo. El porcentaje de inhibición se obtuvo con la fórmula siguiente:

$$\% IEO = \frac{\text{número de ooquistes no esporulados}}{\text{ooquistes esporulados} + \text{ooquistes no esporulados}} * 100$$

### 7.9.3. Ensayo de lisis de ooquistes de *Eimeria* con aceite de esencial de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* *in vitro*.

Para evaluar la lisis de ooquistes en el ensayo *in vitro*, se agregaron en una la placa de 96 pozos 200 ooquistes (promedio) en 100 µL más 100 µL de cada tratamiento siguiendo la metodología de Murshed *et al.* (2022). La descripción de los tratamientos se muestra en el Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Porcentajes de aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* evaluados sobre la lisis de ooquistes de *Eimeria* spp., *in vitro*.

<i>Syzygium aromaticum</i> (% v/v)	<i>Lippia graveolens</i> (% v/v)
AESa 50	AELg 50
AESa 25	AELg 25
AESa 12.5	AELg 12.5
AESa 6.25	AELg 6.25
AESa 3.12	AELg 3.12
AESa 1.56	AELg 1.56
AESa 0.78	AELg 0.78
AESa 0.39	AELg 0.39

Como control positivo se utilizó formol al 10% y sulfas 32 mg/mL, y como control negativo SSF (0.9%). La placa se incubó a 29 °C y 70 rpm durante 96 h. Se evaluaron 3 repeticiones por cada uno de los tratamientos contando 5 gotas de 10 µL a las 24, 48, 72 y 96 h. El porcentaje de lisis de ooquistes de *Eimeria* spp., se calculó considerando la media del control positivo con relación a los ooquistes contabilizados por tratamiento.

$$\% \text{ de lisis} = \frac{OPG \text{ control positivo} - OPG \text{ tratamiento}}{OPG \text{ control positivo}} * 100$$

#### 7.10. Prueba citotoxicidad indirecta de los productos obtenidos a partir de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.

La actividad hemolítica indirecta del extracto hidroalcohólico de *B. glabra* y los aceites esenciales de *S. aromaticum* y *L. graveolens* se evaluó en agar sangre, para lo cual se recolectó sangre de cordero en tubos Vacutainer® EDTA, 3 mL, con la cual se preparó agar sangre, sobre el cual se realizaron 4 pocillos (6 mm de diámetro) para agregar 5µL de cada tratamiento (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Concentración y porcentaje de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* utilizados para la prueba de citotoxicidad indirecta.

<i>Bougainvillea glabra</i> (mg/mL)	<i>Syzygium aromaticum</i> (% v/v)	<i>Lippia graveolens</i> (% v/v)
25	100	100
12.5	50	50
6.25	25	25
3.12	12.5	12.5
1.56	6.25	6.25

### **7.11. Prueba de citotoxicidad con el modelo de *Artemia salina* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.**

#### **7.11.1. Eclosión de *Artemia salina*.**

Para la realización de la prueba se pesó 0.1 g de quistes de *Artemia salina* procediendo a su eclosión en 200 mL de solución salina (35 g de cloruro de sodio/L de agua destilada) a 25 °C por 24.

#### **7.11.2. Prueba de citotoxicidad con *Artemia salina*.**

En una placa de 96 pozos se procedió a diluir de manera seriada los porcentajes 0.15, 0.075, 0.037, 0.018, 0.009, 0.0046, 0.0023 y 0.0011 en 100 µL. Posteriormente se adicionaron 100 µL de solución salina con 10 a 15 nauplios de *A. salina*, en un volumen final de 200 µL y evaluando cada concentración por triplicado, de acuerdo con la metodología de Solis *et al.* (1992), y Rivero-Perez *et al.* (2019).

Para esta prueba se utilizó como control positivo Tween®80 (SIGMA P1754) 40 g/L de agua y como control negativo solución salina (35 g/L). Una vez preparada la placa, se procedió a incubar a 25 °C durante 24 h, posteriormente, se realizó el conteo de los nauplios muertos y vivos determinando la mortalidad (en %) según la fórmula propuesta por Sulit *et al.* (2020).

$$\% \text{ de mortalidad} = (\text{número de nauplios muertos} / \text{número inicial de nauplios}) * 100$$

### **7.12. Evaluación *in vivo* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* sobre eliminación de ooquistes por gramo de heces y parámetros productivos.**

#### **7.12.1. Animales.**

Se utilizaron 60 conejos (NZB x CAL) de 30 días de edad, con un peso promedio por animal de 676 g ± 36 los cuales se asignaron al azar a cinco tratamientos (n=12). Los animales se alojaron en jaulas metálicas de 80 x 50 x 40 cm con un bebedero automático tipo chupón y comedero metálico de dos bocas. El manejo se realizó conforme a la NOM-062-ZOO-1999.

La proporción de aceite se muestra en el Cuadro 5, se administraron dosis alta (6.25%), media (3.12%) y baja (1.56%) de aceite esencial de clavo en agua purificada y se suministraron 80 mL de la mezcla por animal.

#### **7.12.2. Grupos experimentales.**

Los conejos se asignaron aleatoriamente a cinco tratamientos con tres niveles de aceite de clavo: bajo (1.56 %), medio (3.12%), alto (6.25 %), como control positivo se utilizaron sulfas (100 mg/kg de PV) y como control negativo agua potable. La mezcla de aceite y agua se administró directamente en la cavidad oral de cada conejo (80 mL) utilizando jeringas graduadas y puntas de plástico.

#### **7.12.3. Cuantificación de ooquistes por gramo de heces (OPG).**

Los OPG se cuantificaron según técnica de McMaster con cuatro repeticiones por tratamiento. Los días evaluados fueron 0, 7, 14 y 28.

#### **7.12.4. Alimentación de los conejos.**

A los conejos se les proporcionó agua fresca diariamente y alimento comercial en pellet (Tepexpan) *ad libitum* cada tercer día a las 4:00 p.m.

#### **7.12.5. Variables evaluadas durante el experimento *in vivo*.**

##### **7.12.5.1. Consumo de alimento.**

El consumo se estimó con la siguiente fórmula:

$$\text{Consumo de alimento} = \text{Alimento ofrecido} - \text{Alimento rechazado}$$

##### **7.12.5.2. Ganancia diaria de peso por jaula (GDPJ).**

La ganancia diaria de peso por jaula (GDPJ) se midió en g/día/jaula.

Se estimó con la formula:  $\text{GDPJ} = (\text{PVFJ} - \text{PVIJ}) / 48$

Dónde:

PVFJ = Peso vivo final por jaula

PVIJ = Peso vivo inicial por jaula

48 = Días de engorda

#### **7.12.5.3. Conversión alimenticia.**

Se obtuvo al dividir el total de kg de alimento consumidos, entre el total de kg ganados.

#### **7.12.5.4. Consumo de agua.**

Se midió por nueve días utilizando una probeta graduada:

Consumo de agua = Agua ofrecida - Agua rechazada

### **7.13. Análisis de datos.**

Para el análisis estadístico de los OPG los datos de se normalizaron mediante  $\sqrt{x+0.5}$  y las medias ajustadas fueron analizadas con el programa Statistical Software Minitab® (2021), mediante un análisis de medias ( $P \leq 0.05$ ).

Los datos de inhibición de la esporulación, porcentaje de lisis y citotoxicidad en la prueba *in vitro*, se analizaron con un ANOVA, la diferencia en los tratamientos y el tiempo se evaluaron mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$  en el software SAS 9.3 (2002).

Para el análisis de OPG en el estudio *in vivo*, los datos se analizaron con un ANOVA con pruebas de comparación de medias de Tukey.

Las variables consumo total de alimento, GDPJ, CA y consumo de agua se analizaron con un ANOVA en aquellas variables en donde se detectaron diferencias estadísticas significativas se realizó una comparación de medias por Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Identificación de especies de *Eimeria* por granja de conejos en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

#### 8.1.1. Identificación morfológica.

La técnica de flotación permitió identificar 10 especies del género *Eimeria* (Figura 4) en las diez unidades de producción cunícula, muestreadas, La especie más común fue *E. stiedae* principal agente causal de la coccidiosis hepática, se identificó en 8 UPC desde el 19% hasta el 100% con relación al total de ooquistes, tal como se observa en el Cuadro 6. También se identificaron especies que causan coccidiosis intestinal, siendo la *E. irresidua* la más frecuente identificándose en 5 UPC con un mínimo de 17 y un máximo de 63.6 %, seguido de *E. exigua*, al encontrarse en 4 UPC entre el 23.5 y 100%, se identificaron *E. intestinalis* y *E. flavescens* en dos y una UPC, con un 26 y 9%, respectivamente. Además, se identificaron en 3 UPC *E. media* (47.6, 39 y 14.7%), *E. coecicola* (19.7, 29 y 14.7%), en 2 UPC *E. magna* (24 y 11.7%) y *E. perforans* (18 y 4.5%), *E. piriformis* (9%) únicamente se identificó en 1 UPC.



**Figura 4.** Ooquistes de las diez especies de *Eimeria* identificados en conejos domésticos en UPC del Valle del Mezquital, Hidalgo: A.) *E. stiedae*, B) *E. flavescens*, C) *E. intestinalis*, D) *E. magna*, E) *E. media*, F) *E. irresidua*, G) *E. piriformis*, H) *E. perforans*, I) *E. coecicola*, J) y *E. exigua*. Fuente: Noguez et al. (2025).



**Cuadro 6.** Porcentaje de especies del género *Eimeria* en Unidades de Produccion Cunicula (UPC) del Valle del Mezquital, Hidalgo.

UPC	Especies del género <i>Eimeria</i>									
	<i>stiedae</i>	<i>flavescens</i>	<i>Intestinalis</i>	<i>magna</i>	<i>media</i>	<i>irresidua</i>	<i>piriformis</i>	<i>perforans</i>	<i>coecicola</i>	<i>exigua</i>
1	23.4	9.3			47.6				19.7	
2	19		28	24					29	
3						63.6				36.4
4	44				39	17				
5	45					28	9	18		
6										100
7	48		24			28				
8	100									
9	30.9			11.7	14.7			4.5	14.7	23.5
10	36					31				33

Fuente: Noguez-Estrada *et al.*, (2025).

En el presente estudio, se identificaron infecciones mixtas con más de una especie de *Eimeria*, resultados que coinciden con estudios realizados por El-Shahawy *et al.* (2012), quienes mencionan que la variabilidad puede deberse al origen y manejo de los alimentos contaminándose con varias especies de parásitos. Así también, la especie hepática *E. stiedae*, fue la más prevalente con resultados similares a los reportados por Okumu *et al.*, (2014), quienes reportan a esta especie como la más común, mencionan que se requieren acciones urgentes para reducir las infecciones con el fin de evitar mayores pérdidas. De las 13 especies de coccidias que afectan a los conejos, *Eimeria stiedae* es el principal agente causal de la coccidiosis hepática en el conejo (Pérez y Betancourt, 2011).

De acuerdo con Katsui *et al.* (2022), entre las 11 especies de *Eimeria* en conejos, algunas son conocidas por ser patógenas y causar enteritis, *E. stiedae* induce lesiones hepáticas severas que resultan en una mortalidad elevada. Además, en los resultados del estudio se identificaron *E. intestinalis* y *E. flavescens* en 2 y una UPC, con una tasa de infección de 26 y 9%, respectivamente. La identificación de estas especies es muy importante ya que producen la coccidiosis intestinal más severa (He *et al.*, 2023).

En estudios realizados por Basiaga *et al.* (2020), al determinar el nivel de infección, así como la identificación de especies de *Eimeria* en conejos, reportan que los ooquistes de *Eimeria* spp. estuvieron presentes en todas las muestras recolectadas (prevalencia = 100%), identificando de cuatro a nueve especies de coccidios en cada granja, siendo *E. media* la especie más común, seguida de *E. intestinalis* y *E. flavescens*. He *et al.* (2023), mencionan que *E. intestinalis* es la especie más patógena de coccidiosis del conejo, causando pérdida de peso, diarrea e incluso la muerte. En México, según Guevara *et al.* (2019), la prevalencia anual de la especie más patógena en granjas del Estado de México; *E. intestinalis*, fue del 11.3%, resultado que se encuentra por debajo del reportado en el presente estudio (24-28%).

#### **8.1.2. Identificación por PCR.**

Los resultados de la identificación por PCR se muestran en el cuadro 7, en las seis UPC se identificó la presencia de *Eimeria* spp., confirmando su presencia en las granjas del Valle del Mezquital, Hidalgo. Se confirmó molecularmente la presencia de

ocho especies de *Eimeria* en donde, la *E. stiedae* fue la más común al identificarse en 16 muestras, la *E. vej dovskyi* y *E. magna* amplificaron en 7, mientras que *E. irresidua* y *E. flavences* se observaron en 4 muestras cada una, *E. media* fue identificada en 3, y la *E. exigua* solo se amplificó en 1 muestra de la UPC 7. No se determinó la presencia de *E. coecicola*, *E. intestinalis* y la *E. perforans* en las UPC muestreadas.

Los resultados de este estudio confirman que el gen del ITS-1 es un marcador molecular útil para identificar especies del parásito *Eimeria* en conejos domésticos del Valle del Mezquital y coincide con lo que reporta Jitea *et al.* (2025). Sin embargo, no siempre es posible que las muestras amplifiquen para todas las especies presentes probablemente debido a la cantidad de ooquistes por gramo de heces predominante y por la cantidad de ADN que se puede extraer y purificar de cada muestra de heces del conejo y por las secuencias de iniciadores usados para amplificar a las especies de *Eimeria* (Jitea *et al.*, 2025).

**Cuadro 7.** Identificación molecular de especies del género *Eimeria* en UPC del Valle del Mezquital, Hidalgo.

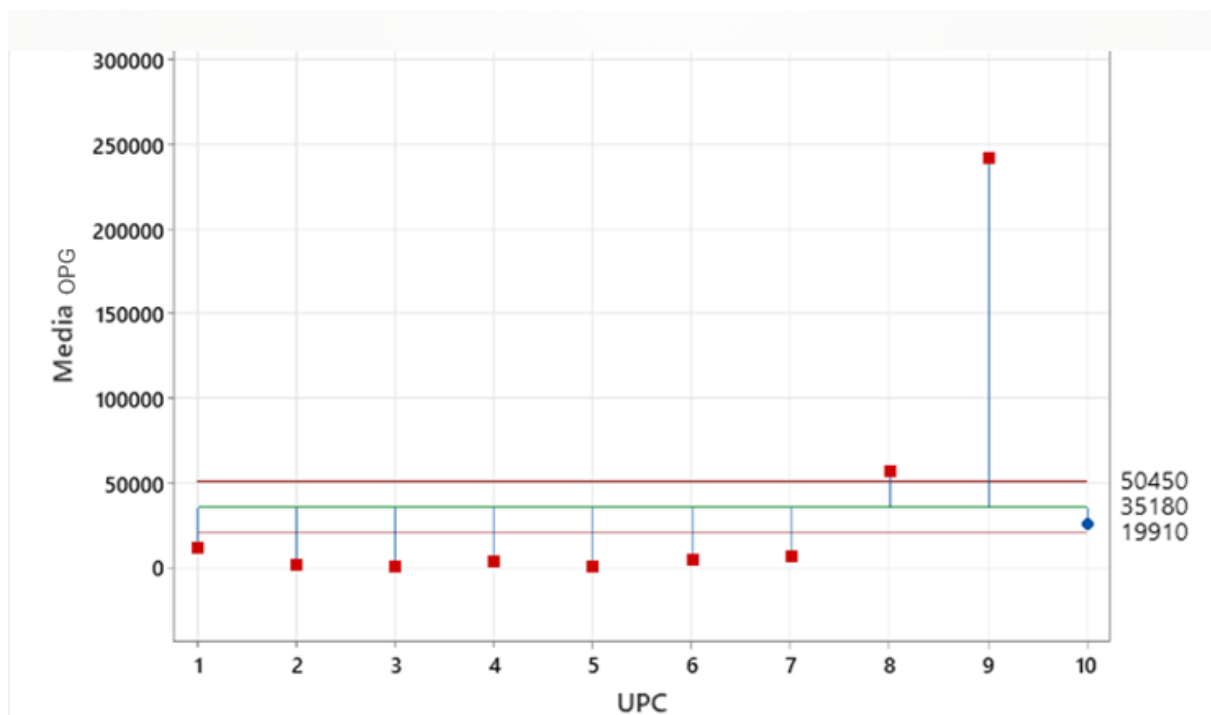
UPC	<i>Eimeria</i>											
	spp	<i>vejdovskyi</i>	<i>coecicola</i>	<i>exigua</i>	<i>flavences</i>	<i>intestinalis</i>	<i>irresidua</i>	<i>magna</i>	<i>media</i>	<i>perforans</i>	<i>piriformis</i>	<i>stiedae</i>
3	4	2	0	0	0	0	3	4	3	0	0	1
4	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
6	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
7	5	1	0	1	3	0	0	3	0	0	0	3
10	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
<b>Total</b>	25/30	7/30	0	1/30	3/30	0	4/30	7/30	3/30	0	3/30	16/30

En este contexto en el trabajo de Katsui *et al.* (2022), utilizaron el análisis por PCR- punto final con los iniciadores para amplificar el gen del ITS 1 y no lograron identificar ninguna especie de *Eimeria* en las muestras de heces y de hígado de los conejos. Pero cuando, se utilizaron los iniciadores del gen 18S ARN y la secuenciación, lograron detectar los ooquistes de *Eimeria* spp. en 13 de las 20 muestras fecales, y confirmaron identificar genéticamente cinco especies: *E. perforans*, *E. flavescens*, *E. exigua*, *E. magna* y *E. vejnovskyi*.

Por lo anterior, es necesario implementar otras técnicas de biología molecular; diseñar iniciadores más específicos (Heping *et al.*, 2016), y realizar algunas modificaciones en la reacción de PCR- punto final como, optimizar la temperatura de alineación; la concentración de  $MgCl_2$  y optimizar el número de ciclos del termociclador (AbouLaila *et al.*, 2020). Con la finalidad de identificar por PCR- punto final la totalidad de las especies de *Eimeria* presentes en las muestra de heces de conejos de las UPC del Valle del Mezquital. Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden tener importantes implicaciones para el manejo de las UPC ya que según Jitea *et al.* (2025), es vital identificar las especies de *Eimeria* para entender la epidemiología, patogenicidad y resistencia a los tratamientos contra la coccidiosis en conejos naturalmente infectados.

## **8.2. Recuento de ooquistes por gramo de heces de conejo en las UPC del Valle del Mezquital.**

En las 10 UPC evaluadas se contabilizaron ooquistes de *Eimeria* spp., con diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) en la cantidad de OPG entre UPC (Figura 5), siendo las UPC 9 ( $241450 \pm 33555$ ) y 8 ( $56817 \pm 3907$ ) las que presentaron una cantidad superior a la media central (limite superior), mientras que cargas inferiores (limite inferior) se encontraron en la UPC 1 ( $11417 \pm 1051$ ), 7 ( $6367 \pm 1614$ ), 6 ( $4500 \pm 816$ ), 4 ( $3217 \pm 437$ ), 2 ( $1583 \pm 246$ ), sin mostrar diferencias significativas entre la UPC 5 ( $583 \pm 125$ ) y 3 ( $433 \pm 85$ ). Únicamente la UPC 10 presentó una cantidad de OPG que se encontró dentro de los límites de decisión.



**Figura 5.** OPG de *Eimeria* spp. en 10 UPC ubicadas en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

Fuente: Noguez *et al.* (2025).

La variabilidad de los datos de OPG reportadas en este estudio se puede deber a las condiciones de manejo y tipo de UPC. Según Exequiel *et al.* (2021), los conejos son portadores asintomáticos de ooquistes de *Eimeria* spp. y pueden excretarlos en cualquier momento durante el ciclo biológico y reproductivo. En estudios realizados por Owusu *et al.* (2024), los conejos alojados en grupos de 10 o más por jaula tenían 2.02 veces más riesgo de infección por *Eimeria* spp., mientras que Exequiel *et al.* (2021), al realizar estudios con conejas gestantes reportan OPG desde 40 a 13820; los recuentos más altos se observaron en la segunda mitad de la lactancia, las hembras tienen siete veces más riesgo de excretar ooquistes en las heces. Además, los conejos excretaron ooquistes durante todo el período de engorde; sin embargo, durante las semanas 3 a 7 la excreción fue mayor.

Las características de las UPC pueden influir para que la cantidad de ooquistes por gramo de heces sea mayor, ya que, Balicka *et al.* (2020), evidencian un mayor número de OPG de *Eimeria* spp. en granjas pequeñas en comparación a granjas comerciales

de conejos, a pesar del uso regular de coccidiostatos. Esto puede depender de la resistencia desarrollada por los coccidios a estos productos y a las condiciones de manejo e higiene.

### **8.3. Prueba de inhibición de la esporulación de ooquistes de *Eimeria* spp.**

Al realizar la prueba de inhibición de la esporulación se observó que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, presentó los mejores resultados, con porcentajes de inhibición de 100% en los porcentajes 50 a 12.5% a las 72 horas, mismo efecto que se observó a las 96 horas con el 50 y 25% del mismo aceite, mostrando mejores efectos que ( $P < 0.0001$ ) con los controles positivos sulfas (82%) y formol (89.5%).

En estudios similares, Abbas *et al.* (2015), realizaron bioensayos utilizando un extracto metanólico de *Saccharum officinarum* en la inhibición de la esporulación de ooquistes de *E. tenella*, en el ensayo, se expusieron ooquistes no esporulados a seis concentraciones en solución de dimetil sulfóxido 10% (w / v; 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625 y 0,31%), a las 48 h confirmaron que la inhibición de la esporulación fue de manera dependiente de la dosis. El extracto de *S. officinarum* en dosis más alta también dañó la morfología normal y la forma de ooquistes de las especies de *Eimeria*.

Castro *et al.* (2023), evaluaron la actividad anticoccidial *in vitro* de microencapsulados de aceites esenciales de *Lepechinia heteromorpha* y *Salvia sagittata* utilizando oocistos esporulados no atenuados de *Eimeria* spp de pollos de engorde con diferentes concentraciones de microencapsulados (2,5; 5; 10; 20; 30 y 50 mg/mL), usando como control negativo dicromato de potasio al 2,5% y como control positivo formaldehído al 4%. De acuerdo con los resultados, la mayor destrucción de oocistos esporulados fue con el aceite esencial de *Salvia sagittata* a una concentración de 50 mg/mL a las 48 h de incubación, alcanzando 83.5% de destrucción de oocistos.

**Cuadro 8.** Porcentaje de inhibición de la esporulación de ooquistes de *Eimeria* spp. con *Bougainvillea glabra*, *Lippia graveolens* y *Syzygium aromaticum*.

Tratamiento mg/mL	72 hrs	96 hrs
SSF 0.9% (-)	9.521 ± 0.28 <sup>j</sup>	8.47±0.56 <sup>h</sup>
Formol 10% (+)	89.62±0.32 <sup>cdef</sup>	89.5±0.82 b <sup>cde</sup>
Sulfa 32 mg/mL (+)	82.57±0.51 <sup>fg</sup>	82.87 ± 0.65 <sup>fg</sup>
EHBg 200	97.27 ± 0.59 <sup>ab</sup>	93.37 ± 0.54 <sup>ab</sup>
EHBg 100	94.5 ± 0.49 <sup>abc</sup>	93.4 ± 0.29 <sup>abcd</sup>
EHBg 50	93.97 ± 1.53 <sup>abc</sup>	92.4 ± 0.30 <sup>abcd</sup>
EHBg 25	93.22 ± 2.59 <sup>abcd</sup>	93.1 ± 1.62 <sup>abc</sup>
EHBg 12.5	93.02 ± 0.61 <sup>abcd</sup>	91.7 ± 0.59 <sup>abcd</sup>
EHBg 6.25	88.40 ± 0.64 <sup>cdef</sup>	91.2 ± 0.19 a <sup>bcd</sup>
EHBg 3.12	87.72 ± 0.07 <sup>cdef</sup>	89.5 ± 0.40 <sup>bcd</sup>
EHBg 1.56	85.9 ± 0.46 <sup>def</sup>	85.9 ± 1.01 <sup>de</sup>
AELg 50	98.12 ± 0.19 <sup>ab</sup>	97.2 ± 0.21 <sup>ab</sup>
AELg 25	91.87± 0.15 <sup>bcde</sup>	80.5 ± 0.24 <sup>ef</sup>
AELg 12.5	85.5 ± 0.39 <sup>efg</sup>	75.3 ± 0.54 <sup>f</sup>
AELg 6.25	85.92 ± 0.35 <sup>def</sup>	73.32 ± 0.29 <sup>f</sup>
AELg 3.12	78.27 ± 0.02 <sup>g</sup>	74.07 ± 0.27 <sup>f</sup>
AELg 1.56	70.62 ± 0.36 <sup>h</sup>	72.82 ± 0.25 <sup>f</sup>
AELg 0.78	64 ± 0.26 <sup>hi</sup>	72.37 ± 0.36 <sup>f</sup>
AELg 0.39	61.37 ± 0.21 <sup>i</sup>	60.17 ± 0.31 <sup>g</sup>
AESa 50	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
AESa 25	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
AESa 12.5	100 <sup>a</sup>	96.3 ± 0.10 <sup>ab</sup>
AESa 6.25	95.05 ± 0.58 <sup>abc</sup>	95.3 ± <sup>abc</sup>
AESa 3.12	95.05± 0.34 <sup>abc</sup>	95.6 ± <sup>abc</sup>
AESa 1.56	95.00± 0.50 <sup>abc</sup>	91.15 ± <sup>abcd</sup>
AESa 0.78	85.82± 0.43 <sup>def</sup>	90.02± <sup>bcd</sup>
AESa 0.39	86.47± 0.26 <sup>def</sup>	86.92± <sup>cde</sup>
Valor de P	<.0001	<.0001
C.V	2.39	1.98
R <sup>2</sup>	0.99	0.99

SSF = Solución salina fisiológica, EHBg = Extracto hidroalcoholico de *Bougainvillea glabra*, AELg = Aceite esencial de *Lippia graveolens*, AESa = Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*. <sup>a, b, c</sup> Diferentes literales dentro de la columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento.



Felici *et al.* (2023), evaluaron el efecto de los aceites esenciales y compuestos bioactivos de tomillo (*Thymus vulgaris*), orégano (*Origanum vulgare*) y ajo (*Allium sativum*), comparando su efectividad con dos fármacos anticoccidiales comerciales. Reportan que el timol y el carvacrol exhibieron una leve inhibición de la replicación intracelular del parásito, pero redujeron significativamente el número de esquizontes, lo que implica una posible reducción en la patogenicidad al interrumpir el desarrollo intracelular de los parásitos, dichos autores mencionan que los aceites esenciales de orégano y ajo previenen la formación de esquizontes. El aceite de ajo es rico en especies de azufre que pueden oxidar tioles en residuos de proteínas, lo que conduce a la pérdida de función en particular a concentraciones de 100 ppm, similar a los controles.

Sidiropoulou *et al.* (2022) al trabajar *in vitro*, con aceite esencial de orégano a 100 µg/mL indican que se inhibió la esporulación de *E. tenella* en un 83% y 93% después de 2 y 24 h. Boyko *et al.* (2021), investigaron el efecto *in vitro* de los aceites esenciales de 14 especies de plantas incluido *S. aromaticum*; mencionan que al usar aceite esencial de *S. aromaticum*, observaron una mortalidad del 54% de ooquistes de *E. magna* y no registraron ooquistes esporulados después de 72 h.

#### **8.4. Lisis de ooquistes de *Eimeria* spp. con aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.**

De acuerdo con los resultados (Cuadro 9), ambos aceites provocaron lisis de ooquistes de *Eimeria* spp. de manera dependiente de la dosis, siendo mayor con el AESa ( $P < 0.0001$ ) desde 0.39 hasta el 50%, desde las 24 h, con la concentración más alta del AESa (50%), se observó mayor lisis de los ooquistes de *Eimeria* spp. ( $90.09 \pm 5.77$ ) en comparación con *L. graveolens* ( $73.87 \pm 9.2$ ) y sulfas ( $20.68 \pm 15.42$ ) a la misma hora y concentración. Cabe resaltar que aun con la concentración más baja del AESa (0.39 %) a las 96 h, la lisis de ooquistes fue mayor ( $72.07 \pm 13.36$ ) que el tratamiento con sulfas ( $57.66 \pm 9.29$ ). El AESa al 50% desde las 24 h, causó lisis ( $90.09 \pm 5.77\%$ ) de ooquistes de *Eimeria* spp., con diferencias significativas ( $P = 0.004$ ) desde las 72 h ( $93.69 \pm 4.23$ ), alcanzando el  $96.4 \pm 5.39$  a las 96 h.

**Cuadro 9.** Porcentaje de lisis de ooquistes de *Eimeria* spp. con los diferentes tratamientos, en cuatro tiempos.

Tratamiento (% v/v)	% lisis de <i>Eimeria</i> spp.			
	24 h	48 h	72 h	96 h
SSF 0.9%	8.29±9.15 <sup>hA</sup>	15.59±15.17 <sup>kA</sup>	10.99±12.74 <sup>iA</sup>	8.74±9.9 <sup>IA</sup>
Formol 10%	11.8 13.68 <sup>IA</sup>	13.20±15.30 <sup>kA</sup>	8.15±10.56 <sup>iA</sup>	7.6±12.23 <sup>IA</sup>
Sulfas 32 mg/mL	20.68±15.42 <sup>hC</sup>	38.29±11.04 <sup>cB</sup>	54.95±10.54 <sup>fgA</sup>	57.66±9.29 <sup>fA</sup>
AESa 50	90.09±5.77 <sup>aB</sup>	90.09±8.72 <sup>abB</sup>	93.69±4.23 <sup>aAB</sup>	96.4±5.39 <sup>aA</sup>
AESa 25	87.84±6.09 <sup>abA</sup>	89.19±5.60 <sup>abA</sup>	91.44±7.75 <sup>aA</sup>	91.89±5.50 <sup>abA</sup>
AESa 12.5	79.28±15.22 <sup>abcB</sup>	82.88±6.47 <sup>abcAB</sup>	88.74±7.08 <sup>abcA</sup>	89.64±5.29 <sup>abcA</sup>
AESa 6.25	75.68±10.98 <sup>abcB</sup>	90.90±5.06 <sup>aA</sup>	90.09±8.72 <sup>ab A</sup>	89.64±6.04 <sup>abcA</sup>
AESa 3.12	58.1±14.69 <sup>abcB</sup>	58.11±7.74 <sup>abcdB</sup>	86.940±9 <sup>abcdA</sup>	87.39±6.79 <sup>abcA</sup>
AESa 1.56	58.11±8.58 <sup>defB</sup>	70.88±12.72 <sup>cdefB</sup>	74.97±6.51 <sup>cdeA</sup>	87.26±8.03 <sup>abcA</sup>
AESa 0.78	54.05±7.68 <sup>efgC</sup>	65.32±12.83 <sup>defB</sup>	70.27±8.32 <sup>cdeB</sup>	81.53±9.46 <sup>bcdA</sup>
AESa 0.39	54.5±9.46 <sup>efgB</sup>	63.96±11.32 <sup>efA</sup>	71.62±7.88 <sup>deA</sup>	72.07±13.36 <sup>deA</sup>
AELg 50	73.87±9.2 <sup>bcdB</sup>	82.43±8.51 <sup>abcA</sup>	88.29±5.92 <sup>abA</sup>	88.74±6.45 <sup>abcA</sup>
AELg 25	65.32±8.41 <sup>deB</sup>	75.68±9.74 <sup>bcdA</sup>	77.48±9.01 <sup>bcdA</sup>	77.93±9.46 <sup>bcdA</sup>
AELg 12.5	47.75±12.94 <sup>fgB</sup>	59.01±7.99 <sup>fgA</sup>	63.06±12.37 <sup>efA</sup>	65.77±12.61 <sup>efA</sup>
AELg 6.25	43.69±32 <sup>gA</sup>	46.85±17.51 <sup>ghA</sup>	49.08±8.51 <sup>ghA</sup>	57.70±9.88 <sup>fA</sup>
AELg 3.12	15.14±20.05 <sup>hB</sup>	32.84±15.97 <sup>hiA</sup>	36.49±16.91 <sup>hA</sup>	35.9A±12.05 <sup>gA</sup>
AELg 1.56	8.69±9.5 <sup>hiB</sup>	18.24±16.66 <sup>ijkAB</sup>	20.93±10.68 <sup>iAB</sup>	29.55±22.24 <sup>ghA</sup>
AELg 0.78	7.27±8.64 <sup>hiB</sup>	19.56±16.24 <sup>ijA</sup>	20.93±12.90 <sup>iA</sup>	23.66±13.97 <sup>ghA</sup>
AELg 0.39	7.27±7.57 <sup>hiB</sup>	13.65±17.08 <sup>jkAB</sup>	20.01±15.77 <sup>iA</sup>	19.56±13.61 <sup>hA</sup>
<b>Valor de P</b>				
<b>Concentración</b>				<0.0001
<b>Tiempo</b>				<0.0001

SSF= Solución salina fisiológica, AESa= Aceite esencial de *Syzygium aromaticum* (%), AELg= Aceite esencial de *Lippia graveolens* (%). <sup>abcde fghijk</sup> Medias dentro de la misma columna con distinta literal indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento, (P ≤ 0.05). <sup>ABC</sup> Medias dentro de la misma fila con distinta literal indican diferencias estadísticas significativas entre tiempos (P ≤ 0.05).

Los resultados obtenidos indican que el aceite de clavo representa una opción para reducir los OPG, ya que según Behbahani *et al.* (2019), el aceite de clavo es capaz de aumentar la permeabilidad celular y la disrupción de la integridad de la membrana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* and *Pseudomonas aeruginosa*, afectando la totalidad de las membranas celulares, lo que podría llevar a la secreción de citoplasma y a la posterior muerte celular, además, mencionan que el aceite esencial de clavo tiene una actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica.

La relación entre concentración y tiempo coinciden con los datos obtenidos por Fahmy *et al.* (2021), ya que al probar *in vitro* el efecto antihelmíntico del aceite de *Syzygium aromaticum* contra las formas adultas y larvas musculares de *Trichinella spiralis* (las cuales incubaron con concentraciones entre 5 y 500 µg/mL), reportan una mortalidad del 100% de *T. spiralis* adultos a las 24 horas. Sin embargo, a concentraciones de 100 y 500 µg/ml, el efecto letal comenzó a las 16 y 8 h respectivamente. El aceite de clavo mató las larvas totales a las concentraciones de 100 y 500 µg/mL a las 24 y 16 h de incubación, respectivamente. Además, los gusanos adultos y las larvas incubados con 100 µg/mL de aceite de clavo mostraron cambios morfológicos marcados, múltiples vesículas y ampollas, desprendimiento de algunas áreas de la cutícula con fisuras, pérdida de la anulación normal y destrucción de la cutícula.

También Boyko *et al.* (2021), en su experimento *in vitro*, utilizaron una emulsión de aceite de *S. aromaticum* al 0.5 % durante 72 h para evaluar su efecto en ooquistes de *E. magna*, observaron una mortalidad de 54 % y no registraron ooquistes esporulados.

#### **8.5. Citotoxicidad indirecta de los productos obtenidos a partir de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.**

Para determinar la citotoxicidad del extracto hidroalcohólico de *B. glabra* y de los aceites esenciales de *S. aromaticum* y *L. graveolens* se utilizó la técnica de actividad hemolítica indirecta en agar sangre con las concentraciones que se muestran en el Cuadro 10. Como se puede observar, con el extracto hidroalcohólico de *B. glabra* no se observó la formación de halos de hemólisis. Por otra parte, *S. aromaticum* muestra halos de hemólisis de 100 hasta 25 % (de 5 a 3 mm), pero sin mostrar hemólisis a

partir de 12.5%, información considerada para la evaluación de dosis alta (6.25%), media (3.12 %) y baja (1.56 %) del aceite esencial de clavo en el modelo *in vivo*.

*L. graveolens* mostró halos de hemólisis a dosis de 100, 50 y 25 % v/v ( $19 \pm 0.95$ ,  $18 \pm 2.89$  y  $3 \pm 0.82$  mm, respectivamente), y sin halo de hemólisis con 12.5 y 6.25%, considerandose no citotóxico desde 12.5%.

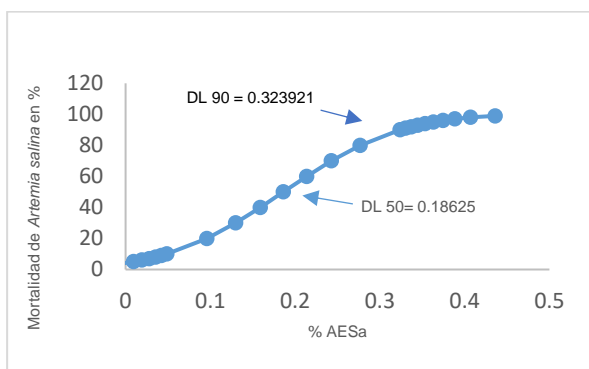
**Cuadro 10.** Actividad hemolítica indirecta de *Bougainvillea glabra*, *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*.

Tratamiento	%	N	Halo de hemólisis media (mm).
SSF (5 $\mu$ L)		4	0
Tween 80 (5 $\mu$ L) al 1%		4	$8 \pm 0.50^b$
EHBg (mg/mL)	25	4	$0.6 \pm 0$
	12.5	4	0
	6.25	4	0
	3.125	4	0
	1.562	4	0
	100	4	$5^c$
	50	4	$4 \pm 1.15^{cd}$
AESa (% v/v)	25	4	$3 \pm 1.25^d$
	12.5	4	0
	6.25	4	0
	100	4	$19 \pm 0.95^e$
	50	4	$18 \pm 2.89^e$
AELg (% v/v)	25	4	$3 \pm 0.82^e$
	12.5	4	$1.87 \pm 0.75$
	6.25	4	0
C.V.			21.7
R <sup>2</sup>			0.98

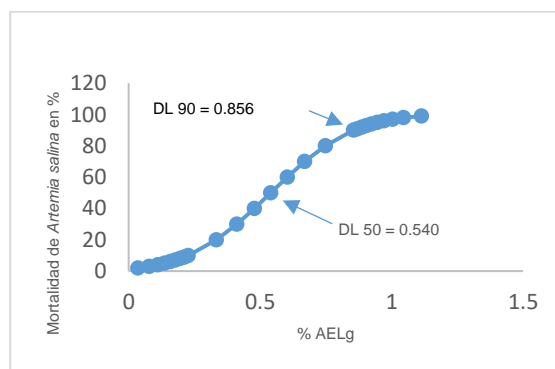
SSF = Solución salina fisiológica, AESa = Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, AELg = Aceite esencial de *Lippia graveolens*. <sup>a, b, c</sup> Diferentes literales dentro de la columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento.

## 8.6. Citotoxicidad con el modelo de *Artemia salina* del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens*

Las pruebas de citotoxicidad de los aceites esenciales de *S. aromaticum* y *L. graveolens* con el modelo de *A. salina*, permitieron determinar que la concentración letal ciencuenta (DL50) es de 0.18625% y la DL90 de 0.323921% para el AESa. Mientras que para el aceite esencial de AELg presentó una DL50 de 0.540 µg/mL y una DL90 de 8.5 µg/mL (Figura 6 y 7, respectivamente).



**Figura 6.** Concentraciones letales 50 y 90 del AESa sobre *Artemia salina*.



**Figura 7.** Concentraciones letales 50 y 90 del AELg sobre *Artemia salina*.

Al realizar la prueba de citotoxicidad indirecta con el EHBg y los AESa y AELg y en el modelo *Artemia salina* solo con los dos aceites, se observó que EHBg no mostró actividad hemolítica desde 25 hasta 1.56 mg/mL. Los resultados son similares a lo reportado por Krishna y Sundararajan (2020), quienes realizaron estudios de toxicidad aguda con extractos metanólicos de *B. glabra*, reportando que a una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal de ratas albinas Wistar no es tóxico. Tampoco observaron diferencias significativas en el análisis hematológico y los parámetros bioquímicos entre los grupos control y los animales de prueba en el estudio de toxicidad subcrónica.

Para evaluar la toxicidad aguda de las brácteas de los colores naranjas y moradas de *B. glabra*, Jaramillo *et al.* (2023), aplicaron una dosis de 2000 mg·kg<sup>-1</sup> del extracto de las brácteas de los colores morado y naranja en ratones, reportando un efecto no tóxico en la ingestión por vía oral. Shalini *et al.* (2018), evaluaron la citotoxicidad del extracto etanólico de las brácteas de *B. glabra*, las cuales expusieron durante 72 h a células hepáticas humanas fetales (WRL-68) y a células de riñón de mono verde africano (VERO), reportando una concentración media de inhibición (IC<sub>50</sub>) de 269.10 ± 70.16 µg/mL para las células VERO y 135.46 ± 20.43 µg/mL para las células WRL-68, lo que indica que el extracto no es tóxico.

Los resultados de citotoxicidad del aceite esencial *S. aromaticum* coinciden con lo reportado por Cansian *et al.* (2017), quienes mencionan que sus compuestos bioactivos en dosis altas son tóxicos, ya que al evaluar sobre *A. salina*, el aceite esencial y el acetato de eugenilo (obtenido por esterificación enzimática), demostraron que tanto el aceite (CL<sub>50</sub>= 0.5993 µg/mL) como el éster (CL<sub>50</sub>= 0.1178 µg/mL) presentaron un alto potencial tóxico, siendo el acetato de eugenilo 5 veces más tóxico que el aceite esencial de clavo. Mientras que Ulanowska *et al.* (2021) mencionan que una dosis de 2.5 mg/kg de peso vivo se considera segura, y que con una dosis de 0.3 g/mL de acetato de eugenol la mortalidad fue de 100% sobre *A. salina*.

Behbahani *et al.* (2019), realizaron un ensayo para determinar el efecto citotóxico del aceite esencial de *S. aromaticum* en las líneas celulares de cáncer colorrectal humano (línea celular HT29), y el mayor efecto citotóxico lo observaron a una concentración de 200 mg/mL-1.

De acuerdo con Plata *et al.* (2018), de los compuestos terpenoides tóxicos, el eugenol tiene una mayor toxicidad por contacto en *S. granarius* que el óxido de cariofileno, seguido de α-pineno, α-humuleno y α-felandreno. En insectos se reduce la frecuencia respiratoria después de estar expuestos a terpenoides de aceites esenciales. A su vez, Pandey *et al.* (2024), informan del potencial larvicida del acetato de eugenilo contra *Aedes aegypti* y lo demuestran mediante su valor de CL<sub>50</sub> de 0.01 mg/mL.

En estudios de hemólisis indirecta, el aceite de *L. graveolens* fue citotóxico a concentraciones mayores de 12.5%. Según Rojo *et al.* (2025), demostraron que la

infusión de *Lippia* posee una potente actividad antioxidante y un efecto antiproliferativo sobre líneas celulares de cáncer de mama, con menor citotoxicidad en células no cancerígenas en comparación con el carvacrol. Mientras que Soto *et al.* (2012), reportan que en estudios *in vitro* con *A. salina*, la concentración letal media (CL50) del extracto de orégano mexicano fue mayor a 1,000 µg/mL (354428.84 µg/ mL), por lo que el extracto acuoso de *L. graveolens* se considera no tóxico, tomando en cuenta el criterio de que una DL50 = 0 - 5 mg/mL es altamente tóxica, una DL50 de 6 – 200 mg/mL es tóxica, y una DL50 de 200 - 1000 mg/mL no es tóxica.

Zapata *et al.* (2009), evaluaron el efecto citotóxico del aceite de *L. origanoides* sobre células HeLa, reportaron un valor de IC50 de  $9,1 \pm 1$  µg/mL. Los componentes mayoritarios del aceite fueron: trans β-cariofileno (11,3%), p-cimeno (11,2%), α-felandreno (9,9%), limoneno (7,2%), 1,8-cineol (6,5%) y α-humuleno (6,0%) los cuales no mostraron actividad citotóxica relevante, sólo el limoneno y β-mirceno presentaron un índice de selectividad de 6,97 y 3,01. Sin embargo, los valores de IC50 fueron más altos que el del aceite activo, por lo que concluyen que la actividad citotóxica de los aceites, no se debe sólo a sus componentes mayoritarios, sino a un sinergismo entre sus componentes.

### **8.7. Conteo de OPG en la prueba *in vivo* con una dosis alta, media y baja de aceite esencial de clavo.**

Los resultados de la reducción de OPG en conejos tratados con AESa se presentan en el Cuadro 11. El OPG inicial se consideró como el 100% para cada tratamiento. Al día 7, se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p=0.0001$ ), presentando el mayor % de reducción de OPG el tratamiento con sulfas (96.9%), seguido del tratamiento con 6.25% de AESa (92.6%). El día 14 también se determinaron diferencias estadísticas significativas ( $p=0.0001$ ) presentando la mayor de OPG el tratamiento con AESa a 6.25% con un 98.9%, situación que se repite el día 28 cuando el AESa, presentó el mejor porcentaje de reducción con 99.5%. A lo largo del periodo de evaluación, todos los tratamientos mostraron una reducción significativa de OPG ( $P < 0.0001$ ), siendo más pronunciada al día 28. No obstante, únicamente los

tratamientos con 6.25% y 3.12% de AESa (150 y 125 OPG, respectivamente), así como el tratamiento con sulfas (175 OPG), registraron valores inferiores a 500 OPG. Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que las concentraciones de 3.12% y 6.25% de AESa pueden utilizarse para el control de *Eimeria* spp.

Según Papeschi *et al.* (2013), a partir del análisis parasitológico al destete (33 días de edad), todos los conejos examinados fueron negativos para oocistos de *Eimeria*, la eliminación de oocistos comenzó a los 39 días de edad en 3 de 10 conejos examinados, mientras que a los 42 días de edad todos los animales (10/10) estaban eliminando oocistos de *Eimeria*. Estadísticamente, se observaron recuentos de oocistos significativamente más altos ( $2406 \pm 41$ ), entre los días 49 y 53 de edad de los animales examinados. En comparación con los días anteriores, el número de oocistos disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ), desde el día 56 hasta el 60 ( $1010 \pm 191$  OPG).

Coudert *et al.*, (2003), mencionan que OPG en el rango de 10 000 a 50 000 en los conejos, pueden ocasionar altas tasas de mortalidad, de hasta 14,5 al 16,0 %, durante el período de engorde. Los valores más altos registrados al día 0 del presente estudio se encuentran dentro del rango mencionado por los autores.

Es importante considerar que la prevalencia está asociada con la variación de factores ambientales, por la zona geográfica, la temperatura, la esporulación de ooquistes, el aumento de la humedad, el uso de quimioprofilaxis, los sistemas de producción, el tipo de alimentación y el número de muestras examinadas (Rabie *et al.*, 2022). Además, que en los conejos el desarrollo de una resistencia adquirida a las infecciones por *Eimeria* aparece alrededor de los 3 meses de edad (Gomez *et al.*, 1987).

El uso de sulfas (100 mg/kpv) en el presente trabajo redujo los OPG en el día 7 (69.7%), y coincide con lo que mencionan El-Ghoneimy y El-Shahawy, (2017), quienes evaluaron el efecto del suministro de amprolium y toltrazuril por separado y en combinación por 7 días, reportan que la combinación de amprolio a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal durante 4 días consecutivos y toltrazuril (5 mg/kg de peso corporal) durante 2 días consecutivos en el agua de bebida registró una reducción de 74% de los OPG en el tercer día. Además, el conteo máximo de OPG en el tratamiento



con sulfas se observa desde el día 1 al día 3, similar a lo que reporta Singla *et al.* (2000), quienes al evaluar la patología de *Eimeria stiedae* en conejos de 2 meses naturalmente infectados, y que recibieron un tratamiento con el 2.5% de oltrazuril (Baycox) a 25 ppm en agua durante 2 días, reportan la mayor cantidad de OPG al sexto día después del tratamiento.

**Cuadro 11.** Conteo y porcentaje de reducción de ooquiste por gramo de heces de *Eimeria* spp. (OPG) con el uso aceite esencial de *Syzygium aromaticum* en conejos naturalmente infectados.

Tratamiento	Variable	Días de muestreo				Valor de P
		0	7	14	28	
<b>Control negativo (agua)</b>	OPG	19343.5 ± 8161	2587.5 ± 1038	2025 ± 773	1737.5 ± 480	0.0001
	% de reducción	0	<b>87<sup>eC</sup></b>	<b>90<sup>eB</sup></b>	<b>91<sup>eA</sup></b>	
<b>Sulfas 100 mg/kg de p.v.</b>	OPG	17700 ± 4026	550 ± 135	537.5 ± 249	175 ± 64	0.0001
	% de reducción	0	<b>96.9<sup>aC</sup></b>	<b>97.0<sup>bB</sup></b>	<b>99.0<sup>cA</sup></b>	
<b>AESa 1.56 %</b>	OPG	15950 ± 11673	1637.5 ± 1070	1025 ± 185	637.5 ± 138	0.0001
	% de reducción	0	<b>89.7<sup>cC</sup></b>	<b>93.6<sup>dB</sup></b>	<b>96.0<sup>dA</sup></b>	
<b>AESa 3.12 %</b>	OPG	18287.5 ± 17390	2000 ± 1056	575 ± 155	125 ± 29	0.0001
	% de reducción	0	<b>89.1<sup>dC</sup></b>	<b>96.9<sup>cB</sup></b>	<b>99.2<sup>bA</sup></b>	
<b>AESa 6.25%</b>	OPG	24837.5 ± 16477	1837.5 ± 250	262.5 ± 144	150 ± 41	0.0001
	% de reducción	0	<b>92.6<sup>bC</sup></b>	<b>98.9<sup>aB</sup></b>	<b>99.5<sup>aA</sup></b>	
<b>Valor de P</b>			0.0001	0.0001	0.0001	

SSF = Solución salina fisiológica, AESa = Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*. <sup>a, b, c, d, e</sup>, Diferentes literales dentro de la columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento <sup>A, B, C</sup> Diferentes literales dentro de la misma fila indican diferencias estadísticas significativas entre el tiempo.

Los resultados obtenidos muestran que el AESa en el nivel alto, medio y bajo, redujo los OPG de manera considerable en el día 7. Según Jet (2022), la reducción de OPG con el AESa puede deberse a sus propiedades antimicrobianas, se ha estudiado como un potenciador del rendimiento productivo en aves de corral, previene microorganismos patógenos y aumentan algunos microorganismos benéficos en la microflora intestinal.

Al-Mufarrej *et al.* (2019), evaluaron los efectos de diferentes niveles (10, 20, 30, 40, 50 y 60 g) de clavo molido en la dieta de pollos sobre el rendimiento en el crecimiento y los cambios histológicos de los hígados y los intestinos. Según sus resultados, la suplementación desde 30 a 60 g disminuye el peso intestinal a los 21 d, sin diferencias a los 35 d. La altura, la superficie y la profundidad de las criptas de las vellosidades del intestino, mostraron una disminución gradual desde 10 hasta 60 g a los 35 d de edad. Además, se registró una pérdida gradual de la estructura del epitelio intestinal por enteritis necrótica en las vellosidades desde 20 g.

La reducción de ooquistes con el uso de AESa es una alternativa de prevención y tratamiento de la coccidiosis en conejos. Según Scialfa *et al.* (2021), quienes al evaluar la excreción de ooquistes de *Eimeria* spp. de conejos infectados naturalmente en el periodo de engorda, mencionan que los animales excretaron ooquistes durante todo el período de engorde; sin embargo, en las semanas 3 a 7 la excreción fue mayor, y las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas ( $p= 0.01$ ). Las medias de eliminación de ooquistes por semana de engorde variaron de 160 a 16,474 OPG, observándose las cargas más bajas al inicio y al final del período de engorde.

Según Lebas *et al.* (1997), la intensidad de la infección depende de la especie de *Eimeria*, dosis tan bajas desde 10 000 podrían causar diarrea y mortalidad, mientras que algunas especies requieren dosis de hasta 1 000 000 para causar incluso un ligero impacto en el crecimiento del conejo. Mientras que Ming y Hong, (2009), mencionan que con 220 000 OPG de *E. perforans*, ocasiona hemorragia intestinal en conejos durante el período de expulsión masiva de ooquistes. Que de acuerdo con Anak y

Sarayati *et al.* (2023), considera una infección leve y sin capacidad de generar daño si los OPG son menores de 500.

Para las variables consumo de alimento, consumo de agua y GDPJ no se observaron diferencias estadísticas significativas ( $P \geq 0.05$ ). Sin embargo, la CA fue diferente ( $P < 0.01$ ), en el Cuadro 12, se observa que fue mejor en el tratamiento con sulfas ( $3.01 \pm 0.04$ ) y con AESa en el nivel bajo ( $1.56\%$  de AESa =  $3.14 \pm 0.08$ ), medio ( $3.12\%$  de AESa =  $3.07 \pm 0.11$ ) y alto ( $6.25\%$  de AESa =  $3.06 \pm 0.13$ ), registrando una CA en el grupo control de  $3.90 \pm 0.6$ , lo que indica que se utilizó más alimento para ganar 1 kg de peso vivo.

**Cuadro 12.** Consumo de agua, consumo de alimento, GDPJ y conversión alimenticia de conejos que recibieron dosis baja, media y alta de AESa.

Tratamiento	Consumo agua	Consumo alimento	GDPJ	Conversión alimenticia
<b>Agua</b>	$490.2^a \pm 124.7$	$13959^a \pm 2812$	$80.8^a \pm 23.4$	$3.9^a \pm 0.6$
<b>Sulfas</b>	$485.6^a \pm 42.6$	$14611^a \pm 1749$	$101.91^a \pm 7.46$	$3.01^b \pm 0.09$
<b>AESa 1.56 %</b>	$545^a \pm 62.7$	$13745^a \pm 890$	$90.86^a \pm 7.21$	$3.14^b \pm 0.16$
<b>AESa 3.12 %</b>	$458.4^a \pm 14.9$	$140901^a \pm 1249$	$97.67^a \pm 12.57$	$3.07^b \pm 0.11$
<b>AESa 6.25 %</b>	$479.2^a \pm 16.8$	$14401^a \pm 3174$	$98.44^a \pm 19.37$	$3.06^b \pm 0.13$
<b>Valor p</b>	0.462	0.98	0.357	0.01

**GDPJ:** Ganancia diaria de peso por jaula, <sup>a, b, c</sup> Diferentes literales dentro de la misma columna indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos

Los resultados del estudio *in vivo* con niveles bajo, medio y alto de AESa, solo mostró efectos significativos en la conversión alimenticia, mientras que, en estudios realizados por Abdel e Ibrahim, (2022), al administrar canela (150 mg/kg) y clavo (250 mg/kg) en polvo en la dieta de conejos, reportan un aumento significativo en el peso vivo, la ganancia diaria de peso y el consumo de alimento.

Al evaluar la actividad anticoccidial de la mezcla de extractos y los aceites esenciales de *Punica granatum* L. (0.005 mg/mL), *Plantago asiatica* L. (0.780 mg/mL), *Bidens pilosa* L. (0.390 mg/mL), *Acalypha australis* L. (0.390 mg/mL), *Pteris multifida* Poir (0.050 mg/mL), y *Portulaca oleracea* L. sp. Pl. (0.050 mg/mL) extracts; *Artemisia argyi* Levl. et Vant. (0.010 µL/mL) y *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze (0.050 µL/mL), y sus mezclas contra *Eimeria tenella* en pollos, Han *et al.* (2022), reportan que los ocho aceites esenciales y su mezcla inhibieron la invasión de fibroblastos de embrión de pollo por parte de los esporozoitos de *Eimeria tenella* en estudios *in vitro*, y que la mezcla de extracto y aceite esencial mejoró la tasa de conversión alimenticia y la ganancia de peso corporal, además, redujo la excreción fecal de ooquistes, y la mortalidad, así como el daño cecal inducido por *Eimeria tenella* en pruebas *in vivo*.

Para la conversión alimenticia, los resultados son similares a lo reportado por Agostini *et al.* (2012), quienes mencionan que con 100 y 200 mg/kg de clavo aumenta la ganancia de peso y se mejora la conversión alimenticia. En pruebas *in vivo* con pollos infectados con *E. tenella*, Han *et al.* (2022) mencionan que la mezcla de extracto y aceite esencial mejoró la tasa de conversión alimenticia y la ganancia de peso corporal, además, redujo la excreción de ooquistes fecales y sustancialmente la mortalidad, así como el daño cecal inducido por *Eimeria*.

Al evaluar el efecto de la inclusión de clavo molido en la dieta de conejos en crecimiento, Suliman *et al.* (2023), mencionan que con 0.5, 1 y 1.5%, disminuye la ingesta de alimento en comparación al grupo control, además, mejora la digestibilidad de la proteína cruda ( $P = 0.0261$ ). La dieta que contenía 1.5% de clavo tuvo la mejor conversión alimenticia ( $P < 0.05$ ) y mejor rentabilidad.

Al-Mufarrej *et al.* (2019), concluyen que podría utilizarse 10 g de clavo en polvo por kg en la dieta para mejorar la tasa de crecimiento sin afectar la salud del hígado y los intestinos de las aves.

## 9. CONCLUSIONES

En las UPC del Valle del Mezquital están presentes 10 especies de *Eimeria* y en 8 de ellas, la cantidad de ooquistes por gramo de heces pone en riesgo la salud y eficiencia productiva de los animales. Se identificaron molecularmente siete especies del genero *Eimeria*, siendo *E. stiedae* la especie con mayor frecuencia, seguida de *E. magna*, *E. vej dovskyi*, *E. piriformis*, *E. media*, *E. flavences* y *E. irresidua*.

El extracto hidroalcoholico de *Bougainvillea glabra* inhibio la esporulación de los ooquistes, mientras que *S. aromaticum* y *L. graveolens* inhiben la esporulación y causan lisis de los ooquistes. El extracto hidroacoholico de *B. glabra* no fue toxico, al igual que las concentraciones activas de *S. aromaticum* y *L. graveolens*.

En el ensayo *in vivo*, el aceite esencial de clavo disminuyó la eliminación de ooquistes por gramo de heces de *Eimeria* spp. y mejoró la conversión alimenticia en conejos de engorde naturalmente infectados.

## 10. PERSPECTIVAS

Los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* y *Lippia graveolens* se podrían utilizar como alternativa para disminuir y/o evitar el uso de fármacos anticoccidiales comerciales.

Buscar alternativas de empaque y administración de los aceites analizados para eficientizar su uso.

Desarrollar investigación aplicada sobre el efecto de los aceites esenciales en la calidad de la carne de conejo.

Continuar con la búsqueda de alternativas naturales para el control y/o tratamiento de la coccidiosis, reduciendo o evitando el uso de fármacos, sin afectar el bienestar y salud de los conejos y la salud pública.

## 11. REFERENCIAS

1. Abbas, A.; Iqbal, Z.; Abbas, R.; Khan, M.; Khan, J. *In-vitro* anticoccidial potential of *Saccharum officinarum* extract against *Eimeria* oocysts. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 2015, 14, 6: 456 - 461. <https://www.researchgate.net/publication/284919274>
2. Abd El-Ghany, A.W.; Coccidiosis: A Parasitic Disease of Significant Importance in Rabbits. *World Veterinary Journal*, 2020, 10, 4: 499-507. doi: <https://dx.doi.org/10.54203/scil.2020.wvj60>.
3. Abd El-Ghany, W.A. Coccidiosis: A Parasitic Disease of Significant Importance in Rabbits. *World Veterinary Journal*. J. 2021, 10 (4): 499-507. DOI: <https://dx.doi.org/10.54203/scil.2020.wvj60>
4. Abarca-Vargas, R., & Petricevich, V. L. (2018). Bougainvillea genus: A review on phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/9070927>
5. Abdelsalam, M.; Fathi, M. Improving productivity in rabbits by using some natural feed additives under hot environmental conditions - A review *Animal Bioscience*. 2023, 36, 4:540-554. doi: <https://doi.org/10.5713/ab.22.0354>.
6. Abdel, A.S.A.A.; Ibrahim, A.A.E.K. Growth performance, carcass attributes, blood hematology and biochemical constituents of growing rabbits supplemented with cinnamon and clove poder. *Animal Science Papers and Reports*. 2022, 40 (3): 351-370.
7. AbouLaila, M; Zaid, A.; Roshdey, T.; Allam, T.; Elkhatam, A. *Eimeria stiedae*: Infection rate and molecular characterization by nested PCR in rabbits from Minoufiya Governorate, Egypt. *EVMSPJ*. 2020, 16:34-49. [https://journals.ekb.eg/article\\_96759\\_b8e8ffad85b55402ef8bbcd4724430d9.pdf](https://journals.ekb.eg/article_96759_b8e8ffad85b55402ef8bbcd4724430d9.pdf)
8. Adhane, R.; Sanaa, A.; Latifa, B.; Fouzia, C.; Najat, C. "Oocysticidal Effect of Essential Oil Components against Chicken *Eimeria* Oocysts," *International Journal of Veterinary Medicine. Research & Reports*. 2013, Article ID 599816, doi: [10.5171/2013.599816](https://doi.org/10.5171/2013.599816). <https://ibimapublishing.com/articles/IJVMR/2013/599816/>.
9. Agostini, P.S.; Solà-Oriol, D.; Nofrías, M.; Barroeta, A.C.; Gasa, J.; Manzanilla, E.G. Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. *Livestock Science*. 2021, 147, 1 (3): 113-118. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.04.010>.
10. Alagawany, M.; Abd El-Hack M.E.; Farag, M.R.; Shaheen, H.M.; Abdel-Latif, M.A.; Noreldin, A.E.; Patra, A.K. "The Usefulness of Oregano and Its Derivatives



- in Poultry Nutrition." *World's Poultry Science Journal*. 2018, 74, 3, 463–74. <https://doi.org/10.1017/S0043933918000454>.
11. Al-Mufarrej, S.; Al-Baadani, H.; Fazea, E.H. Effect of level of inclusion of clove (*Syzygium aromaticum*) powder in the diet on growth and histological changes in the intestines and livers of broiler chickens. *South African Journal of Animal Science*. 2019, 49: 166. doi: [10.4314/sajas.v49i1.19](https://doi.org/10.4314/sajas.v49i1.19)
  12. Aljuwayd, M.; Israa A.M.; Young M.K. "Application of Eugenol in Poultry to Control Salmonella Colonization and Spread". *Veterinary Sciences*. 2023, 10, 2: 151. <https://doi.org/10.3390/vetsci10020151>.
  13. Ahmad, R.; Yu, Y.H.; Hua, K.F.; Chen, W.J.; Zaborski, D.; Dybus, A.; Hsiao, F.S.; Cheng, Y.H. Management and control of coccidiosis in poultry - A review. *Animal Bioscience*. 2024, 37, 1:1-15. doi: [10.5713/ab.23.0189](https://doi.org/10.5713/ab.23.0189).
  14. Ames-Sibin, A.P.; Barizão, C.L.; Castro-Ghizoni C.V.; Francielli, M. S.; Silva, A.B.S.; Bracht, L.; Bersani-Amado C.A.; Marçal-Natali M.R.; Bracht A.; Jurandir F.; Comar, J.F.  $\beta$ -Caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2018, 119, 12: 10262-10277. doi:[10.1002/jcb.27369](https://doi.org/10.1002/jcb.27369).
  15. Anak, P.A. y Sarayati, H.A.M.S. 2023. Gastrointestinal Infection of Rabbits in Ranau Rabbit Farm. Ranau, Sabah Malaysia. *Science Letters*. 17(1): 145-155. <https://doi.org/10.24191/sl.v17i1.19874>
  16. Arabkhazaeli, F.; Modrisanei, M.; Nabian, S.; Mansoori, B.; Madani, A. Evaluating the resistance of eimeria spp. Field isolates to anticoccidial drugs using three different indices. *Iranian journal of parasitology*. 2013, 8, 2: 234-241. [PMc3724148](https://doi.org/10.1007/s12011-013-9448-4)
  17. Attree, E.; Sanchez, A.G.; Jones, M.; Xia, D., Marugan, H.V., Blake, D.; Tomley, F. Controlling the causative agents of coccidiosis in domestic chickens; an eye on the past and onsiderations for the future. *CABI Agriculture and Bioscience*. 2021, 2: 37. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00056-5>.
  18. Balicka, R.A.; Laurans, L.; Pohorecki, K.; Batko, M.; Ramisz, A. Short communication: prevalence of *eimeria* spp. infection in domestic rabbits of polish farms. *World Rabbit Science*. 2020, 28:181-185. <https://doi.org/10.4995/wrs.2020.10758>.
  19. Basiaga, M.; Levytska, V.; Kowal, J.; Nosal, P.; Wyrobisz, P.A. Coccidiosis – a problem in backyard rabbitries. *Annals of Parasitology*. 2020, 66, 1: 97-99. doi: [10.1017/ap.2020.242](https://doi.org/10.1017/ap.2020.242)
  20. Bautista, H.I.; Aguilar, C.N.; Martínez, Á.G.C.G.; Torres, L.C.; Ilina, A.; Flores G.A.C.; Kumar V.D.; Chávez, G.M.L. Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. *Molecules*. 2021, 25, 26, 17: 5156. doi: [10.3390/molecules26175156](https://doi.org/10.3390/molecules26175156).
  21. Behbahani, B.A.; Noshad, M.; Falah, F. Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum*

- essential oil on foodborne pathogens. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2019, 13, 1: 875–883. <https://doi.org/10.5219/1226>
22. Bernal, M.M.J.; Carrasco, P.M.d.C.; Heredia, J.B.; Bastidas B.P.d.J.; Gutiérrez, G.E.P.; León, F.J.; Angulo E.M.Á. Green Extracts and UPLC-TQS-MS/MS Profiling of Flavonoids from Mexican Oregano (*Lippia graveolens*) Using Natural Deep Eutectic Solvents/Ultrasound-Assisted and Supercritical Fluids. *Plants*. 2023, 12: 1692. <https://doi.org/10.3390/plants12081692>.
  23. Boyko, O; Shendryk, L.; Shaban, O.; Brygadyrenko, V. Influence of essential oils on sporulation of *Eimeria magna* oocysts. *Ann Parasitology*. 2021, 67, 1: 11-17. doi: [10.17420/ap6701.307](https://doi.org/10.17420/ap6701.307).
  24. Burrell, A.; Tomley, F.; Vaughan, S.; Marugan, H.V. Life cycle stages, specific organelles and invasion mechanisms of *Eimeria* species. *Parasitology*. 2020, 147, 3: 263-278. doi: [10.1017/S0031182019001562](https://doi.org/10.1017/S0031182019001562).
  25. Calvo, I.L.M.; Parra, T.V.; Acosta, A.V.; Escalante, E.F.; Díaz, V.L.; Dzib, G.R.; Peña, R.L.M. Phytochemical Diversity of the Essential Oils of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Populations along an Edapho-Climatic Gradient. *Chemistry & Biodiversity*. 2014, 11: 1010-1021. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201300389>
  26. Cansian, R.L.; Vanin, A.B.; Orlando, T.; Piazza, S.P.; Puton, B.M.; Cardoso, R.I.; Gonçalves, I.L.; Honaiser, T.C.; Paroul, N.; Oliveira, D. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. *Brazilian Journal Biology*. 2017, 77, 1: 155-161. doi: [10.1590/1519-6984.12215](https://doi.org/10.1590/1519-6984.12215).
  27. Castro, S.C.; Costilla, S.N.; Mendoza, G. *In vitro* anticoccidial activity of essential oil microencapsulated against *Eimeria* spp. *Agroindustrial Science*. 2023, 13: 7-13. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2023.01.01> .
  28. Chapman, H.D. and Rathinam, T. Focused review: The role of drug combinations for the control of coccidiosis in commercially reared chickens. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2022, 18:32-42. doi: [10.1016/j.ijpddr.2022.01.001](https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2022.01.001)
  29. Chen, P.; Rehman, M.U.; He, Y.; Li, A.; Jian, F.; Zhang, L. and Huang, S. Exploring the interplay between *Eimeria* spp. infection and the host: understanding the dynamics of gut barrier function. *Veterinary Quarterly*. 2025, 45, 1: 1-22. doi: [10.1080/01652176.2025.2452169](https://doi.org/10.1080/01652176.2025.2452169)
  30. Chiaradia, V.; Paroul, N.; Cansian, R.L.; Júnior, C.V.; Detofol, M.R. Synthesis of Eugenol Esters by Lipase-Catalyzed Reaction in Solvent-Free System. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2012, 168: 742-751. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9814-5>.
  31. Cordero del Campillo M. Rojo Vázquez FA. 2000. Parasitología Veterinaria. MacGraw-Hill Interamericana. ISBN 84-486-0236-6, 1a. ed., España. Pp. 729-734.

32. Cortés, C.M.d.C.; Flores, M.H.; Orozco Á.I.; León C.C.; Suárez J.Á.; Estarrón E.M.; López M.I. Identification and Quantification of Phenolic Compounds from Mexican Oregano (*Lippia graveolens* HBK) Hydroethanolic Extracts and Evaluation of Its Antioxidant Capacity. *Molecules*. 2021, 26: 702. <https://doi.org/10.3390/molecules26030702>.
33. Coudert, P.; Jobert, J.; Larour, G.; Guittet, M. Relation entre l'entéropathie épizootique du lapin (EEL) et l'infestation par les coccidies: Enquete épidémiologique. In *Proceedings of the 10th Journées de la Recherche Cunicole*, Paris, France, 2003: 239-241. [hal-02762229](https://hal-02762229)
34. Cruz, B.T.; Feix, A.S.; Ruttkowski, B.; Joachim, A. Sexual Development in Non-Human Parasitic Apicomplexa: ¿Just Biology or Targets for Control? *Animals (Basel)*. 2021, 4, 11, 10, 2891. doi: [10.3390/ani11102891](https://doi.org/10.3390/ani11102891).
35. Cui, P.; Liu, H.; Fang, S.; Gu, X.; Wang, P.; Liu, C.; Tao, G.; Liu, X.; Suo, X. A new species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from Californian rabbits in Hebei Province, China. *Parasitology International*. 2017, 66(5): 677-680. doi: [10.1016/j.parint.2017.06.009](https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.06.009)
36. Dalle, Z.A. Rabbit farming for meat purposes, *Animal Frontiers*. 2014, 4, 4: 62–67, <https://doi.org/10.2527/af.2014-0035>
37. Doukkali, E.; Radouane, N.; Tahiri, A.; Tazi, B.; Guenoun, F.; Lahlali, R. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Cinnamomum cassia* and *Syzygium aromaticum* plants and their nanoparticles against *Erwinia amylovora*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2021, 55, 2: 217-234. <https://doi.org/10.1080/03235408.2021.2015865>.
38. Eapen, J.V.; Thomas, S.; Antony, S.; George, P. and Antony, J.; A review of the effects of pharmaceutical pollutants on humans and aquatic ecosystem. *Exploration of Drug Science*. 2024, 2: 484–507. <https://doi.org/10.37349/eds.2024.00058>
39. El-Ashram, S.A.; Aboelhadid, S.M.; Abdel-Kafy, E.S.M.; Hashem, S.A.; Mahrous, L.N.; Farghly, E.M.; Kamel, A.A. Prophylactic and therapeutic efficacy of prebiotic supplementation against intestinal coccidiosis in rabbits. *Animals*. 2019, 9, 11: 965. <https://doi.org/10.3390/ani9110965>.
40. El-Ashram, S.; Aboelhadid, S.M.; Abdel-Kafy, E.-S.M.; Hashem, S.A.; Mahrous, L.N.; Farghly, E.M.; Kamel, A.A. Investigation of Pre- and Post-Weaning Mortalities in Rabbits Bred in Egypt, with Reference to Parasitic and Bacterial Causes. *Animals*. 2020, 10: 537. <https://doi.org/10.3390/ani10030537>.
41. El-Ghoneimy, A and El-Shahawy, I. Evaluation of amprolium and toltrazuril efficacy in controlling natural intestinal rabbit coccidiosis. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2017, 18(3): 164-169. PMID: [29163644](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29163644/)
42. El-kady, A.M.; Ahmad, A.A.; Hassan, T.M.; El-Deek, H.E.M.; Fouad, S.S.; Althagfan, S.S. Eugenol, a potential schistosomicidal agent with anti-inflammatory and antifibrotic effects against *Schistosoma mansoni*, induced liver

- pathology. *Infection and Drug Resistance*. 2019, 12: 709-719. doi:<https://doi.org/10.2147/IDR.S196544>.
43. El-Saadony M.T.; Swelum A.A.; Ghanima M.M.A.; Shukry M.; Omar A.A.; Taha A.E.; Abd El Hack. Shrimp production, the most important diseases that threaten it, and the role of probiotics in confronting these diseases: A review. *Research in Veterinary Science*. 2022, 144: 126-140. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.01.009>
  44. El-Saadony, M.T.; Saad, A.M.; Mohammed, D.M.; Korma, S.A.; Alshahrani, M.Y.; Ahmed, A.E.; Ibrahim, E.H.; Salem, H.M.; Alkafaas, S.S.; Saif, A.M.; Elkafas, S.S.; Fahmy, M.A.; Abd El-Mageed, T.A.; Abady M.M.; Assal, H.Y.; El-Tarabily, M.K.; Mathew, B.T.; AbuQamar, S.F.; El-Tarabily, K.A.; and Ibrahim, S.A. Medicinal plants: bioactive compounds, biological activities, combating multidrug-resistant microorganisms, and human health benefits - a comprehensive review. *Frontiers in Immunology*. 2025, 16:1491777. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1491777>
  45. El-Saber, B.G.; Alkazmi, L.M.; Wasef, L.G.; Beshbishy, A.M.; Nadwa, E.H.; Rashwan, E.K. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*. 2020, 10: 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>.
  46. El-Shahawi, G.A.; El-Fayomi, H.; Abdel-Haleem, H.M. Coccidiosis of domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Egypt: light microscopic study. *Parasitology Research*. 2012, 110:251-258. doi: [10.1007/s00436-011-2479-0](https://doi.org/10.1007/s00436-011-2479-0)
  47. El-Sherry, S., A.; Aly, M., A.; Soliman, M.; Darwish, M.; Amen, O. Efficiency of four disinfectants against *Eimeria tenella* isolates from egyptian chickens (*in vitro* assessment). *Assiut Veterinary Medical Journal*, 2021, 67, 169: 91-100. doi: [10.21608/avmj.2021.188826](https://doi.org/10.21608/avmj.2021.188826)
  48. Escobar, H.M.L.; Pinto, D.J.; Zabalaga V.S.; Escalante, L.A.; Bustamante, G.Z. Evaluación de la actividad antidiarreica y antibacteriana de los extractos de la semilla de palto (*Persea americana*) y buganvilla (*Bougainvillea glabra*). *BIOFARBO*. 2010, 18, 2: 53-60. <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/p2m58>
  49. Exequiel, S.; Allende, L.; Fariña, F.; Quintana, S.; Rivero, M.; Rodriguez, M. and Pane S. Excreción de ooquistes de *Eimeria* en conejos infectados naturalmente en una granja de producción de carne. *Neotropical Helminthology*. 2021, 15(2):199–209. eISSN 1995-1043 <https://doi.org/10.24039/nmh20211521276>
  50. Fahmy, A.; Zalut, R.; Rabei, A. *In vitro* evaluation of the antiparasitic activity of *Syzygium aromaticum* against adult and larval stages of *Trichinella spiralis*. *Sci Parasitol*. 2021, 21, 3:94-101 <https://www.researchgate.net/publication/356411868>

51. Felici, M.; Tugnoli, B.; Piva, A.; Grilli, E. *In vitro* Assessment of Anticoccidials: Methods and Molecules. *Animals*. 2021, 11: 1962. <https://doi.org/10.3390/ani11071962>.
52. Felici, M.; Tugnoli, B.; De Hoest, T.C.; Piva, A.; Grilli, E.; Marugan, H.V. Thyme, Oregano, and Garlic Essential Oils and Their Main Active Compounds Influence *Eimeria tenella* Intracellular Development. *Animals*. 2023, 14: 77. <https://doi.org/10.3390/ani14010077>.
53. Francomano, F.; Caruso, A.; Barbarossa, A.; Fazio, A.; La Torre, C.; Ceramella, J.; Mallamaci, R.; Saturnino, C.; Iacopetta, D.; Sinicropi, M.S.  $\beta$ -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences*. 2019, 9: 5420. <https://doi.org/10.3390/app9245420>.
54. Gadde U.; Kim W.; Oh S.; Lillehoj H.S. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Animal Health Research Reviews*. 2017, 18: 26-45. doi [10.1017/S1466252316000207](https://doi.org/10.1017/S1466252316000207)
55. Galván, C.Z.; Ramos, C.M.G.; Marszalek, J.E.; Vargas, G.G. Revisión Sobre El orégano mexicano *Lippia Graveolens* HBK. (Sinonimia *Lippia Berlandieri* Schauer) y su Aceite Esencial. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2023, 8, 1:861-71. <https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.109>.
56. García, D.P.; Rivera, F.N. El ciclo biológico de los coccidios intestinales y su aplicación clínica. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*. 2017, 60, 6: 40-46. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422017000600040&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422017000600040&lng=es&tlng=es).
57. Geng, T.; Ruan, X.; Xie, Y.; Shen, B.; Fang, R.; Zhao, J.; Zhou, Y. Anticoccidial activity of a botanical natural product based on eucalyptus, apigenin and eugenol against *Eimeria tenella* in broiler chickens. *Parasites Vectors*. 2024, 17: 327. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06409-z>
58. Gomez, B.M.; Rojo, V.F.A.; Alunda, J.M. The effect of host's age on the pathology of *Eimeria stiedai* infection in rabbit. *Veterinary Parasitology*. 1987. doi: [10.1016/0304-4017\(87\)90129-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(87)90129-4)
59. Gordillo, J.F.X.; Kim, D.H.; Lee, S.H.; Kwon, S.K.; Jha, R.; Lee, K.W. Role of oregano and *Citrus* species based essential oil preparation for the control of coccidiosis in broiler chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2021, 12: 47. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00569-z>.
60. Gregory, G.M.W. and Catchpole, J. Coccidiosis in rabbits: The pathology of *Eimeria flavescens* infection, *International Journal for Parasitology*. 2016, 16, 2: 131-135, ISSN 0020-7519. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(86\)90098-6](https://doi.org/10.1016/0020-7519(86)90098-6).
61. Guevara, O.; Perez, R.J.J. *Eimeria* spp. in broiler rabbit: seasonal prevalence in the backyard farms of the State of Mexico. *Veterinaria italiana*. 2019, 55: 183-187. doi [10.12834/Vetlt.443.2154.3](https://doi.org/10.12834/Vetlt.443.2154.3)



62. Hamid, P.H.; Prastowo, S.; Kristianingrum, Y.P. Intestinal and hepatic coccidiosis among rabbits in Yogyakarta, Indonesia, *Veterinary World*. 2019, 12, 8: 1256-1260. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1256-1260>
63. Hammad, S.; Atif, U.; Mohamad F.M.; Nafees, A. *Bougainvillea glabra* (choisy): A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021, 266: 113356. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113356>
64. Han, M.; Hu, W.; Chen, T.; Guo, H.; Zhu, J.; Chen, F. Anticoccidial activity of natural plants extracts mixture against *Eimeria tenella*: An *in vitro* and *in vivo* study. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022, 9:1066543. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1066543>
65. Haro, G.J.N.; Castillo, H.G.A.; Martínez, V.M.; Espinosa, A.H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 2021, 26: 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>.
66. Haro, G.J.N.; Schlienger, D.A.B.N.; Martínez, V.M.; Castillo, H.G.A.; Espinosa, A.H. "Optimization of Clove Oil Nanoemulsions: Evaluation of Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Properties". *Colloids and Interfaces*. 2023, 7, 4: 64. <https://doi.org/10.3390/colloids7040064>.
67. He, W.; Hao, G.; Xiong, C.; Xiao, J.; Pu, J.; Chen, H.; Xu, L.; Zhu, Y.; Yang, G. Protection against *Eimeria intestinalis* infection in rabbits immunized with the recombinant elongation factors EF1 $\alpha$  and EFG. *Infection and Immunity*. 2023, 16, 91: 11. doi: [10.1128/iai.00208-23](https://doi.org/10.1128/iai.00208-23).
68. Hernández, C.; Mendoza, M.P. Extracción de aceite esencial y fenoles totales del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). XIII Reunión Nacional de Investigación Agrícola. Memoria. Chihuahua, Chih., 2023, 8-11, [https://www.researchgate.net/publication/379778510 Extraccion de aceite esencial y fenoles totales del clavo de olor Syzygium aromaticum](https://www.researchgate.net/publication/379778510_Extraccion_de_aceite_esencial_y_fenoles_totales_del_clavo_de_olor_Syzygium_aromaticum)
69. Heping, L.; Meiying, Shen.; Zhijun, H.; Xiefeng Y. Morphology and Molecular Identification of the *Eimeria* spp. in Domestic Rabbits. *Pakistan J. Zool*. 2016, 48, 1: 289-291. doi: [Microsoft Word - 289-291 \(38\) PJZ-2198-15 18-9-15.doc](https://doi.org/10.29261/pjz.2016.48.1.289-291)
70. Herago, Tamirat & Agonafir, Abebe. (2021). Drug Residues in Foods of Animal Origin and Their Impact on Human Health: Review. *Food Science and Quality Management*. doi: [10.7176/FSQM/108-02](https://doi.org/10.7176/FSQM/108-02)
71. Hicham, B. "Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* (L.)", *International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences (IRJPMS)*. 2018, 1 (3): 26-28. [IRJPMS](https://doi.org/10.24018/IRJPMS.2018.1.3.26-28)
72. Indrasanti, D.; Indradji, M.; Yuwono, E.; Samsi, M.; Sundari, P.V.; Ichwan, M.N.; Anengseh E.S.; Hatmadifia, M.N.; Hidayat, T.N. Treatment of Rabbit Coccidiosis with Combination of Herbal Extract II toward Oocysts Excretion and Hematology

- Parameters. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019, 372 012008. doi:[10.1088/1755-1315/372/1/012008](https://doi.org/10.1088/1755-1315/372/1/012008).
73. Ivanov, V.; Bozakova, N. Possibilities of using oregano (*Origanum vulgare* L.) as a dietary supplement in broiler chicken and hens production. *Journal of Hygienic Engineering and Design. Review paperUDC*. 2022, 636.52/.58.086:635.71. <https://www.researchgate.net/publication/367341024>.
  74. Jaramillo, J.C.G.; Zambrano, G.K.A.; Armijos, A.J.C.; Cuenca, B.S.A.; Tocto, L.M.; Rojas de Astudillo L. Evaluación del contenido de alcaloides, la toxicidad aguda y antitusiva de las brácteas de dos variedades de *Bougainvillea glabra* Choisy. *Revista Científica de la Facultad de Veterinaria*. 2023, 33, 2:1. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e33248>
  75. Jet, S.M. Clove (*Syzygium aromaticum*) in poultry feed. *Academic Press*. 2022: 235-255. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85177-0.00015-X>
  76. Jitea, B.A.M.; Morariu, S.; Imre, M.; Florea, T.; Sîrbu, C.B.; Luca, I.; Dumitru, S.; Dărbuș, G. Microscopic and Molecular Identification of *Eimeria* Species in Domestic Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Romania. *Animals* 2025, 15, 1109. <https://doi.org/10.3390/ani15081109>
  77. Katsui, K.; Takami, S.; Ohashi, K.; Otsuka, H.; Uni, S.; Shibahara, T.; Sasai, K.; Matsubayashi, M. Molecular identification of *Eimeria* species in liver and feces of naturally infected rabbits in Japan. *Parasitology Research*. 2022, 121:2733–2738. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07580-x>.
  78. Kiki, M.J. *In Vitro* Antiviral Potential, Antioxidant, and Chemical Composition of Clove (*Syzygium aromaticum*) Essential Oil. *Molecules*. 2023, 28:2421. <https://doi.org/10.3390/molecules28062421>
  79. Krishna, R.G.; Sundararajan, R. Toxicity studies of *Bougainvillea glabra* and *Mucuna pruriens*. *IJPSR*. 2020, 11, 10: 4910-4917. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(10\).4910-17](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(10).4910-17)
  80. Kumar, P.V.; Shams, R.; Singh, R.; Dar, A.H.; Pandiselvam, R.; Rusu, A.V.; Trif, M. A comprehensive review on clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) essential oil and its significance in the formulation of edible coatings for potential food applications. *Frontiers in Nutrition*. 2022, 15; 9, 987674. doi: [10.3389/fnut.2022.987674](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.987674)
  81. Ladrón De Guevara Aguilar, Obed Salaan. (2015). "Análisis de frecuencia de algunas parasitosis en conejos de engorde en unidades de producción de tipo familiar de la región sur-oriental del estado de México". (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/76577>
  82. Ladrón de Guevara, O.S.; Perez, R.J.J.; Perez, M.M.; Flores, P.F.I.; Romero, C.E. *Eimeria* spp. in broiler rabbit: seasonal prevalence in the backyard farms of the State of Mexico. *Veterinaria Italiana* 2019, 55, 2:183-187. doi: [10.12834/VetIt.443.2154.3](https://doi.org/10.12834/VetIt.443.2154.3).

83. Liñán, A.R.; Aghababaei, F.; García, S.R.; Hasiri, Z.; Ziogkas, D.; Moreno, A.; Hadidi, M. Clove Essential Oil: Chemical Profile, Biological Activities, Encapsulation Strategies, and Food Applications. *Antioxidants* (Basel). 2024, 13, 4: 488. doi: [10.3390/antiox13040488](https://doi.org/10.3390/antiox13040488).
84. Lee Y.; Lu, M.; Lillehoj, H.S. Coccidiosis: Recent Progress in Host Immunity and Alternatives to Antibiotic Strategies. *Vaccines*. 2022, 2: 215. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020215>.
85. Lebas, F.; Coudert, P.; de Rochambeau, H.; Thébault, R.G. *The rabbit - Husbandry, health and production*. FAO Animal Production and Health Series No. 21, 1997: 99–108. [http://www.fao.org/docrep/t1690E/t1690e03.htm\(open in a new window\)](http://www.fao.org/docrep/t1690E/t1690e03.htm(open in a new window)).
86. Lombrea, A.; Antal, D.; Ardelean, F.; Avram, S.; Pavel, I.Z.; Vlaia, L.; Mut, A.M.; Diaconeasa, Z.; Dehelean, C.A.; Soica, C.; Danciu C. A. Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, 21, 9653. <https://doi.org/10.3390/ijms21249653>.
87. Lopes, A.P.; Simões, J. Rabbit Coccidiosis. In: Simões, J., Monteiro, J.M. (eds) *Veterinary Care of Farm Rabbits*. Springer, Cham. 2024, [https://doi.org/10.1007/978-3-031-44542-2\\_29](https://doi.org/10.1007/978-3-031-44542-2_29)
88. López, O.S.; Chaparro, G.J.; Gómez, O.L.M. Overview of Poultry *Eimeria* Life Cycle and Host-Parasite Interactions. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020, 7. [doi.org/10.3389/fvets.2020.00384](https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00384).
89. Lu, C.; Yan, Y.; Jian, F.; Ning, C. Coccidia-Microbiota Interactions and Their Effects on the Host. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.751481>.
90. Madlala T.; Okpeku, M.; Adeleke, M.A. Understanding the interactions between *Eimeria* infection and gut microbiota, towards the control of chicken coccidiosis: a review. *Parasite*. 2021, 28, 48. doi: <https://doi.org/10.1051/parasite/2021047>.
91. Maggini, V.; Semenzato, G.; Gallo, E.; Nunziata, A.; Fani, R.; Firenzuoli, F. Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Human Health Treatment. *Molecules*. 2024, 29:999. <https://doi.org/10.3390/molecules29050999>.
92. Martins, R.R.; Silva, L.J.G.; Pereira, A.M.P.T.; Esteves, A.; Duarte, S.C.; Pena, A. Coccidiostats and Poultry: A Comprehensive Review and Current Legislation. *Foods*. 2022, 11: 2738. <https://doi.org/10.3390/foods11182738>
93. Mbaveng, A.T.; V. Kuete. “*Syzygium Aromaticum*.” In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*. Academic Press. 2017, 611–625. London, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00029-7>.
94. Mayer, J.; Donnelly, T.M. Coccidiosis. *Clinical Veterinary Advisor*, 2013: 346–348. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00155-4>



95. Ming, H.L.; Hong, K.O. Fecal occult blood manifestation of intestinal *Eimeria* spp. infection in rabbit, *Veterinary Parasitology*. 2009, 161: 3-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.01.009>
96. Mooney, D.; Richards, K.G.; Danaher, M.; Grant, J.; Gill, L.; Mellander, P.E. and Coxon, C.E. An investigation of anticoccidial veterinary drugs as emerging organic contaminants in groundwater. *Science of The Total Environment*. 2020, 746. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.141116](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141116)
97. Murshed, M.; Al-Quraishy, S.; Qasem, M.A. *In vitro*: Anti-coccidia activity of *Calotropis procera* leaf extract on *Eimeria papillata* oocysts sporulation and sporozoite. *Open Chemistry*. 2022, 20, 1: 1057-1064. <https://doi.org/10.1515/chem-2022-0208>
98. Muthamilselvan, T.; Kuo, T.F.; Wu, Y.C.; Yang, W.C. Herbal Remedies for Coccidiosis control: A Review of Plants, Compounds, and Anticoccidial Actions. *Evidence-based complementary and alternative medicine eCAM*, 2016, 2657981. <https://doi.org/10.1155/2016/2657981>
99. Naimi, N.R.A.S.A.L.; Khalaf, O.H.; Tano, S.Y.; Al- Taei, E.H. Pathological study of Hepatic coccidiosis in naturally infected rabbits. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*. 2012, 11, 1. <https://www.iraqoj.net/iasj/download/e23e418cd5e5e886>
100. Nahed, A.; El-Shall; Mohamed, E.; Abd El-Hack; Najah M.; Albaqami; Asmaa F. Khafaga; Ayman E. Taha; Ayman, A. Swelum; Mohamed, T. El-Saadony; Heba M. Salem; Amira, M. El-Tahan; Synan, F. AbuQamar; Khaled, A. El-Tarabily; Ahmed, R. Elbestawy. Phytochemical control of poultry coccidiosis: a review, *Poultry Science*. 2022, 101, 1, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101542>.
101. Noack, S.; Chapman, H.D.; Selzer, P.M. Anticoccidial drugs of the livestock industry. *Parasitology Research*. 2019, 118: 2009–2026. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06343-5>.
102. Noguez, E.J.; Zaragoza, B.A.; Olmedo, J.A.; López, R.G.; Ojeda, R.D.; Rivero, P.N. Identificación y cuantificación de *Eimeria* spp. en conejos del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Abanico Veterinario*, 2025, 16:1-16. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2025.3>
103. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 2021, <https://sidof.segob.gob.mx/notas/762506>
104. Norton, C.C.; Catchpole, J.; Joyner, I.P. Redescriptions of *Eimeria irrasidua* Kessel & Jankiewicz, 1931 and *E. flavescens* Marotel & Guilhon, 1941 from the domestic rabbit. *Parasitology*. 1979, 79: 231-248.
105. Ogolla, K.; Chebet, J.; Gathumbi, P.; Waruiru, R.; Okumu, P.; Munyua, W.; Kitale, P.; Gichure, J.; Wanyoike, M.; Mailu, S.; Kibebwe, H. and Hungu, J. Farmer practices that influence risk factors, prevalence and control strategies of rabbit coccidiosis in Central Kenya. *Livestock Research for Rural Development* 2017,.

- [https://www.researchgate.net/publication/318506172\\_Farmer\\_practices\\_that\\_influence\\_risk\\_factors\\_prevalence\\_and\\_control\\_strategies\\_of\\_rabbit\\_coccidiosis\\_in\\_Central\\_Kenya](https://www.researchgate.net/publication/318506172_Farmer_practices_that_influence_risk_factors_prevalence_and_control_strategies_of_rabbit_coccidiosis_in_Central_Kenya)
106. Okumu, P.O.; Gathumbia, P.K.; Karanjaa, D.N.; Mande, J.D.; Wanyoike, M.M.; Gachuri, C.K.; Kiarie, N.; Mwanza R.N.; Borte D.K. Prevalence, pathology and risk factors for coccidiosis in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in selected regions in Kenya. *Veterinary Quarterly*. 2014. 34, 4, <http://dx.doi.org/10.1080/01652176.2014.978044>
  107. Ornelas, G.I.G.; Guerrero, B.A.L.; Avelar, G.F.J.; Chávez, V.N.A.; Gutiérrez, M. D. *Bougainvillea glabra* Choisy (Nyctinaginacea): review of phytochemistry and antimicrobial potential. *Frontiers in Chemistry*. 2023, 11:1276514. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1276514>
  108. Ovung, A.; Bhattacharyya, J. Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophysical reviews*., 2021, 13, 2: 259–272. <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00795-9>
  109. Owusu, Ntummy, D. D., Owiredun, N., Osei, D. Y., Borteih, B. B., Afedzie-Obresi, S., Beyuo, J., & Keleve, A. Survey and prevalence of *Eimeria* spp. in meat rabbits in selected districts of the Greater Accra region of Ghana. *Cogent Food & Agriculture*., 2024, 10, 1. <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2335729>
  110. Pakandl, M. Coccidia of rabbit: a review, *Folia Parasitologica*. 2009, 56, 3: 153–166, [01.pdf](#)
  111. Pandey, V.K.; Srivastava, S.; Ashish; Dash, K.K.; Singh, R.; Dar, A.H.; Singh, T.I.; Farooqui, A.; Shaikh, A.M.; Kovacs, B. Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. *Heliyon*. 2024. 10, 1. doi: [10.1016/j.heliyon.2023.e22437](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22437).
  112. Papeschi, C.; Fichi, G.; Perrucci, S. Oocyst excretion pattern of three intestinal *Eimeria* species in female rabbits. *World Rabbit Science*. 2013, 21:77-83. DOI: [10.4995/wrs.2013.1235](https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1235)
  113. Pereira, D.S.C.; Andreza, J.; Oliveira, P.J.A.; Alves, D.S.C.; Mércia, E.; Oliveira, C.E.M.; Arrigoni, B.M.F.; Matos, A.T.; Santos, D.A.; Barreto, A.P.; Fitzgerald, B.A. Harvest time and geographical origin affect the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. *Industrial Crops and Products*. 2016, 79:205-210. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.015>.
  114. Pérez, M.M.; Betancourt, A.M. Coccidiosis hepática en el conejo: aspectos ambientales y clínico-patológicos. *Ciencia Ergo Sum*. 2011, 17: 269-276. [Coccidiosis hepática en el conejo: aspectos ambientales y clínico-patológicos](#)
  115. MINITAB, LLC. 2021. Minitab. <https://www.minitab.com>

116. Pérez, S.; Ramos, L.M.A.; Sánchez, M.E.; Fresán, O.M.; Pérez, R.J. Antiprotozoa activity of some essential oils. *Journal of medicinal plant research*. 2012, 6: 2901-2908. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1572>
117. Pezantes, O.C.; Bermúdez, F.G.; De la Cruz, C.M.; Montalvo, J.L.; Orellana, M.A. Essential oils: a systematic review on revolutionizing health, nutrition, and omics for optimal well-being. *Frontiers in Medicine*. 2024, 11: 1337785. doi: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1337785>.
118. Pietruska, A.; Bortoluzzi, C.; Hauck, R.A. Meta-analysis of the effect of *Eimeria* spp. and/or *Clostridium perfringens* infection on the microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*. 2023, 15, 102, 6: 102652. doi: [10.1016/j.psj.2023.102652](https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102652)
119. Pilarczyk, B.; Tomza, M.A.; Pilarczyk, R.; Januś, E.; Stanek, P.; Seremak, B.; Sablik, P. The effect of the sex, age, and breed of farmed rabbits and the choice of management system on the extensivity and intensity of *Eimeria* infection. *Veterinary World*. 2020, 13:1654-1660. doi: [10.14202/vetworld.2020.1654-1660](https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1654-1660).
120. Pilau, M. R., Alves, S. H., Weiblen, R., Arenhart, S., Cueto, A. P.; Lovato, L.T. Antiviral activity of the *Lippia graveolens* (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Brazilian journal of microbiology*. 2011, 42, 4: 1616-1624. <https://doi.org/10.1590/S1517-838220110004000049>
121. Ping, C.; Hongbin, L.; Sufang, F.; Xiaolong, G.; Peng, W.; Chunling, L.; Geru, T.; Xianrong, L.; Xun, S. A new species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from Californian rabbits in Hebei Province, China. *Parasitology International*. 2017, 66, 5: 677-680. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.06.009>.
122. Plata, R.A.; Campos, J.M.; da Silva, R.G.; Martínez, L.C.; Dos Santos, M.H.; Fernandes F.L.; Serrão J.E.; Zancunio, J.C.; Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2018, 156: 263-270. doi: [10.1016/j.ecoenv.2018.03.033](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.033).
123. Priyanka, K.M.; Paithankar, V. and Wankhade. A. A Comprehensive Review of Pharmacological Potential of *Bougainvillea Glabra*. *International journal of pharmaceutical sciences*. 2025, 3, 4: 612-619. doi: 10.5281/zenodo.15152092
124. Quintanilla, L.R.; Vargas, V.J.; Verde, S.M.J.; Rivas, G.V.M.; Torres, H.Á.D. Antiprotozoal Activity against *Entamoeba histolytica* of Flavonoids Isolated from *Lippia graveolens* Kunth. *Molecules*. 2020, 25, 11:2464. doi: [10.3390/molecules25112464](https://doi.org/10.3390/molecules25112464).
125. Quiroz, C.R.E. Avian Coccidiosis, New Strategies of Treatment. InTech. 2018. doi: [10.5772/intechopen.74008](https://doi.org/10.5772/intechopen.74008).
126. Ravikumar and Pratheep.: Systematic and in silico Exploration of Anti-bacterial Properties of *Bougainvillea glabra*. *Pharmacognosy Research*. 2024, 16, 1: 34:41. [EXPLORING THE THERAPEUTIC PROPERTIES OF BOUGAINVILLEA](https://doi.org/10.5772/intechopen.74008)

GLABRA: A STUDY OF ITS ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT EFFECTS  
IN METHANOL EXTRACT | Request PDF

127. Rabie, S.A.H.; Abuelwafa, W.A.; Hussein, N.M. Occurrence of *Eimeria* species (Apicomplexa: Eimeriidae) in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Qena Governorate, Upper Egypt. *Journal of Parasitic Diseases*. 2022, 46:811-832. <https://doi.org/10.1007/s12639-022-01494-2>
128. Rahman, M.A.; Wasef, A.; Das N.C.; Islam, M.R.; Islam, M.N.; Mannan, M.A.; Sarker, N.B.; Aftabuzzaman, M.; Mohanta, U.K. Assessing the Efficiency of Different Coccidiostats against *Eimeria* spp. in Broiler Chickens Grown in the Floor Pen System. *Journal of World's Poultry Research*. 2025, 15, 2: 224-232. doi: <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2025.22>
129. Ranasinghe, S.; Armson, A.; Lymbery, A.J.; Zahedi, A.; Ash, A. Medicinal plants as a source of antiparasitics: an overview of experimental studies. *Pathogens and global health*. 2023, 117, 6: 535-553. <https://doi.org/10.1080/20477724.2023.2179454>
130. Rafique, J.; Luqman, M. Therapeutic appraisal of ethanolic and aqueous extracts of clove (*Syzygium aromaticum*) and garlic (*Allium sativum*) as antimicrobial agent. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 2021. 58: 245-251. doi: [10.21162/PAKJAS/21.650](https://doi.org/10.21162/PAKJAS/21.650)
131. Remmal, A.; Achahbar, S.; Bouddine, L.; Chami, N.; Chami, F. *In vitro* destruction of *Eimeria* oocysts by essential oils. *Veterinary Parasitology*. 2011, 182, 2, 4: 121-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.002>
132. Ristanti, R.; Hamid, P.H.; Nugroho, H.A. Nugroho, H.A.; Nuringtyas, T.R.; Wibowo, S.; Rizki F.P.; Rahadian A.R.L.; Munoz C.T.; Kusumarini, S.; Wardhana, H.; Matsubayashi, M. Anticoccidial activities of *Piper betle* L essential oil on *Eimeria tenella* oocysts. *Scientific Reports*. 2024, 14: 25568. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76754-7>
133. Rivero-Perez N., Hernández-Alvarado J.L., Valladares-Carranza B., Delgadillo-Ruiz L., Ojeda-Ramírez D., Sosa-Gutiérrez C.G., Morales-Ubaldo A.L., Vega-Sánchez V. and Zaragoza-Bastida A., (2019). *Salix babylonica* L. as a Natural Anticoccidial Alternative in Growing Rabbits. *Hindawi, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 2107231, 8 pages, <https://doi.org/10.1155/2019/2107231>
134. Roila, R.; Branciar, R.; Pecorelli, I.; Cristofani, E.; Carloni, C.; Ranucci, D.; Fioroni, L. Occurrence and Residue Concentration of Coccidiostats in Feed and Food of Animal Origin; Human Exposure Assessment. *Foods*. 2019, 8: 477. <https://doi.org/10.3390/foods8100477>.
135. Rojo-Ruvalcaba, B.E.; Maldonado-González, M.; Cálix-Rodríguez, G.; Valdés-Miramontes, E.; Gómez-Leyva, J.; García-Cobián, T.; Sánchez-Hernández, P. E.; Machado-Sulbaran, A.; López-Roa, R.; Balderas-León, I.; García-Iglesias, T. Metabolic and Cytotoxic Effects of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth)

- Infusion and Carvacrol on Breast Cancer Cell Lines. *Preprints*. 2025, 2025051378. <https://doi.org/10.20944/preprints202505.1378.v1>
136. Roila, R.; Branciar, R.; Pecorelli, I.; Cristofani, E.; Carloni, C.; Ranucci, D.; Fioroni, L. Occurrence and Residue Concentration of Coccidiostats in Feed and Food of Animal Origin; Human Exposure Assessment. *Foods*. 2019, 8: 477. <https://doi.org/10.3390/foods8100477>.
  137. Rosas, Á.J.; García, R. A.; López, G.J., and Manzo, D. L. Análisis multicriterio para la delimitación de una región árida del centro de México. *Acta Universitaria*. 2015, 25, 4:11-25. doi: 10.15174/au.2015.772
  138. Rubio, O.A.; Guinoiseau, E.; Quilichini, Y.; Serra, D.; Poli, J.P.; Novelles, M.; Espinosa, I.; Pino Pérez, O.; Berti, L.; Lorenzi, V. Mode of action of *Lippia graveolens* essential oil on *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium. *Research square*. 2021. doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-245997/v1>
  139. Rubio, O.A.; Guinoiseau, E.; Poli, J.P.; Quilichini, Y.; de Rocca Serra, D.; del Carmen, T. N. M.; Espinosa, C.I.; Pino, P.O.; Berti, L.; Lorenzi, V. The Primary Mode of Action of *Lippia graveolens* Essential Oil on *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Serovar Typhimurium. *Microorganisms*. 2023, 11: 2943. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122943>
  140. Rybicki, M. Coccidiostats in treating coccidiosis. *Zywnosc Nauka Technologia Jakosc/Food Science Technology Quality*. 2021, 27:127-137. doi:[10.15193/zntj/2020/125/364](https://doi.org/10.15193/zntj/2020/125/364).
  141. SADER. Todo sobre la producción de carne de conejo. 2025. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/conoce-todo-sobre-la-produccion-de-carne-de-conejo>
  142. Salgueiro, L.R.; Cavaleiro, C.; Gonçalves, M.J.; Proença, da C. A. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medica*. 2003, 69(1):80-3. doi: [10.1055/s-2003-37032](https://doi.org/10.1055/s-2003-37032)
  143. Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. Molecular cloning: a laboratory manual 1989. No. Ed. 2. pp. 1535-1546.
  144. Santolin, L.; Fiametti, K.G.; da Silva Lobo, V.; Wancura, J. H. C.; Oliveira, J.V. Enzymatic Synthesis of Eugenyl Acetate from Essential Oil of Clove Using Lipases in Liquid Formulation as Biocatalyst. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021, 193: 3512-3527. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03610-z>
  145. Software SAS® 9.3 Statements: Reference Copyright © 2002, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA ISBN 978-1-60764-902-1 (electronic book)
  146. Scandiffio, R.; Geddo, F.; Cottone, E.; Querio, G.; Antoniotti, S.; Gallo, M.P.; Maffei, M.E.; Bovolin, P. Protective Effects of (E)- $\beta$ -Caryophyllene (BCP) in Chronic Inflammation. *Nutrients*. 2020, 12, 11: 3273. doi: [10.3390/nu12113273](https://doi.org/10.3390/nu12113273).



147. Scialfa, E.; Allende, L.; Fariña, F.; Quintana, S.; Rivero, M.; Rodriguez, M.; Pane, S. *Eimeria* oocyst excretion in naturally infected rabbit in a farm for meat production. *Neotropical Helminthology*. 2021, 15, 2:199–209. <https://doi.org/10.24039/rnh20211521276>
148. Selles, S.M.A.; Kouidri, M.; Belhamiti, B.T.; Kouidri, M.; Belhamiti, B.T.; Amar Ait Amrane, A.A. Chemical composition, *in-vitro* antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2020, 14:2352-2358. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00482-5>.
149. Shalini, M.; Aminah, A.; Khalid, H.; Vimala, S.; Katherine, S.; Khoo, M. 2018. *In-vitro* antioxidant activities, phytoconstituent and toxicity evaluation of local *Bougainvillea glabra* bract (bunga kertas). *International Journal of ChemTech Research*. 2018, 11, 09: 22–30. <http://dx.doi.org/10.20902/IJCTR.2018.110904>
150. Shah, S.M.A.; Shamim, A.; Tariq, F.; Shafique, F.; Khan, J.M.; Aimen, T.; Niaz, O.; Fatima, S.N.; Shah, S.A.H.; Tariq, S. Use of essential oils an alternate approach against parasitic infections. In: *Zafar MA, Abbas RZ, Imran M, Tahir S and Qamar W (eds), Complementary and Alternative Medicine: Essential oils. Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan*. 2024: 269-275. <https://doi.org/10.47278/book.CAM/2024.453>.
151. Shkromada, O.; Skliar, O.; Paliy, A.; Ulko, L.; Suprun, Y.; Naumenko, O.; Ishchenko, K.; Kysterna, O.; Musiienko, O.; Paliy, A. Development of preventing means for rabbits' coccidiosis. *EUREKA: Health Sciences*. 2019, 3, 3: 58-68. doi:[10.21303/2504-5679.2019.00914](https://doi.org/10.21303/2504-5679.2019.00914)
152. Sidiropoulou, E.; Skoufos, I.; Marugan, H.V.; Giannenas, I.; Bonos, E.; Aguiar, M.K.; Lazari, D.; Blake, D.P.; Tzora, A. *In vitro* Anticoccidial Study of Oregano and Garlic Essential Oils and Effects on Growth Performance, Fecal Oocyst Output, and Intestinal Microbiota *in vivo*. *Frontiers in Veterinary Science*. 2020, 31, 7: 420. doi: [10.3389/fvets.2020.00420](https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00420).
153. Sidiropoulou, E.; Marugán, H.V.; Skoufos, I.; Giannenas, I.; Bonos, E.; Aguiar, M.K.; Lazari, D.; Papagrigoriou, T.; Fotou, K.; Grigoriadou, K.; Blake D.P.; Tzora A. *In Vitro* Antioxidant, Antimicrobial, Anticoccidial, and Anti-Inflammatory Study of Essential Oils of Oregano, Thyme, and Sage from Epirus, Greece. *Life*. 2022, 12: 1783. <https://doi.org/10.3390/life12111783>.
154. Simjee, S. and Tice, G. The risk-benefit balance of resistance to ionophores in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* for ionophore coccidiostats in broiler chickens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2023, 78, 9:2121-2130. doi: [10.1093/jac/dkad183](https://doi.org/10.1093/jac/dkad183)
155. Singla, L.D.; Juyal, P.D.; Sandhu, B.S. Pathology and Therapy in Naturally *Eimeria stiedae* Infected Rabbits, *The Journal of Protozoology Research*. 2000, 10: 185-191. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jprotozoolres/10/4/10\\_185/\\_pdf](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jprotozoolres/10/4/10_185/_pdf)

156. Sivajothi, Sirigireddy & Sudhakara Reddy, Bhavanam & Rayulu, V C. (2016). Study on impression smears of hepatic coccidiosis in rabbits. *Journal of parasitic diseases: official organ of the Indian Society for Parasitology*. 2016, 40: 906-909. Doi: [10.1007/s12639-014-0602-8](https://doi.org/10.1007/s12639-014-0602-8)
157. Soni, H.; Sehrawat, S. Phytopharmacology Profile of *Bougainvillea glabra*: An Overview. *British Journal of Medical and Health Research*. 2019, 6:29-38. doi: <http://dx.doi.org/10.46624/bjmhr.2019.v6.i05.004>
158. Sorour, S.S.; Abou, A.S.; Elhawary, N.M.; Ghazy, E.W.; Abd, E.L.A.; El-Abasy, M.A.; Khalifa, H.O. Anticoccidial and hepatoprotective effects of artemisinin liquid extract, cinnamon essential oil and clove essential oil against *Eimeria stiedae* infection in rabbits. *Tropical Biomedicine*. 2018, 35, 4:926-943. <https://www.researchgate.net/publication/330440756>. S
159. Soto, D.A.; García, G.R.; Ramírez, C.Y.; Morán, M.J. and Serrano, G.L.B. The Aqueous Extract from Oregano (*Lippia graveolens* HBK) from the North of Mexico Has Antioxidant Activity without Showing a Toxic Effect in vitro and in vivo. *International Journal of Morphology*. 2012, 30, 3, 937-944. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000300029>
160. Sugiharto, S. Role of nutraceuticals in gut health and growth performance of poultry. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2016, 15: 99-111. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.06.001>
161. Suliman, M.A.E.; Ahmed, F.G.; El-Kholy, Kh.F.; Mohamed, R.A.E.; Abdel-Mawla, L.F. Effects of clove (*Syzygium aromaticum*) on productive performance, nutrients value and digestibility, blood lipid profile, antioxidant status and immune response of growing rabbits. *Online Journal of Animal and Feed Research*. 2023, 13, 1: 01-09. doi: <https://dx.doi.org/10.51227/ojafr.2023.1>
162. Sulit, J.E.B.; Atienza, L.M. Cytotoxic effect of the methanolic extract of selected edible weeds on *Artemia salina* nauplii. *Journal of Nutrition Research Food Science*. 2020, 1: 04.
163. Sweidan, R.; Hayajneh, F.M.F.; Awabdeh, S.A.; Nsour, S. Review Article Herbal Medicine: A Natural Alternative Treatment of Avian Coccidiosis. *International Journal of Agriculture and Biosciences*. 2025, 14, 5. <https://doi.org/10.47278/journal.ijab/2025.081>
164. Talebi, A.; Amirzadeh, B.; Mokhtari, B.; Gahri, H. Effects of a multi-strain probiotic (PrimaLac) on performance and antibody responses to Newcastle disease virus and infectious bursal disease virus vaccination in broiler chickens. *Avian Pathology*. 2008, 37: 509–512. doi: [10.1080/03079450802356995](https://doi.org/10.1080/03079450802356995)
165. Tridge. Rabbit Meat. 2025. [2024 Rabbit Meat global market overview today](https://www.researchgate.net/publication/391811114)
166. Tzika, E.D.; Saoulidis, K. Rabbit enteritis. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2017, 55, 2: 145-155. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15183>.

167. Ulanowska, M.; Olas, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol-A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22, 7:3671. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>.
168. Valdez, B.O.; Cruz, L.I.; Tovar, P.J.M.; Heredia, J.B.; Bastidas, B.P.d.J.; Manjarrez, Q.J.P.; García, E.R.S. Optimization of Mexican Oregano Essential Oil (*Lippia Graveolens*) Extraction with Fungicidal and Oomyceticidal Effects Against Plant Pathogens. *Processes*. 2025, 13:490. <https://doi.org/10.3390/pr13020490>
169. Valdez, G.; Shyur, L.F.; Wang, S.Y.; Chen, S.E. Phytochemicals in Ginger, *Origanum vulgare*, and *Syzygium aromaticum* and Their Potential as a Feed Additive against *Clostridium perfringens* in Broiler Production. *Animals*. 2023, 13: 3643. <https://doi.org/10.3390/ani13233643>.
170. Wollesen, M.; Mikkelsen, K.; Tvillum, M.S.; Vestergaard, M.; Wang, M.; Meyer, R.L.; Ingmer, H.; Poulsen, T.B.; Tørring, T. Polyether Ionophore Antibiotics Target Drug-Resistant Clinical Isolates, Persister Cells, and Biofilms. *Microbiology Spectrum*. 2023, 17, 11(4):e0062523. doi: [10.1128/spectrum.00625-23](https://doi.org/10.1128/spectrum.00625-23)
171. Xie, Y.; Xiao, J.; Zhou, X.; Gu, X.; He, R.; Xu, J.; Jing, B.; Peng, X.; Yang, G. Global transcriptome landscape of the rabbit protozoan parasite *Eimeria stiedae*. *Parasites Vectors*. 2021, 14: 308. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04811-5>.
172. Xiao, J.; Zheng, R.; Bai, X.; Pu, J.; Chen, H.; Gu, X.; Xie, Y.; He, R.; Xu, J.; Jing, B.; Peng, X.; Yang, G. Preliminary evaluation of the protective effects of recombinant AMA1 and IMP1 against *Eimeria stiedae* infection in rabbits. *Parasites Vectors*. 2022, 15: 400. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05492-4>.
173. Yadav, R.J.P.; Sapate, R.B.; Mali, H.; Raut, I.; Dhadde, G. *In vitro* anthelmintic activity of crude extract of flowers of *Bougainvillea Spectabilis* Wild against *Pheretima Posthuma*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*. 2021, <https://www.researchgate.net/publication/350104378>
174. You, M.J. Suppression of *Eimeria tenella* sporulation by disinfectants. *The Korean journal of parasitology*. 2014, 52, 4: 435-438. <https://doi.org/10.3347/kjp.2014.52.4.435>
175. Yuan, X.; Liu, J.; Hu, X.; Yang, S.; Zhong, S.; Yang, T.; Zhou, Y.; Zhao, G.; Jiang, Y.; Li, Y. Alterations in the jejunal microbiota and fecal metabolite profiles of rabbits infected with *Eimeria intestinalis*. *Parasites & Vectors*. 2022, 15, 1: 231. doi: [10.1186/s13071-022-05340-5](https://doi.org/10.1186/s13071-022-05340-5).
176. Zapata, B.; Durán, C.; Stashenko, E.; Correa, R.J.; Betancur, G.L. Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*. 2009, 41, 3:215-222. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=343835696002>



177. Zessel, K.; Mohring, S.; Hamscher, G.; Kietzmann, M.; Stahl, J. Biocompatibility, and antibacterial activity of photolytic products of sulfonamides, *Chemosphere*. 2014, 100: 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.038>

## 12. ANEXOS

### **Anexo 1. Procedimiento para extraer ADN de muestras fecales, de suelo y microbianas con el Kit de minipreparación Quick-DNA™.**

- a) Se agregaron  $\leq 150$  mg de muestra a un tubo de lisis ZR BashingBead™ (0,1 y 0,5 mm). Añade 750  $\mu$ L de tampón BashingBead™ al tubo1.
- b) Se aseguró el batidor de cuentas equipado con un conjunto de soporte de tubo de 2 mL y se procesó utilizando condiciones de batido optimizadas (velocidad y tiempo).
- c) Se centrifugó el tubo de lisis ZR BashingBead™ (0,1 y 0,5 mm) en una microcentrífuga a  $\geq 10.000$  x g durante 1 minuto.
- d) Se pasaron 400  $\mu$ L de sobrenadante a un filtro Zymo-Spin™ III-F en un tubo de recolección, procediendo a centrifugar a 8.000 x g durante 1 minuto.
- e) Se agregaron 1.200  $\mu$ L de tampón de lisis genómica al filtrado en el tubo de recolección del paso 4. Mezclando bien.
- f) Se transfirieron 800  $\mu$ L de la mezcla del paso 5 a una columna Zymo-Spin™ IICR4 en un tubo de recolección y centrifuga a 10.000 x g durante 1 minuto.
- g) Se desechó el flujo a través del tubo de recolección repitiendo el paso 6.
- h) Se añadieron 200  $\mu$ L de tampón de prelavado de ADN a la columna Zymo-Spin™ IICR en un nuevo tubo de recogida y centrifugar a 10.000 x g durante 1 minuto.
- i) Se agregaron 500  $\mu$ L de tampón de lavado de g-DNA a la columna Zymo-Spin™ IICRy centrifugando a 10.000 x g durante 1 minuto.
- j) La columna Zymo-Spin™ IICR se transfirió a un tubo de microcentrífuga limpio de 1.5 mL agregando 100  $\mu$ L (50  $\mu$ L como mínimo) de tampón de elución de

ADN directamente a la matriz de la columna. Se procedió a centrifugar a 10.000 x g durante 30 segundos para eluir el ADN5, 6.

- k) Se colocó un filtro Zymo-Spin™ III-HRC en un tubo de recolección limpio y se agregaron 600 µL de solución de preparación, centrifugando a 8.000 x g durante 3 minutos.
- l) El ADN eluido se transfirió a un filtro Zymo-Spin™ III-HRC preparado en un tubo de microcentrífuga limpio de 1,5 mL y se centrifugó exactamente a 16.000 x g durante 3 minutos.
- m) La concentración y pureza del ADN extraído fue determinada por un espectrofotómetro **Nanodrop. (mandar a anexo).**

## Anexo 2. Artículo publicado en Abanico Veterinario

ABANICO VETERINARIO E-ISSN 2448-6132 [abanicoveterinario@gmail.com](mailto:abanicoveterinario@gmail.com)  
<https://abanicocadematico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario>  
Creative Commons (CC BY-NC 4.0)



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2025; 16:1-16. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2025.3>

Nota de Investigación. Recibido:24/04/2024. Aceptado:16/09/2024. Publicado:14/02/2025. Clave: e2024-22.

[https://www.youtube.com/watch?v=cEQPkzLh3\\_o](https://www.youtube.com/watch?v=cEQPkzLh3_o)

### Identificación y cuantificación de *Eimeria* spp. en conejos del Valle del Mezquital, Hidalgo

Identification and quantification of *Eimeria* spp. in rabbits from Mezquital Valley, Hidalgo



Noguez-Estrada Juan<sup>1ID</sup>, Zaragoza-Bastida Adrian<sup>\*1ID</sup>, Olmedo-Juárez Agustín<sup>2ID</sup>,  
López-Rodríguez Gabino<sup>1ID</sup>, Ojeda-Ramírez Deyanira<sup>1ID</sup>, Rivero-Pérez Nallely<sup>\*\*1ID</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Hidalgo, México. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Morelos, México. \*Autor responsable: Adrian Zaragoza Bastida. \*\*Autor de correspondencia: Nallely Rivero-Pérez. Rancho Universitario Av. Universidad km. 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Apartado Postal No. 32, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. E-mail: [jnoguez@upfm.edu.mx](mailto:jnoguez@upfm.edu.mx), [adrian\\_zaragoza@uaeh.edu.mx](mailto:adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx), [aolmedoj@gmail.com](mailto:aolmedoj@gmail.com), [no472617@uaeh.edu.mx](mailto:no472617@uaeh.edu.mx), [dojeda@uaeh.edu.mx](mailto:dojeda@uaeh.edu.mx), [nallely\\_rivero@uaeh.edu.mx](mailto:nallely_rivero@uaeh.edu.mx)

#### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue identificar y cuantificar especies del género *Eimeria* presentes en conejos naturalmente infectados en las unidades de producción del Valle del Mezquital, estado de Hidalgo. Se colectaron heces en diez unidades de producción cunícola (UPC) de 320 conejos de entre 30 a 60 días de edad (período de engorda). La identificación de especies del género *Eimeria* spp., se realizó con la técnica de flotación, con criterios de medición y comparación morfológica. Los ooquistes por gramo de heces (OPG) se determinaron con la técnica McMaster. Los datos de carga parasitaria se normalizaron ( $\sqrt{x+0.5}$ ) y se realizó un análisis de media principal en el programa Minitab®. Se identificó, *E. stiedae* (coccidiosis hepática) en 8 UPC (19-100%) y coccidiosis intestinal por *E. irresidua* en 5 UPC (17-63.6%), *E. exigua* en 4 (23.5-100%), además se identificaron en tres UPC *E. media* (14.7-47.6%) y *E. coecicola* (14.7-19%), en dos *E. intestinalis* (24-28%), *E. magna* (11.7-24%) y *E. perforans* (4.5-18%) y en una UPC *E. piriformis* (9%). La carga parasitaria fue superior a la media en las UPC 9 ( $241450 \pm 33555$ ) y 8 ( $56817 \pm 3907$ ), solo en la unidad de producción 10, la cantidad de OPG ( $25433 \pm 2776$ ), se encontró dentro de los límites de decisión, la mayor cantidad de OPG se identificó en UPC con deficiente diseño de instalaciones, así como en aquellas en las cuales la alimentación y suministro de agua de buena calidad son limitados. *Eimeria* spp., está presente en todas las UPC del Valle del Mezquital, con una cantidad de OPG que pone en riesgo la salud de los animales.

**Palabras clave:** conejos, *Eimeria* spp. coccidiosis, OPG.

#### ABSTRACT

The objective of this study was to identify and quantify species of the genus *Eimeria* present in naturally infected rabbits in the production units of Valle del Mezquital, Hidalgo state. Fecal samples were collected from 10 rabbit production units (RPU) comprising 320 rabbits aged between 30 and 60 days (fattening period). Identification of *Eimeria* spp. species was carried out using the flotation technique, with criteria of measurement and morphological comparison. Oocysts per gram of feces (OPG) were determined using the

### Anexo 3. Publicación en memoria de III Congreso en Ciencias Veterinarias

#### PRESENCIA DE *Eimeria spp* EN CONEJOS NATURALMENTE INFECTADOS, EN UNIDADES DE PRODUCCIÓN DEL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO

#### PRESENCE OF *Eimeria spp.* IN NATURALLY INFECTED RABBITS, IN PRODUCTION UNITS OF THE MEZQUITAL VALLEY, HIDALGO

Juan Noguez-Estrada<sup>1</sup>, Nallely Rivero-Pérez<sup>1</sup>, Agustín Olmedo-Juárez<sup>2</sup>, <sup>1</sup>Deyanira Ojeda-Ramírez, Adrian Zaragoza-Bastida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad. [nallely\\_rivero@uaeh.edu.mx](mailto:nallely_rivero@uaeh.edu.mx)

#### RESUMEN

El objetivo fue determinar la presencia de *Eimeria spp.* en conejos naturalmente infectados, en unidades de producción del Valle del Mezquital, Hidalgo. Se colectaron heces en 5 unidades de producción cunícola (UPC) de 150 conejos, edad de 30 a 60 días y peso vivo promedio de 1300 g. La determinación de ooquistes por gramo de heces (OPG) se calculó con la técnica de McMaster. Los datos se normalizaron mediante  $\sqrt{x+0.5}$  y se analizaron con el programa MiniTab mediante comparación de medias ( $P \leq 0.05$ ). En las 5 UPC se cuantificaron ooquistes de *Eimeria spp.*, con diferencias estadísticas significativas en la cantidad de OPG, siendo mayor en la 1 ( $11417 \pm 1051$ ), en comparación a la media (UPC 4 con  $3217 \pm 437$ ), seguido de la 2 ( $1583 \pm 246$ ), y sin diferencias significativas entre la 5 ( $583 \pm 125$ ) y 3 ( $433 \pm 85$ ). *Eimeria spp.* estuvo presente en todas las UPC y el conteo de OPG indican que el 80% rebasan la población mínima para no causar daño en las granjas del Valle del Mezquital, Hidalgo.

**Palabras clave:** *Eimeria spp.*; coccidiosis; OPG; conejos

#### ABSTRACT

The aim was to determine the presence of *Eimeria spp.* in naturally infected rabbits, in production units of the Mezquital Valley, Hidalgo. Faeces were collected in 5 rabbit production units (RPU) of 150 rabbits, age was from 30 to 60 days and average live weight of 1,300 g. The determination of oocysts per gram of feces (OPG) was calculated through McMaster technique. The data were normalized using  $\sqrt{x+0.5}$  and analyzed with the MiniTab program by comparison of means ( $P \leq 0.05$ ). In the 5 RPU, oocysts of *Eimeria spp.* were quantified, with statistically significant differences in the amount of OPG, being higher in 1 ( $11417 \pm 1051$ ) compared to the mean (RPU 4 with  $3217 \pm 437$ ), followed by 2 ( $1583 \pm 246$ ), and without significant differences between 5 ( $583 \pm 125$ ) and 3 ( $433 \pm 85$ ). *Eimeria spp.* is present in all RPUs and the OPG count indicates that 80% exceed the minimum population so as not to cause damage to the farms of the Mezquital Valley, Hidalgo.

**Key words:** *Eimeria spp.*; coccidiosis; OPG; rabbits.

## Anexo 4. Publicación en memoria de Congreso

XXXIV REUNIÓN INTERNACIONAL SOBRE PRODUCCIÓN DE CARNE Y LECHE EN CLIMAS CÁLIDOS  
IV CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PRODUCCIÓN ANIMAL  
Mexicali, B.C., México, 16 al 18 de octubre de 2024.

### INHIBICIÓN DE LA ESPORULACIÓN IN VITRO DE *Eimeria* spp., CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Bougainvillea glabra*, COMO TRATAMIENTO ALTERNATIVO EN UNIDADES DE PRODUCCIÓN CÚNICOLA DEL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO

#### IN VITRO INHIBITION OF SPORULATION OF *Eimeria* spp., WITH HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Bougainvillea glabra*, AS ALTERNATIVE TREATMENT IN RABBIT PRODUCTION UNITS IN THE MEZQUITAL VALLEY, HIDALGO

J. Noguez-Estrada<sup>1</sup>, N. Rivero-Pérez<sup>1\*</sup>, A. Olmedo-Juárez<sup>2</sup>, J.E. Aparicio Burgos<sup>3</sup>, G.M. López Rodríguez<sup>1</sup>, D. Ojeda-Ramírez<sup>1</sup>, A. Zaragoza-Bastida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Hidalgo; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad del INIFAP; <sup>3</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Escuela Superior de Apan, Hidalgo, México.

\*Autor de correspondencia: [nallely\\_rivero@uaeh.edu.mx](mailto:nallely_rivero@uaeh.edu.mx)

#### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Bougainvillea glabra* sobre la inhibición de la esporulación de *Eimeria* spp., en unidades de producción cunicola del Valle del Mezquital, Hidalgo. Se colectaron heces de conejos en engorda. Los oocistos no esporulados se obtuvieron por flotación con solución salina saturada (SSS), centrifugando (5000 rpm, 5 min) y re-suspendiendo en solución salina fisiológica (SSF) 0.9%. Se depositaron en promedio 200 oocistos/100 µL por pozo, con conteos a 72 y 96 h. Los datos se analizaron mediante ANOVA y comparación de medias por Tukey a  $P \leq 0.05$ . El porcentaje de inhibición más alto se registró con 200 mg/mL a 72 y 96 h, siendo superior que al observado en los controles positivos (Sulfas y Formol) y sin diferencias ( $P > 0.05$ ) con 100, 50 y 25 mg/mL. Con una concentración mínima de 25 mg/mL, el extracto hidroalcohólico de *Bougainvillea glabra*, inhibe la esporulación de los oocistos de *Eimeria* spp.

**Palabras Clave:** *Bougainvillea glabra*; conejos, coccidiosis

#### ABSTRACT

The aim was to evaluate *in vitro* the inhibition of the sporulation of *Eimeria* spp., with hydroalcoholic extract of *Bougainvillea glabra* in *Oryctolagus cuniculus* as an alternative treatment, in rabbit production units in the Mezquital Valley, Hidalgo. Feces were collected from fattening rabbits. Non-sporulated oocysts were obtained by flotation with saturated saline (SSS), centrifuging (5000 rpm, 5 min) and resuspending in physiological saline solution (SSF) 0.9%. An average of 200 oocysts/100 µL were deposited per well, with measurements at 72 and 96 h. Data were analyzed using ANOVA and Tukey mean comparison ( $P \leq 0.05$ ) in SAS software (2002). The highest inhibition percentage was registered with 200 mg/mL to 72 and 96 h, this is superior than the positive control (Sulfas and Formol) and within statistical differences with 100, 50 and 25 mg/mL. With a minimum concentration of 25 mg/mL, the hydroalcoholic extract of *Bougainvillea glabra* inhibits the sporulation of the oocysts of *Eimeria* spp.

**Key Words:** *Bougainvillea glabra*; rabbits, coccidiosis

#### INTRODUCCIÓN

La coccidiosis es una enteritis potencialmente grave causada por especies de parásitos intracelulares obligados del género *Eimeria* (Atress *et al.*, 2021). En conejos es causada por la infección con una o varias especies de *Eimeria*, que parasitan los conductos hepatobiliares o el epitelio intestinal. Hasta la fecha, se han documentado 11 especies de coccidios de conejo (Cui *et al.*, 2017). El uso de alternativas naturales como probióticos y fitoquímicos es la estrategia más favorecida para combatir la coccidiosis, sin que el efecto de las resistencias a los medicamentos amenace la bioseguridad (Madlala *et al.*, 2021). Numerosas investigaciones fitoquímicas del género *Bougainvillea* confirman la presencia de hidrocarburos alifáticos, ácidos grasos, alcoholes grasos, compuestos volátiles, compuestos fenólicos, peltoginoides, flavonoides, fitosteroides, terpenos, carbohidratos y betalainas, cuyos principios activos tienen múltiples actividades farmacológicas (Abarca y Petricevich, 2018). Por lo anterior el objetivo fue evaluar *in vitro* el efecto del extracto hidroalcohólico de *Bougainvillea glabra* sobre la inhibición de la esporulación de *Eimeria* spp., de *Oryctolagus cuniculus*, en unidades de producción cunicola del Valle del Mezquital, Hidalgo.



## Anexo 5. Participación Ponente en Congreso



**Congreso Internacional Abanico**  
VETERINARIO, AGROFORESTAL, AMBIENTAL, PESQUERO,  
ACUICOLA y del MAR®

**Centro de Investigación  
en Alimentación y Desarrollo**  
CIAD

**El Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo,  
Abanico Académico y el Centro Educativo de Nayarit Siglo  
XXI**

Otorgan la presente

**CONSTANCIA**

a Noguez-Estrada Juan, Zaragoza-Bastida Adrián, Orozco-Gregorio Héctor  
Oscar, Zúñiga-Estrada Erick Alfredo, José Estaban Aparicio-Burgos, Rivero-  
Pérez Nallely

Por su participación como **Ponentes** del tema con clave y título: **2025-24-VET  
Actividad anticoccidial del aceite esencial de Lippia graveolens contra Eimeria  
spp. in vitro**, en el VII Congreso Internacional Abanico Veterinario, Agroforestal,  
Ambiental, Pesquero, Acuicola y del Mar, realizado del 12 al 15 de marzo de  
2025 en la Unidad de Gestión Tecnológica Nayarit-CIAD del Centro de  
Investigación en Alimentación y Desarrollo; Tepic, Nayarit, México.



**DR. SERGIO MARTÍNEZ GONZÁLEZ**  
COORDINADOR DEL CONGRESO

**DR. GERARDO TORRES GARCÍA**  
COORDINADOR DE LA SEDE

Registrado en:

- ✓ CONCERTVET con el Código GEN 014/25.
- ✓ ABANICO ACADEMICO Clave Congreso 02/2025

<https://abanicoacademico.mx/congreso/congreso-internacional-abanico-veterinario-agroforestal-y-pesquero/>

93